

**Réf :.....**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Caractérisation d'un extrait lipidique  
d'une algue brune en vue d'un  
enrichissement d'une huile de table**

Présenté par :

**KADI Melissa & SEBAIHI Lydia**

Soutenu le : **21/09/2021**

Devant le jury composé de :

Mme MERDJAN LAINCER F.  
Mme IDRES KERAMANE B.  
Mr LADJOUZI R.

MCA  
MCB  
MAA

Présidente  
Encadreur  
Examineur

**Année universitaire : 2020 / 2021**

# DÉDICACES

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donnés, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportés durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction.*

*Mon grand-père au quel je dois ma réussite*

*Mon unique frère Mohand Said*

*Mes très chères sœurs : Narimane et son mari Reda*

*Nawel et Amina*

*Ma petite princesse ma nièce Nélia que j'adore*

*A ma chère binôme et amie « lydia » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille , en particulier son frère Halim qui nous a beaucoup aider*

*A tous mes amis et en particulier : Lamine , yamine et aida*

*A tous les gens de ma promotion, enseignants et étudiants*



*Mélissa*

# DÉDICACES

*A la mémoire de mon père....*

*A ma très chère mère, aucune dédicace ne serait témoignée de mon affection et de ma reconnaissance éternelle pour tous les efforts et les sacrifices que vous m'avez jamais de consentir pour mon éducation, mes études et mon bien être*

*A ma tante et deuxième maman zahra ,  
A ma tante Djamila*

*A mes très chères sœurs et plus particulièrement yasmine pour leurs aides leur générosités, leur encouragement et leur disponibilité .*

*A mes très chers frères et plus particulièrement ISlem ,Halim pour leur affection et leur soutien*

*A mes adorables neveux et nièces*

*A l'ensemble de ma famille ....*

*Oncles, tantes , Cousins et cousines*

*A mon adorable et chère binôme et amie Melissa*

*A ma très chère amie Lydia qui est toujours su être la au bon moment sans exception qu'ils*

*Soient proche ou loin*

*A tout mes amis (e) de prés ou loin*

*Et a tout les personne qui me sont chers*



*Lydia*

# REMERCIEMENT

*Nous remercions Dieu de nous avoir donné la capacité d'achever ce travail de mémoire et qui nous a aidés à dépasser toutes les difficultés que nous avons rencontrés.*

*Nous tenons particulièrement nos remerciements les plus chaleureux à Notre promotrice Mme IDRES KERAMANE. B Pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique , pour ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion , son dynamisme , son entière disponibilité et surtout sa compréhension , et de nous avoir toujours appuyé et soutenu dans cette démarche qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire .*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à l'ensemble des membres de jury, pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail :*  
*Mme LAINCER. F. en tant que président de jury*  
*et Mr LAADJOUZI.R . en tant que examinateur.*

*En fin Nous tenons à remercier également tous ceux qui ont participé de prêt ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

# Sommaire :

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des abréviations

## Introduction ..... 01

### Généralités sur les algues brunes

I. Algue brune..... 03

II. Principaux composants des algues brunes ..... 03

II.1. Phytosterol..... 03

II.2. Phlorotannins..... 04

II.3. Polysaccharides .....05

II.3.1. Alginates..... 05

II.3.2. Fucoïdanes..... 05

II.3.3. Laminarine..... 06

II.4. Caroténoïdes .....06

II.5. Les acides gras..... 07

II.6. Lectine .....07

III. Activités biologiques..... 07

### Généralités sur l'huile de tournesol

I. L'huile de tournesol .....09

II. Composition de l'huile de tournesol..... 10

III. Les caractéristiques de l'huile de tournesol ..... 11

IV. Utilisation de l'huile de tournesol..... 11

IV.1 Utilisation alimentaire..... 11

IV.2 Utilisation non alimentaire..... 12

V. Stabilités oxydatives des huiles végétales..... 12

### Matériel & Méthodes

I. Matériel végétal .....14

II. Extraction des composés bioactifs..... 15

II.1. Extraction par macération de la fraction phénolique..... 15

II.2. Extraction par soxhlet de la fraction lipidique .....15

II.3. Détermination des taux d'extraction.....16

III. Analyse effectuées sur les extraits .....	16
III.1. Activité antiradicalaire : teste de piégeage du radical libre DPPH .....	16
III.2. Dosage des composés phénoliques .....	17
III.3. Dosage des Phlorotannins (Teste du DMBA) .....	18
IV. Préparation des mélanges huile/extraits.....	19
IV.1. Détermination de l'indice de peroxyde : (NE.1.2.98,1988).....	19
IV.2. Détermination de l'indice d'acidité : (NE.1.2.97,1988) .....	20
IV.3. Détermination de la teneur en chlorophylles : (AOCS, 1989).....	20
IV.4. Détermination de la couleur : (ISO 15305,1998).....	21
IV.5. Test d'oxydation accéléré (test de rancimat) : (Iso 6886 ,2006).....	22
V. Analyse de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse .....	23
V.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras.....	23
<b>Résultats Et discussion</b>	
I. Le taux d'extraction des composés bioactifs .....	24
II. Analyse effectuées sur les extraits.....	25
II.1. Dosage des polyphénols totaux .....	25
II.2. Dosage des phlorotannins.....	27
II.3. Activité antioxydante (piégeage du radical libre DPPH) .....	28
III. Analyse physico-chimique du mélange .....	29
III.1. Indice de peroxyde (IP) .....	30
III.2. L'acidité .....	31
III.3. La couleur.....	33
III.4. Chlorophylles .....	34
III.5. La stabilité oxydative initié par le test Rancimat.....	36
IV. profile en acide gras .....	37
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>Reference bibliographique</b>	
<b>Annexes</b>	

# Liste des tableaux

**Tableau I** : Principales constantes physique-chimiques de l'huile de tournesol (**Karleskind, 1992**) ..... 11

**Tableau II** : Tableau comparatif des différents profils en acides gras ..... 38

# Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Photographie d'espèces d'algues brunes .....	03
<b>Figure 02</b> : Structure d'une phlorotannins.....	04
<b>Figure 03</b> : Structure d'alginate.....	05
<b>Figure 04</b> : Structure des fucoïdanes et des laminaires présents dans les algues brunes .....	06
<b>Figure 05</b> : Structures de la fucoxanthine.....	06
<b>Figure 06</b> : Diagramme schématique illustrant les diverses activités biologiques des algues brunes en fonction de leurs composés bioactifs .....	08
<b>Figure 07</b> : Photographie de <i>Helianthus annuus</i> (le tournesol).....	09
<b>Figure 08</b> : La composition en acide gras de l'huile de tournesol « classique » .....	10
<b>Figure 09</b> : Photographie de la station de récolte (EL'ach El Baz) (Bejaïa) .....	14
<b>Figure 10</b> : Photographie de <i>padina pavonica</i> .....	15
<b>Figure 11</b> : Photographie de l'extracteur au soxhlet .....	16
<b>Figure 12</b> : Réaction réduction du DPPH.....	17
<b>Figure 13</b> : Photographie d'un calorimètre LOVIBOND.....	21
<b>Figure 14</b> : Histogramme représentant les deux taux d'extraction.....	24
<b>Figure 15</b> : Histogramme représentant teneurs en composés phénoliques des extraits.....	25
<b>Figure 16</b> : histogramme représentant les teneurs en phlorotannins des extraits .....	27
<b>Figure 17</b> : Histogramme représentant les valeurs des IC50 des extraits phénolique et lipidique.....	28
<b>Figure 18</b> : Histogramme représentant l'indice de peroxyde des différents extraits .....	31
<b>Figure 19</b> : Teneur en acidité pour les différents extraits .....	32

<b>Figure 20</b> : variation de la couleur pour les différents extraits .....	34
<b>Figure 21</b> : variation de la chlorophylle pour les différents extraits .....	35
<b>Figure 22</b> : Temps d'induction exprimés en (h) des échantillons de l'huile .....	36
<b>Figure 23</b> : Evolution de la conductivité en fonction du temps des échantillons.....	37
<b>Figure 24</b> : les différents chromatogrammes des échantillons analysés.....	40

## Liste des abréviations

**AG** : acide gras

**AGL** : acides gras libres

**AGMI** : Acides gras monoinsaturés

**AGPI** : Acides gras polyinsaturés

**AGS** : Acides gras saturés

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**DMBA** : 2,4-diméthoxybenzaldéhyde

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrilhydrazyl

**IC50** : Concentration d'inhibition à 50%

**KI** : Iodure de potassium

**mg EAG/g** : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

**mg éq AG/g** : milligramme équivalent de quercitrine par gramme

**mg EPG /g** : milligramme équivalent de phloroglucinol par gramme

**TI** : Temps d'induction

**Vit E** : vitamine E

# *Introduction*

***Introduction :***

L'oxydation des lipides est l'un des principaux problèmes de détérioration des produits alimentaires dont les huiles végétales, affectant leurs propriétés chimiques, physiques et sensorielle (**Hradkort et al., 2013**). En effet, l'auto-oxydation des lipides et leur stockage inadéquat contribuent de manière significative à la détérioration et à la réduction de la durée de vie des huiles végétales, entraînant des modifications de leur couleur, de leur texture, leur odeur et de leur arôme, ainsi qu'une perte de vitamines (**Schmidt et al., 2006**).

L'huile de tournesol comme la plupart des huiles végétales est majoritairement composée de triacylglycérides (98-99%) et d'une infime fraction de phospholipides, de caroténoïdes, de stérols et de cires, l'huile de tournesol classique est caractérisée par une proportion élevée d'acides gras insaturés, principalement l'acide linoléique, suivi de l'acide oléique (**Grompone, 2005**). La stabilité oxydative des huiles de tournesol dépend de leur composition en acides gras et de la présence d'antioxydants (**Kamal-Eldin , 2006**).

En effets, une meilleure stabilité oxydatives des huiles peut être obtenue par l'ajout d'antioxydants naturels ou synthétiques, L'hydroxtoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) sont des antioxydants synthétiques courants et efficaces, cependant, ils ont été associés à des maladies hépatiques et à la cancérogénèse (**Szydłowska-Czerniak et al., 2018**), par conséquent, l'industrie agro-alimentaire s'intéresse de plus en plus à l'incorporation des substances bioactives naturelles telle que les pigments caroténoïdes , les tocophérols (vitamine E) et les composés phénoliques qui sont capables d'agir comme antioxydants, de garder la qualité de l'huile et de minimiser les dommages causée à la santé (**Bakkalbasi et al., 2018; Wang et al., 2018**).

Les algues sont une source naturelle très intéressante de nouveaux métabolites dotés de diverses activités biologiques, ils sont considérés comme des aliments fonctionnels. Leurs activités biologiques sont corrélées à la présence de composés chimiques, issus de leur métabolisme primaire ou secondaires, dont certains, que l'on retrouve uniquement chez les algues. Cependant de nouvelles zones d'exploitation potentielle doivent être explorées afin de maximiser l'utilisation efficace des algues marines (**Wijesinghe et Jeon, 2011**).

Les Phaeophyceae ou algues brunes sont un grand groupe d'algues multicellulaires, qui jouent un rôle important dans les environnements marins. Les algues brunes contiennent des substances qui leur sont propre, comme le pigment fucoxanthine, les phlorotannins ainsi que

les polysaccharides dont les sulfatés, leur permettant d'être utilisés comme antioxydants et antibactériens. Il existe dans le monde environ 1 500 espèces d'algues brunes, qui produisent un grand nombre de composés actifs utiles (**Davis et al., 2003 ; Reddy et Urban, 2009**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant le potentiel d'utilisation de l'extrait d'une algue brune de la cote de Bejaia comme additifs alimentaires en vue d'un enrichissement d'une part, et comme substance antioxydante naturelle d'autres parts. Pour cela nous avons procédé à l'incorporation de l'extrait d'algue *padina pavonica* dans une huile de table « Fleurial ». Le but étant d'enrichir l'huile en termes de substance bioactives et d'améliorer sa stabilité oxydative.

Afin de mener à terme cette étude, une synthèse bibliographique concernant les généralités sur les algues brunes ainsi que sur l'huile de tournesol a été nécessaire. Cette revue de la littérature est suivie d'une partie expérimentale dont le matériel et les méthodes exploités seront présentés. Une discussion des résultats obtenus est ensuite établie et nous achevons ainsi ce travail par les principales conclusions et les perspectives envisagées.

*Généralités  
sur les algues  
brunes*

## **I. Algue brune :**

Les algues brunes ou Phaeophyceae représentent un groupe diversifié d'organismes multicellulaires que l'on trouve généralement dans les habitats marins. Les algues brunes comprennent environ 1800 espèces regroupées en 285 genres différents (silberfeld et al., 2010).

Du point de vue phylogénétique, les algues brunes sont regroupées dans le phylum Heterokonta (Baldauf, 2003) qui comprend à la fois des organismes unicellulaires et multicellulaires. La plupart des algues brunes contiennent le pigment fucoxanthine et différents phlorotannins phéophocéaniques qui sont responsables de la couleur brun-verdâtre (Masuma et Patel, 2020). Les algues brunes fournissent également un certain nombre de composants bioactifs dont des métabolites secondaires uniques dotés d'activités biologiques spécifiques (Masuma et Patel, 2020).



**Figure 1** : Photographie d'espèces d'algues brunes ,(a)-*Padina pavonica*,(B)-*Eisenia arborea*,(C)-*Sargassum muticum* (Algeabase).

## **II. Principaux composants des algues brunes :**

### **II.1. Phytosterol :**

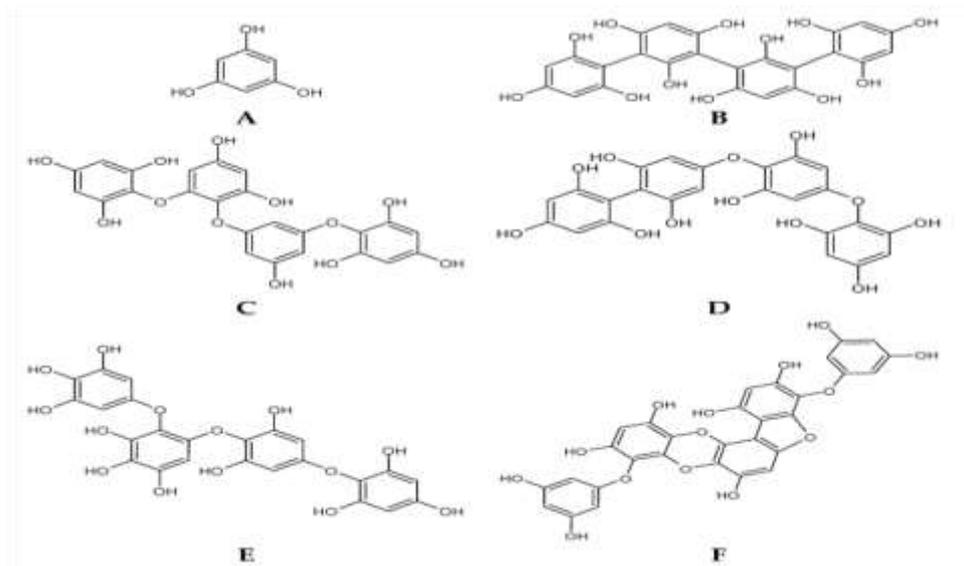
Les algues représentent une source riche en stérols qui ont un rôle important dans la régulation des membranes cellulaires (Lopes et al., 2011 ; Grattan, 2013). Les stérols des algues présentent une composition hétérogène avec une variabilité importante entre les différentes macroalgues (El Hattab et al., 2006). Le fucostérol est le stérol dominant dans les algues brunes (Boulom et al., 2014).

## II.2. Phlorotannins :

Chez les algues brunes (Phaeophyceae), le principal groupe de tanins présent est le groupe des phlorotannins (Figure 2). Ce sont des polymères de phloroglucinols (1, 3,5-trihydroxybenzène et peuvent constituer jusqu'à 15 % du poids sec des algues brunes (**Ragan et Glombitza, 1986; Ragan et Glombitza, 1986**).

Le poids moléculaires des phlorotannins varient de 126 Da à 650 kDa, mais se situent le plus souvent entre 10 et 100 kDa (**Boettcher et Targett, 1993 ; Mc Clintock et Baker, 2001**).

Il y a plusieurs types de phlorotannins dans les différentes espèces d'algues et ils peuvent être classés en six sous-groupes tels que les phloroéthols, les fuhalos, les fucols, les fucophlorethols, les eckols et les carmalols en fonction du type de liaison entre les unités phloroglucinol et les groupes hydroxyle présents sur les cycles phénoliques (**Li et al .,2011**).



**Figure 2.** Exemples de phlorotannins représentatifs d'algues brunes : (A) Fucol ; (B) Fucophlorethol ;(C) Phlorethol ; (D) Fuhalol ; (E) Carmalol ; (F) Eckol. (**C. Afonso et al ., 2019**).

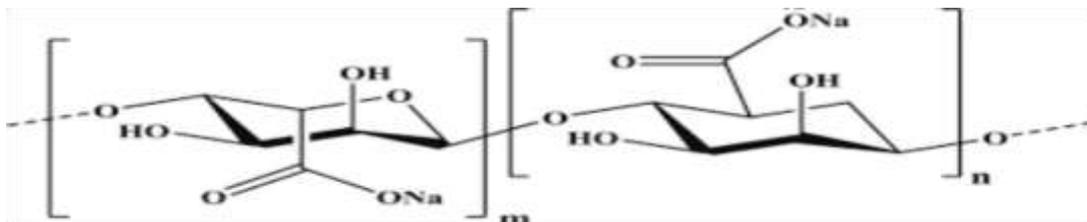
### **II.3. Polysaccharides :**

Les parois cellulaires des algues brunes contiennent des polysaccharides dont des sulfatés, ce sont des laminarines et de l'alginate, ainsi que du fucoïdan, qui n'est présent dans aucun autre type d'algues. Ces trois types de polysaccharides ont leurs propres caractéristiques physiques et chimiques qui sont influencées par l'espèce, la situation géographique, la saison et l'âge de la population.

Les polysaccharides sulfatés des algues brunes présentent un large spectre d'activités biologiques, dont des propriétés immunomodulatrices, anticoagulantes, anticancéreuses, antioxydantes et antivirales.

#### **II.3.1. Alginates :**

L'alginate (Figure 3) est le polysaccharide structurel prédominant dans les algues, constituées de polysaccharides linéaires avec des résidus d'acide  $\beta$ -D-mannuronique et  $\alpha$ -L-gulonique liés en 1,4 et distribués de façon irrégulière le long de la chaîne (Zavaglia et al., 2019).



**Figure 3.** Structure d'alginate (Isuru et kim, 2015).

#### **II.3.2. Fucoïdanes :**

Les fucoïdanes (Figure 4) sont des polysaccharides sulfatés complexes présents dans les parois cellulaires des algues brunes. Ils représentent 10 à 20 % du dw, consistant principalement de L-fucose sulfaté et de petites proportions de galactose, de mannose, de xylose, de glucose, de rhamnose et d'acides uroniques (Pomin & Mourão, 2008).

### II.3.3. Laminarine :

Le polysaccharide de réserve le plus abondant présent dans les algues brunes est la laminarine (Figure 4). Ce polysaccharide soluble dans l'eau est constitué de  $\beta$ -(1-3)-glucane avec des liaisons  $\beta$ -(1-6)-glycosidiques de 20-25 unités. Et peut contenir des résidus de mannitol ou de glucose comme extrémités réductrices (André et al., 2021).

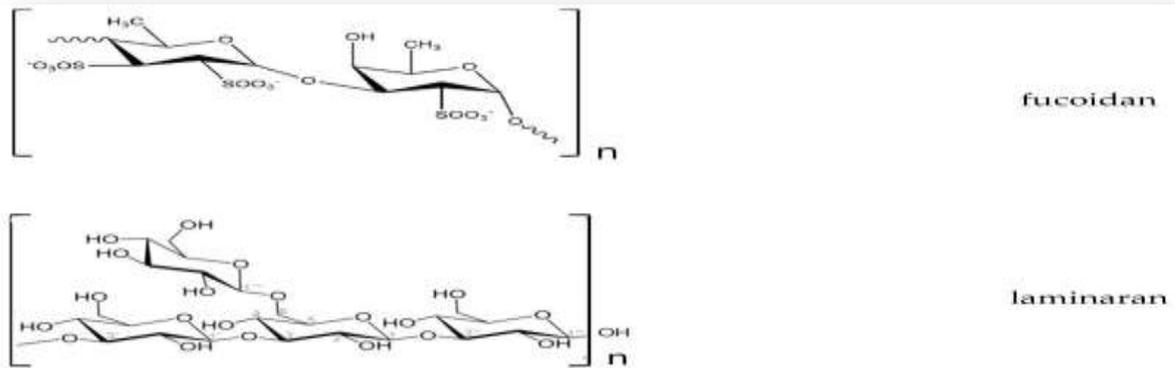


Figure 4. Structure des fucoidans et des laminaires présents dans les algues brunes (Isuru et kim, 2015).

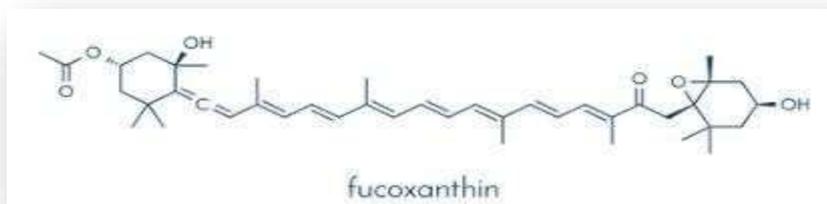


Figure 5. Structures de la fucoxanthine (Isuru et kim, 2015).

### II.4. Caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. Les algues brunes sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine,  $\beta$ -carotène et violaxanthine. Le caroténoïde le plus abondant dans les algues brunes est la fucoxanthine (Figure 5) c'est l'un des caroténoïdes les plus répandus dans la nature. Sa structure moléculaire se compose d'une liaison allénique inhabituelle et d'un 5,6-monoépoxyde (Pereira et al., 2021).

## **II.5. Les acides gras :**

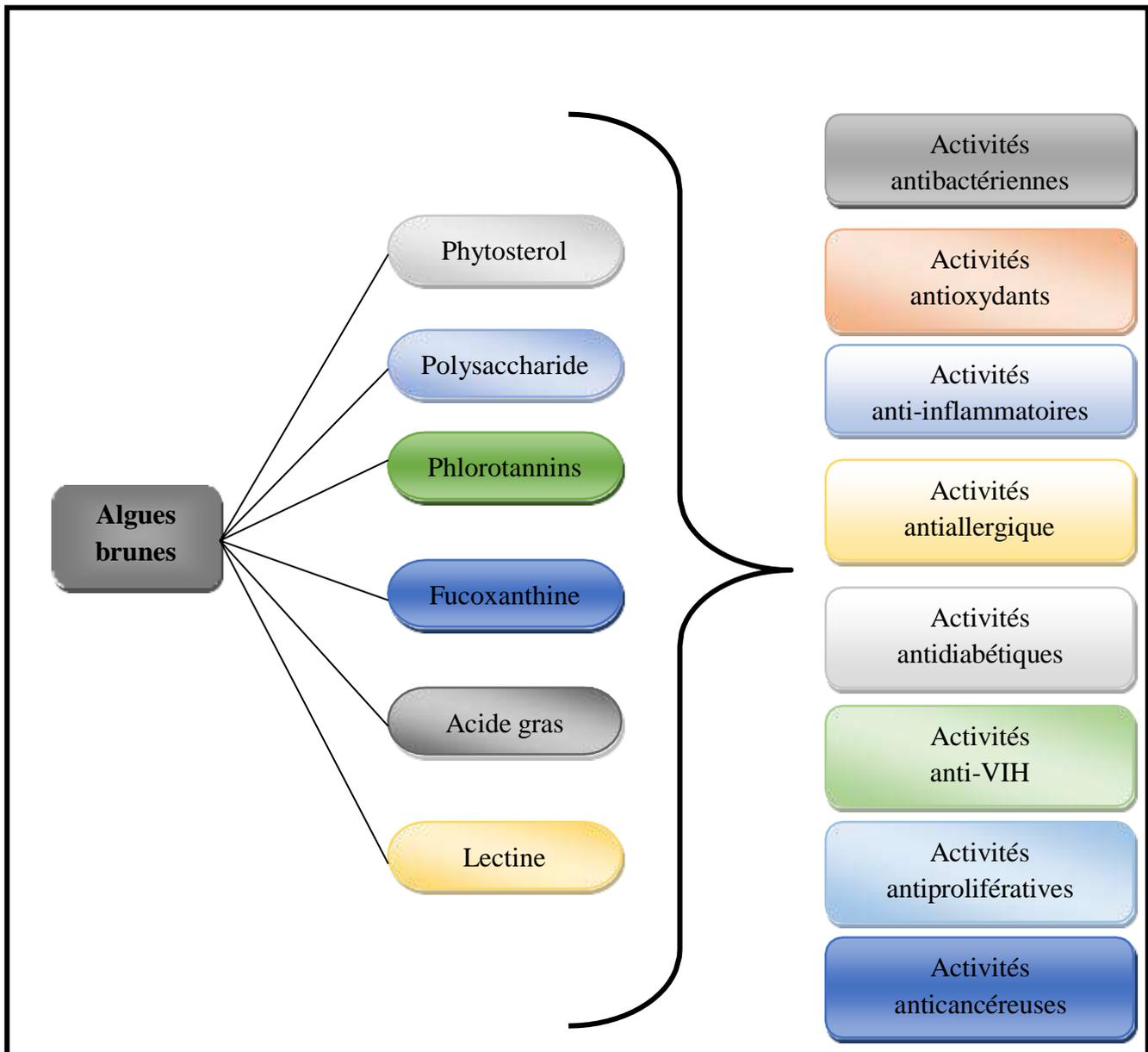
La teneur lipidique des algues diffère de celle des végétaux terrestres, elle est très faible et varie de 1 à 3 % de la matière sèche. Les algues contiennent une proportion importante en acides gras essentiels, les acides gras polyinsaturés présentent des niveaux significativement plus élevés qui agissent comme des antioxydants puissants, tels que les oméga 3 et les oméga 6 qui ont différents rôles dans la prévention des maladies cardiovasculaires, l'arthrose et le diabète, alors que les acides gras insaturés sont prédominants (**Khotimchenko, 2003**).

## **II.6 .Les lectines :**

Les lectines constituent l'une des classes de molécules les plus intéressantes extraites des algues. Ces peptides sont caractérisés par des domaines de liaison aux hydrates de carbone très spécifiques. On trouve des lectines dans tous les types d'algues et plusieurs ont été identifiées comme présentant un potentiel pour le développement de nouveaux médicaments. En raison de leur capacité à se fixer avec une grande spécificité aux glucides de la membrane externe (**Pagaret et al., 2021**).

## **III. Activités biologiques :**

Les algues brunes sont des sources connues de composés ayant un large spectre de propriétés et d'applications. Parmi ces composés, les phlorotannins, les caroténoïdes et le fucostérol sont connus pour leur activité biologique spécifique, notamment antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et antiallergique, les principales activités sont présentées dans la figure 06. (**Wijesinghe et Jeon, 2011**).



**Figure 6.** Diagramme schématisant les diverses activités biologiques des algues brunes en fonction de leurs composés bioactifs.

*Généralités*  
*sur*  
*l'huile de tournesol*

Le tournesol (*Helianthus annuus*) est une plante appartenant à la famille des Asteraceae, et au genre *Helianthus*. C'est une plante annuelle qui possède une grande inflorescence jaune composée d'une tête circulaire, ou capitule, avec de petites fleurs abritant des grains oléagineux (Seiler et Gulya, 2016).

C'est l'une des plus anciennes espèces endémiques du sud de l'Amérique du Nord. Cette plante est cultivée pour la richesse de ses graines en huile ainsi que pour sa haute teneur en protéines (Lentz, et al., 2008).



**Figure 7.** Photographie de *Helianthus annuus* (le tournesol)

(Gardena, 2018)

## **I. L'huile de tournesol :**

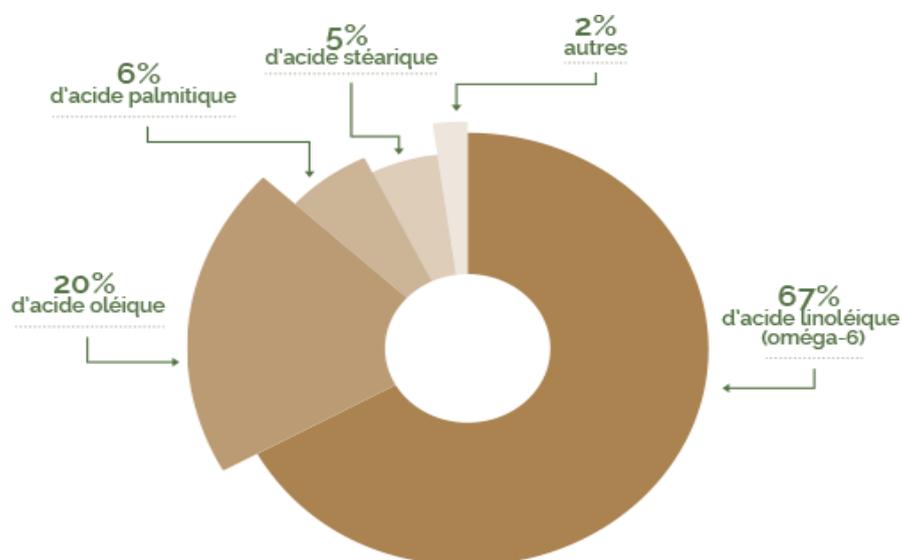
Le tournesol est cultivé dans le monde entier, principalement comme une culture oléagineuse comestible. L'huile de tournesol est obtenue à partir de *Helianthus annuus*. Cette huile de première pression, de saveur douce, et d'une couleur claire est connue pour la richesse de son profil en acides gras qui lui permet d'être utilisée principalement comme huile de friture, et comme ingrédients dans des produits alimentaires tels que les margarines (Cossut et al., 2002).

L'huile de tournesol est un choix de cuisson sain pour la santé car elle contient des acides gras monoinsaturés (acide oléique oméga-9 : 14,0 à 18,1%), acides gras polyinsaturés (acide linoléique oméga-6 : 59 à 67,5 %), et un niveau plus faible d'acides gras saturés (9 à 10 %) par rapport à d'autres huiles végétales telles que l'huile de palme et les graisses hydrogénées qui présentent des quantités plus élevées de graisses saturées (Roche, 2005).

## II. Composition de l'huile de tournesol :

Comme la majorité des huiles végétales, les huiles de tournesol sont constituées principalement de triacylglycérols (98-99%) et d'une petite proportion de phospholipides, la matière dite insaponifiable contient entre autres des tocophérols, des stérols et des cires (**Kirk-Othmer, 1992**).

L'huile de tournesol est essentiellement composée d'acide linoléique (C-18:2) et d'acide oléique (C-18:1). Ces deux acides représentent environ 90 % de la teneur totale en acides gras de l'huile de tournesol. Les 8 à 10 % restants sont constitués d'acides palmitique et stéarique (C-16:0 et C-18:0, respectivement, figure 8) (**Awatif et Arafat Shaker, 2014**).



**Figure 8** :.La composition en acide gras de l'huile de tournesol « classique »

(Bernadete et Invern, 2000)

### III. Les caractéristiques de l'huile de tournesol :

Les propriétés physico-chimiques de l'huile de tournesol sont indiquées dans le tableau I.

**Tableau I :** Principales constantes physique-chimiques de l'huile de tournesol (**Karleskind, 1992**).

<i>Constantes</i>	<b>Valeur</b>
Densité relative à 20 °C (5g/cm)	0,920-0,925
Point de solidification	12-16
Indice de saponification (mg de KOH/g d'huile)	188-193
Indice d'iode (g d'iode dans 100g de CG)	120-193
Indice de réfraction à T° de 20°C	1,474-1,476
Viscosité	51-57

### IV. Utilisation de l'huile de tournesol :

L'huile de tournesol est légère en goût et en apparence, intéressante pour sa teneur en acide linoléique et fournit plus de vitamine E que toute autre huile végétale. C'est une combinaison de graisses monoinsaturées et polyinsaturées avec un faible taux de graisses saturées (**Baudet et al., 2012**).

#### IV.1 Utilisation alimentaire :

L'huile de tournesol est utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication des aliments et des assaisonnements, ainsi que pour la friture, elle peut être utilisée dans des températures de cuisson extrêmement élevées. Elle peut également aider les aliments à rester plus frais et plus sains plus longtemps (**Baudet et al., 2012**).

#### **IV.2 Utilisation non alimentaire :**

Bien que l'huile de tournesol soit principalement produite pour l'assaisonnement et la friture, son exploitation pour des applications industrielles s'étend au secteur non alimentaire. Les huiles de variétés à forte teneur en acide oléique sont utilisées pures ou modifiées pour des applications dans les domaines de la lubrification, de la solvatisation ou pour leur teneur en phytostérols ou autres AG dans les domaines pharmaceutique et cosmétique (**Baudet et al., 2012**).

#### **V. Stabilités oxydatives des huiles végétales :**

La stabilité oxydative est l'un des paramètres de qualité les plus importants des huiles végétales. Elle est influencée par la composition chimique de l'huile et l'action de divers facteurs tels que l'exposition à la lumière, à l'oxygène, à la chaleur. Ces facteurs peuvent accélérer l'oxydation des lipides, diminuer la stabilité oxydative et, par conséquent, avoir un impact important sur les propriétés sensorielles, la qualité nutritionnelle et la diminution de la durée de conservation (**Almoselhy, 2021**).

Bien que les huiles végétales contiennent naturellement des antioxydants tels que des tocophérols, des tocotriénols caroténoïdes, des composés phénoliques et des stérols, mais elles ne présentent pas une stabilité oxydative suffisante. Lorsque la teneur en antioxydants endogènes n'est pas suffisante on a alors recours à l'ajout d'agent antioxydant qui va ralentir l'activité des catalyseurs de l'oxydation ou limiter la propagation des radicaux libres. Ces additifs viennent compléter ou renforcer le rôle déjà tenu par les composés antioxydants naturellement présents dans les huiles (**Frankel, 2007 ; Cuvelier et Latino-Martel, 2009**).

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes selon leur mode d'action :

- ❖ Les antioxydants primaires, également appelés antiradicalaires. Ce groupe d'antiradicalaires est constitué presque exclusivement de composés phénoliques en raison de la grande stabilité apportée par leur cycle aromatique. On trouvera ainsi dans ce groupe les additifs antioxydants, BHA, BHT, TBHQ, gallates, mais aussi les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols végétaux (flavonoïdes, acides phénoliques, diterpénoïdes) (**Brest, 2006**).
- ❖ Les antioxydants secondaires agissent par des mécanismes indirects tels que la chélation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène. On les appelle aussi

antioxydants préventifs car ils viennent compléter les moyens de prévention de l'oxydation. Les agents chélateurs de métaux les plus couramment utilisés sont l'EDTA et l'acide citrique (**Cuvelier et Maillard, 2012**).

*Matériel*

*&*

*Méthodes*

Le travail réalisé dans cette étude a été effectué pour sa première partie au niveau du laboratoire de génie biologique de l'université de Bejaia, la deuxième partie du travail a été menée au niveau du complexe Cevital : Le Laboratoire d'analyse physico-chimique de l'huile et le laboratoire de recherche et développement (annexe 01) .

## **I. Matériel végétal :**

L'algue brune a été récoltée par Mme Keramane durant le mois d'août 2020 sur les côtes de la plage dite El'ach El-baz, située à environ 22 Km à l'ouest de la ville de Bejaia, (36° 49'58,06 N, 4° 58' 05'17' E) (Figure 09).



**Figure 09:** Photographie de la station de récolte (Plage EL'ach El Baz, Bejaïa)

L'algue fraîche a été rincée à l'eau douce, puis séchée à l'air à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après séchage, l'algue est broyée à l'aide d'un mixeur en une poudre fine puis tamisées afin d'obtenir une poudre dont la taille des particules est inférieure à 63  $\mu\text{m}$ . Celle-ci est ensuite placée dans un flacon fumé et conservée dans un endroit frais et sec.

- ❖ Nous avons uniquement procédé au broyage à l'aide d'un broyeur électrique et au tamisage de la poudre.

## **II. Extraction des composés bioactifs :**

### **II.1. Extraction par macération de la fraction phénolique :**

L'extraction a été effectuée en utilisant le protocole de **Cox et al. (2010)**. A cet effet, 10 g de poudre sont macérés dans 100 mL de solvant (éthanol 75%), sous agitation à 40 °C pendant 02 heures, la solution est par la suite centrifugée à 5000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré, filtré à l'aide d'un papier filtre standard et évaporé à sec dans une étuve ventilée à 40 °C. L'extrait sec est ensuite conservé dans des flacons fumés à -80 °C jusqu'à son utilisation.

### **II.2. Extraction par soxhlet de la fraction lipidique :**

La méthodologie suivie est celle de **Ramluckan et al. (2014)**. 25g de poudre d'algue est introduit dans la cartouche en cellulose du soxhlet, puis l'ensemble est mis dans l'extracteur à siphon, le ballon est rempli avec 250 ml du solvant (chloroforme / méthanol) (Figure 11). L'extraction est maintenue continuellement pour une durée de 3 heures à une température de 40°C. L'extrait organique résultant est évaporé avec un évaporateur rotatif, l'extrait finale est pesé et conservés dans un flacon fumé.



Figure 11. Photographie de l'extracteur au soxhlet

### II.3. Détermination des taux d'extraction :

Le rendement en extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de l'extrait avant et après évaporation du solvant.

Le rendement d'extraction est calculé comme suit :

$$RE \% = (P1 - P0) / E \times 100$$

**P0** : poids du bécher vide (mg)

**P1** : poids du bécher après évaporation (mg).

**E** : poids de l'échantillon (mg)

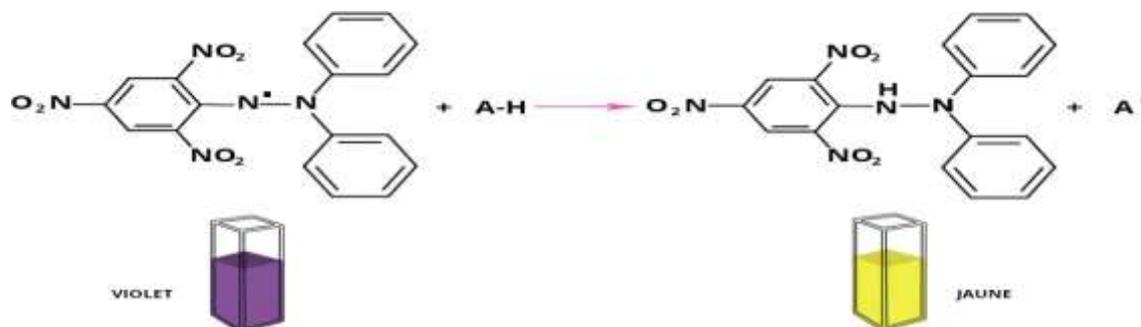
**RE** : Rendement d'extraction exprimé en pourcentage.

### III. Analyses effectuées sur les extraits :

#### III.1 Activité antiradicalaire : teste de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant des extraits préparés a été déterminée par le test 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), le radical libre DPPH a été utilisé comme molécule oxydante pour

être réduit par les composés antioxydants présents dans les extraits. Dans ce teste les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune (Figure 12) (Maataoui *et al.*, 2006) .



**Figure 12 :** Réaction réduction du DPPH (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (CONGO, 2012).

Différentes concentrations des extraits sont préparées (600, 400, 300,200, 150, 100, 75,50, 25), puis 200 µl de chaque concentration sont mélangé à un volume de 3 ml de la solution de DPPH. Les mélanges sont ensuite agités et laissés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance des solutions obtenues est mesurée à 516 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'activité de piégeage des radicaux libres est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \left[ \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

La capacité de piéger les radicaux libres a été exprimée par la valeur IC<sub>50</sub>, qui représente la concentration nécessaire pour piéger 50% du radicale libre DPPH.

- ❖ Le teste a blanc est représenté par une solution de méthanol + extrait sans le radical libre DPPH dont le Protocol expérimental a été appliqué dans les mêmes conditions que les échantillons.

### III.2 Dosage des composés phénoliques :

La teneur en composés phénoliques est déterminée suivant la méthode de **Koşar *et al.*, (2005)** par le test du Folin-Ciocalteu, qui se compose d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange

d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène. Dont l'absorption maximale à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits.

Un volume de 300 µl de chaque extrait d'algues à 12,5 mg est mélangé avec un volume de 1,8 ml d'eau distillée, puis 150 µl de Folin sont ajoutés, le mélange est homogénéisé et laissé reposer pendant 1 minute, ensuite 450 µL de carbonate de sodium à 20% et 570 µl d'eau sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 760 nm. Une gamme étalon préparée à partir de l'acide gallique à des concentrations variant de 2 mg/ml à 0,0312 mg/ml est utilisée comme référence en suivant le même Protocole.

- ✓ La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Celle-ci est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

### **III.3 Dosage des Phlorotannins (Teste du DMBA) :**

Dans les algues brunes, on considère que les polyphénols sont essentiellement représentés par les phlorotannins, qui sont formé par polymérisation de phloroglucinol (1, 3,5-trihydroxybenzène). Pour quantifier les phlorotannins dans les extraits, nous avons utilisé le 2,4-diméthoxybenzaldéhyde (DMBA), qui interagit uniquement avec les phénols 1,3 et 1, 3,5-substitués et forment un produit coloré.

Le protocole suivi est celui de **Lopes et al. (2012)**. Des volumes égaux de DMBA (2% m/v) et HCL (6% v/v), préparés dans de l'acide acétique glacial, sont mélangés afin d'obtenir la solution réactionnelle. Un volume de 1750 µL de solution DMBA sont mélangés à 250 µL d'extrait d'une concentration de 5 mg/ml. Un témoin est préparé comme suit : 250 µL d'extrait + 1750 µL de solution réactionnelle exempte de DMBA. La réaction a été conduite à l'obscurité et à température ambiante pendant 1h. La mesure de l'absorbance est effectuée à 515 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant une série de six concentrations de phloroglucinol comprises entre 0,98 et 62,50 µg / ml. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de phloroglucinol par g d'extrait (mg d'EPG / g d'extrait).

#### **IV. Préparation des mélanges huile/extraits :**

##### **\* Analyse physico-chimique du mélange :**

Afin d'explorer le potentiel d'utilisation des extraits de l'algue brune *Padina pavonica* comme additif alimentaire.

Nous avons incorporé ses extraits dans une matrice alimentaire qui est l'huile de tournesol « Fleurial ». En se basant sur des études préalables (**Chougui et al 2015 ; Mouci et Kecili, 2020**). Les concentrations suivantes d'extrait ont été utilisées.

- ✓ Trois concentrations (2%,4% et 6%) ont été utilisées pour le mélange (extrait au soxhlet + huile de tournesol).
- ✓ Une concentration de 300ppm de l'extrait phénolique a été utilisée.

##### **IV.1 Détermination de l'indice de peroxyde : (NE. 1. 2. 98, 1988).**

L'indice de peroxyde permet de mettre en évidence l'état d'oxydation des huiles en déterminant la quantité de peroxyde actif contenu dans un gramme d'huile et qui est considéré comme un produit primaire d'oxydation (**Tchiegang et al., 2004 ; Marmesat et al. , 2009** )

5g d'huile de mélange (huile de tournesol + extrait d'algue à différentes concentration) est pesé dans un erlenmeyer de 250mL auquel on ajoute 12ml de chloroforme et 18 ml d'acide acétique ainsi que 1ml d'Iodure de potassium (KI) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 1mn et laissé reposer pendant 1 mn à l'abri de la lumière. 75mL d'eau distillée sont additionnés suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium (0,01N) en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100mL) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur.

Un essai à blanc est effectué simultanément.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\text{IP (Meq O}_2\text{ /kg)} = \text{V. Chute} \times 2$$

**IP** : Indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme de corps gras ;

**V** : Volume de thiosulfate de sodium ajouté ;

#### **IV.2 Détermination de l'indice d'acidité : (NE. 1. 2.97, 1988)**

L'indice d'acide est un indicateur de qualité ; il est défini comme le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres (AGL) présents dans un gramme de Matière Grasse.

10 g d'échantillon de mélange (huile de tournesol + extrait d'algue à différentes concentrations ainsi qu'un témoin) sont placés dans un erlynemeyer, puis 75 ml d'éthanol absolu avec 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutés. Le mélange a été chauffé pendant 1 minute, et il a été titré avec du NAOH (0,1 N) jusqu'à l'apparition de la couleur rose pâle persistante. Les résultats sont exprimés selon l'équation suivante :

$$\text{Acidité(\%)} = \frac{\text{V chute} \times 0.1\text{N} \times \text{M}}{10 \times \text{Pe}}$$

**M** : Masse molaire de l'acide adapté (256 pour l'acide palmitique, 282 pour l'acide oléique).

**Pe** : prise d'essai.

#### **IV.3 Détermination de la teneur en chlorophylles : (AOCS, 1989)**

Le principe est basé sur la mesure de la teneur de ce pigment dans le visible à 630 nm, 670 nm et 710 nm. Cette analyse permet de donner une approche sur la qualité organoleptique et la conservation des huiles.

Remplir une cuve en quartz avec les différents échantillons et chauffer à 30 °C pendant quelques secondes .L'absorbance de l'huile par rapport au tétrachlorure de carbone dans la Cuve témoins est lue à différentes longueurs d'ondes 630, 670 et 710 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Expression des résultats :

- La teneur en pigment est calculée comme suit :

$$\text{Chl (ppm)} = [A_{670} - (A_{630} + A_{710}) / 2] / 0.0186 \times L$$

**Chl** : Teneur en chlorophylle exprimé en ppm.

**A** : Absorbance à la longueur d'onde indiquée.

**L** : Longueur de la cuve (1 cm).

#### **IV.4 Détermination de la couleur : (ISO 15305,1998)**

La détermination de la couleur est effectuée par un calorimètre LOVIBOND constitué de deux séries de verre coloré : jaune et rouge, la couleur de l'huile est comparée à une couleur obtenue grâce à la superposition de ces deux verres colorés (**mordert, 1992**).



**Figure 13** : photographie d'un calorimètre LOVIBOND

La cuve est remplie d'huile, jusqu'au trait supérieur puis est introduite dans l'appareil, la couleur de l'échantillon est déterminée par une meilleure comparaison possible avec les lames de la couleur standard. La lecture se fait par le réglage de deux faces jusqu'à l'obtention de la même couleur des deux cotés, les valeurs du jaune et du rouge sont lus sur la planche.

**Expression des résultats :**

Les résultats s'expriment en termes de nombre d'unités jaune et rouge nécessaire pour l'obtention de la couleur correspondante.

**IV.5 Test d'oxydation accéléré (Test de rancimat) : (Iso 6886, 2006)**

Le principe du test est de déterminer la stabilité oxydative d'une huile en faisant passer un échantillon d'huile, soumis à un traitement thermique contrôlé, à travers un courant d'air, ce qui provoque la dégradation rapide des lipides en acides organiques volatils. Le courant d'air capte les acides volatils libérés et les solubilise dans un réservoir rempli d'eau déminéralisée ; les acides solubilisés sont dissociés en ions, ce qui entraîne une modification de la conductivité de cette eau. La valeur du TSO est définie comme le temps (en heures) nécessaire pour que la conductivité atteigne une valeur prédéterminée (**MARKUS et PETER, 1986**). L'appareillage est illustré sur la figure 14.

5g d'huile sont introduites dans chacun des tubes à essais et on prolonge les tubulures d'arrivée d'air dans les échantillons pendant toute la durée de l'expérimentation. La température est fixée à 98°C avec un débit d'air réglé à 10 l/h. Les produits de dégradation (acides

organiques) de cette oxydation poussée sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eaux distillée (50 ml), dans laquelle est immergée une électrode de mesure de la conductivité (**Rahmani et Saad, 1989**). Le temps de résistance au stress oxydatif est déterminé par conductimétrie ; il correspond au temps d'induction au test Rancimat(T.I.R.). Les valeurs obtenues sont affichés sur l'ordinateur à l'aide d'un logiciel.

## **V. Analyse de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse :**

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées en utilisant un appareil 6890 Network GC system équipé d'un passeur d'échantillons et du logiciel d'acquisition de données.

Les séparations ont été effectuées à l'aide d'une colonne capillaire (DB-23) 60 m de long (diamètre interne de 0,25 mm et épaisseur de film de 0,25  $\mu\text{m}$ ) à un débit d'hydrogène constant de 40 ml/ min

### **V.1 Préparation des esters méthyliques d'acides gras :**

#### **◆ Protocole :**

0.5 g d'huile sont dissous dans 5 ml d'hexane puis 0.5 ml de la solution KOH méthanolique (1.3g 10 ul de l'éthanol) y sont ajouté, le mélange est homogénéisé 30 secondes. Ensuite Centrifugé à 300 tours/min pendant 5 min.

1 a 2 gouttes du surnageant sont prélevés et additionnés de 1 $\mu\text{l}$  d'hexane ensuite le mélange est injecté dans la colonne.

*Résultats*

*Et*

*discussion*

## I. Le taux d'extraction des composés bioactifs :

Après avoir effectué des extractions par macération (extrait phénolique) et au soxhlet (extrait lipidique) nous avons calculé les taux d'extraction. Les taux obtenus pour les deux types d'extraction sont représentés sur la figure 15 suivante :

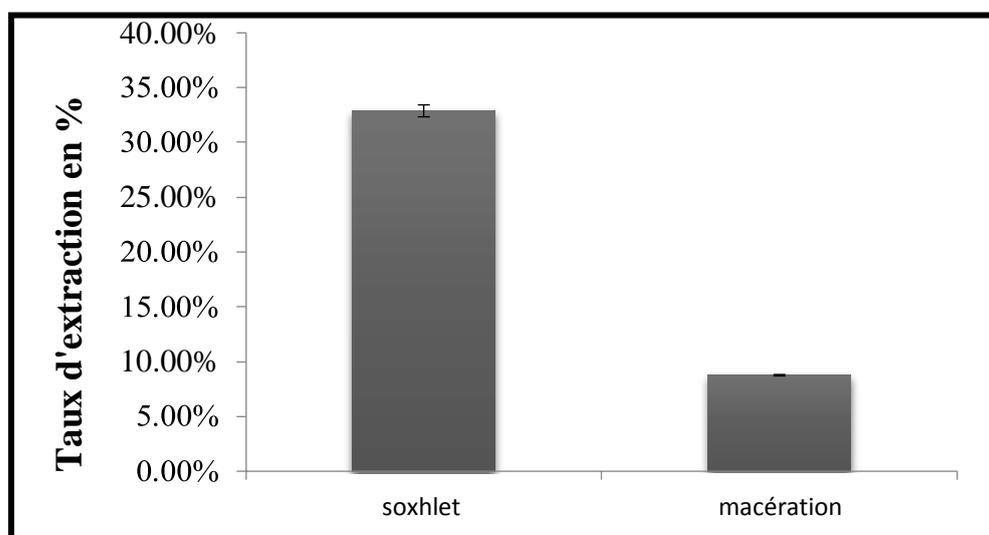


Figure 15 : Histogramme représentant les deux taux d'extraction

Après avoir effectué des extractions par macération (extrait phénolique) et au soxhlet (extrait lipidique) nous avons calculé les taux d'extraction.

Le taux d'extraction de l'extrait macéré dans de l'éthanol à 75% de *padina pavonica* est de 7,73%, tandis que pour l'extrait issu de l'extraction au soxhlet avec de méthanol/chloroforme (1:1) est de 29,98%. Cette différence entre ces deux taux d'extraction est due essentiellement au type d'extraction et au solvant utilisé, Il est bien connu que le rendement en extraction dépend du type de solvants et leurs polarités propres, du temps et de la température d'extraction, de la composition chimique de l'échantillon ainsi que de la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) (Tierney et al., 2012).

En comparant notre étude avec une étude similaire de Saidani, (2010) réalisée dans les mêmes conditions sur la même algue brune, mais dont le solvant est remplacé par du méthanol, nous constatons que notre taux d'extraction de l'extrait phénolique (7,73%) est supérieur à celui obtenu avec l'étude précitée (2.34%), sachant que dans les

Deux études les poudres avaient une granulométrie de 63 $\mu$ m, cela confirme l'efficacité du solvant d'extraction utilisé. Bien que les chercheurs utilisent divers solvants organiques afin

d'obtenir des extraits à forte teneur en composés phénoliques l'eau et l'éthanol sont préférés dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique pour des raisons économiques, toxicologiques et environnementales. En raison de la variation de la polarité des composés phénoliques, on s'attend à ce que les mélanges hydroalcooliques pourraient être les solvants les plus appropriés. Ceci est confirmé par les résultats obtenus d'une étude menée par **Mekini et al. (2021)**.

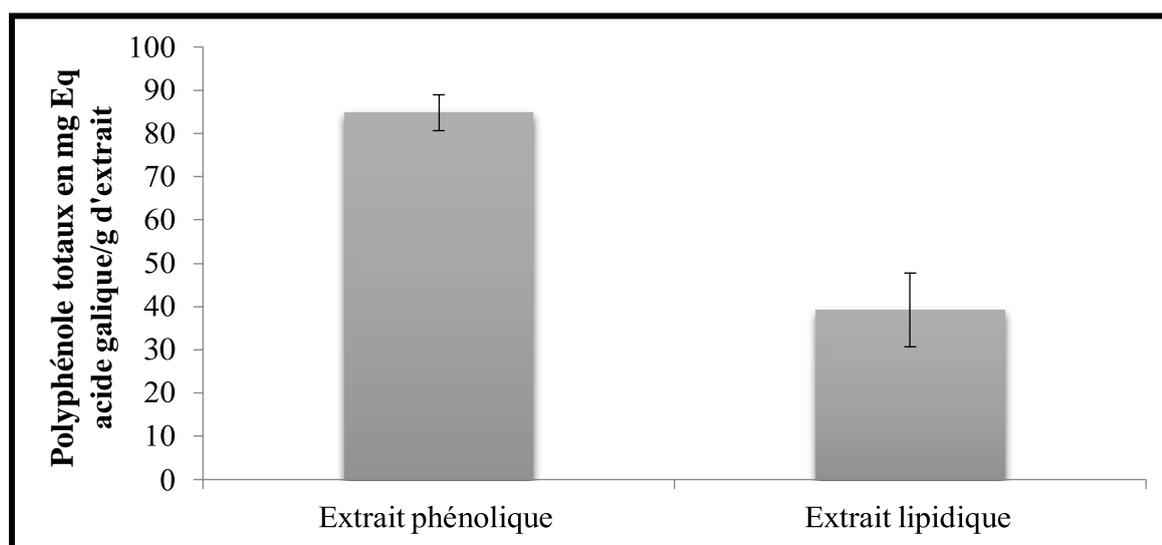
Le mélange (chloroforme/méthanol) a donné un rendement élevé d'extraits lipidique, Ce résultats est semblable à celui obtenu dans une étude précédant (**Prommuak et al., 2012**). Cela s'explique par le fait que le mélange chloroforme/méthanol est un mélange de solvant polaire (Méthanol) et apolaire (Chloroforme), ce qui permet d'extraire à la fois les lipides neutre et polaires des algues.

## **II. Analyses effectuées sur les extraits :**

### **II.1 Dosage des polyphénols totaux :**

La concentration des polyphénols totaux est déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**) à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme témoin dont la quantité est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g extrait).

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait phénolique et lipidique sont représentées dans la figure 16 ci-dessous :



**Figure 16:** Histogramme représentant les teneurs en composés phénoliques des extraits.

L'extrait d'algue brune qui a donné la meilleure teneur en polyphénols totaux est l'extrait phénolique avec 73.79 mg EAG/g. L'extrait lipidique quant à lui, a présenté une teneur en composés phénoliques de 39.19 mg EAG/g.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la teneur en polyphénols totaux dépend de la polarité des solvants utilisés et du type d'extraction. L'extrait phénolique (extrait macéré) qui a marqué la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ceci est en accord avec les résultats des travaux de **Mahmoudi et al., (2013)** qui ont rapportés que Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par « macération » semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux soit en moyenne 45,88 contre 17,53 mg EAG/g pour l'extraction au soxhlet.

La quantité la plus élevée des polyphénols est enregistrée pour l'extraction avec macération ce qui est en accord avec l'étude de **(Naja et al., 2012)** sur les espèces *Sargassum Vulgare* et *Padina pavonica* où il a remarqué que la valeur la plus élevée a été enregistrée pour l'extrait phénolique ceci confirme nos résultats.

Les composés phénoliques ont des polarités différentes, ce qui indique que les mélanges hydroalcooliques pourraient être le solvant le mieux adapté pour leur extraction, De plus, ces mélanges sont acceptables pour les applications alimentaires **(Medina-Torres et al., 2017)**. Un mélange hydro-alcoolique a un effet synergique, l'eau agit comme un agent gonflant de la matrice, et l'éthanol induit la rupture de la liaison entre les solutés et la matrice.

Différentes études ont montrés que les teneurs en les composés phénoliques pouvaient varier d'une espèce a l'autre et que les algues brunes sont généralement les plus riches **(Connan et al., 2004 ; stiger et al., 2004)** . Une autre étude a révélé que les algues brunes ont des teneurs plus élevées en composés phénoliques par rapport aux algues vertes et rouges **(Suleria et al., 2015)**.

## **II.2 Dosage des phlorotannins :**

La quantification des phlorotannins dans les extraits a été réalisée par la méthode colorimétrique DMBA en utilisant le phloroglucinol comme standard.

Les teneurs en phlorotannins des extraits phénolique et lipidique étudiées sont exprimées en mg équivalent de phloroglucinol (mg EPG par g d'extrait), elles sont présentées dans la figure 17.

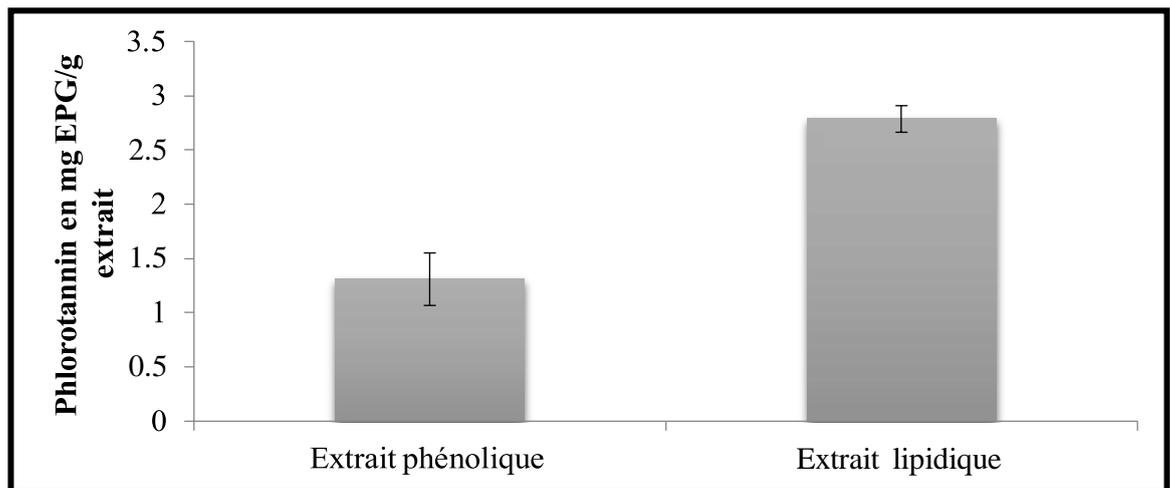


Figure 17 : Histogramme représentant les teneurs en phlorotannins des extraits.

Dans la présente étude l'extrait qui a donné la meilleure teneur en phlorotannins est l'extrait lipidique avec 2.787mg EPG/g d'extrait tandis que l'extrait phénolique a enregistré une teneur de 1,309 mg EPG/g d'extrait.

La teneur en phlorotannins la plus élevée est obtenue par l'extrait lipidique (extraction au soxhlet) ce qui est en accord avec l'étude de (Custudio et al., 2016) qui rapporte que l'extraction au soxhlet apparait comme la meilleure méthode dont la concentration chez *Padina pavonica* est de 3,95 mg EPG/g d'extrait contre 1,91 mg EPG/g pour l'extraction par macération .

La concentration de phlorotannins dans les algues brunes peut varier selon les espèces, celle-ci étant affectée par la taille des algues, l'âge, le type de tissu, la salinité, la saison, les

niveaux de nutriments, l'intensité de l'herbivorie, l'intensité lumineuse et la température de l'eau (Singh et Sidana, 2015).

### **II.3 Activité antioxydante (piégeage du radical libre DPPH) :**

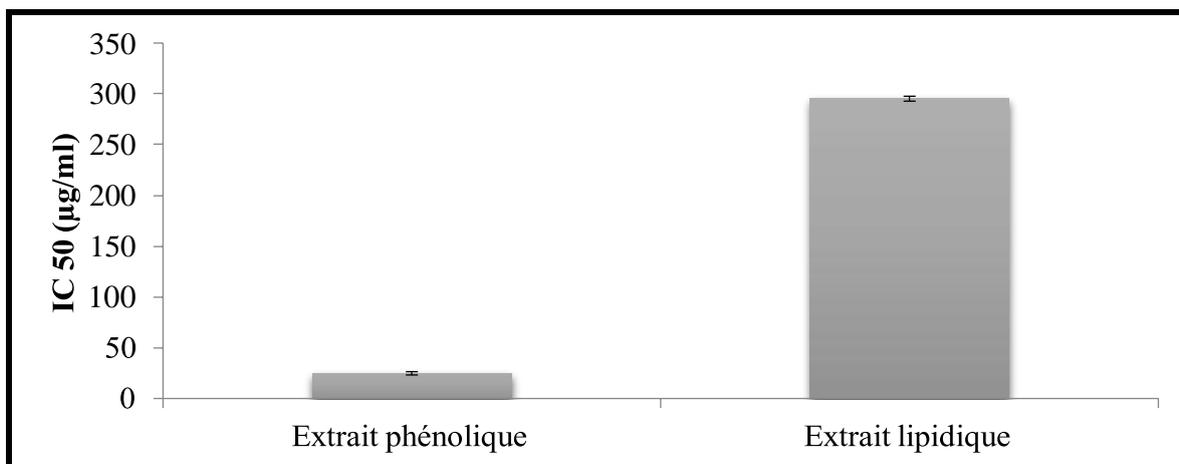
Le pouvoir antioxydant des extraits de notre algue brune est évalué par le test DPPH qui est largement utilisé pour évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydantes (Knežević et al., 2011).

#### **➤ Évaluation du potentiel antiradicalaire : détermination de l'IC<sub>50</sub> :**

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC<sub>50</sub>. Ce paramètre employé pour estimer le pouvoir antioxydant est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le pouvoir antiradicalaire est inversement proportionnel à l'IC<sub>50</sub> (Prakash et al., 2007).

Les IC<sub>50</sub> sont obtenues à partir des équations des courbes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits exprimées en (µg/ml).

Les valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait phénolique et lipidique sont représentées dans la figure ci-dessous :



**Figure 18 :** Histogramme représentant les valeurs des IC<sub>50</sub>(µg/ml) des extraits phénolique et lipidique.

Les valeurs de IC<sub>50</sub> déterminées graphiquement nous ont permis d'évaluer et de comparer l'efficacité des extraits, plus cette valeur est petite plus la capacité à piéger les radicaux libres formés à partir de l'oxydation de l'acide linoléique est élevée. Nous avons

remarqué que la capacité antioxydante la plus élevée qui correspond à la valeur d'IC<sub>50</sub> la plus faible a été enregistrée avec l'extrait phénolique qui présente un IC<sub>50</sub> de 30,76 mg/ml par contre l'extrait lipidique a enregistré une valeur d'IC<sub>50</sub> très éloignée qui est de 266,335 mg/ml, cet extrait nécessite des concentrations plus élevées pour piéger 50% du radical DPPH.

L'extrait issu de la macération possède une activité antioxydante largement supérieure à celle de l'extrait obtenu par Soxhlet. Ces résultats corroborent ceux de Khan et son équipe (2012). Nos résultats sont également en accord avec ceux rapportés par Wang *et al.*, (2009) et Yan *et al.*, (1999), qui ont également constaté que les algues brunes possédaient une forte activité de piégeage du radical DPPH .

La différence d'activité antioxydante enregistrée dans les deux techniques d'extraction est probablement due à la teneur en polyphénols totaux avec 84.79 mg EAG/g pour l'extrait macéré et 39.19 mg EAG pour l'extrait au soxhlet.

Sachant que les composés phénoliques des algues brunes ont de fortes activités antioxydantes sur les radicaux libres, de nombreux chercheurs ont trouvé une forte corrélation entre la teneur en composé phénolique et l'activité antioxydante (Heo *et al.*, 2005 ; Kang *et al.*, 2005, Shibata *et al.*, 2008) ce qui est en accord avec nos résultats.

On trouve dans la littérature des travaux qui confirment que la présence d'eau dans les solvants mixtes augmentent la perméabilité des tissus végétaux et favorisent le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction (Arimboor *et Arumughan*, 2011; Moure *et al.*, 2000; Trabelsi *et al.*, 2010). Par ailleurs, à la différence de la macération qui se déroule à température ambiante, l'extraction au Soxhlet se fait à la température d'ébullition du solvant, ce qui entraînerait la dégradation thermique des composés potentiellement antioxydant qui seraient thermolabiles (Popovici *et al.*, 2009).

### **III. Analyse physico-chimique du mélange :**

Après avoir préparé les mélanges : huile de tournesol + extrait macéré à 300 ppm, Huile de tournesol + extrait au soxhlet à 2, 4 et 6% un suivie de la stabilité oxydative des différentes huiles durant 4 semaine a été effectué et comparé à une huile témoin stockée dans les mêmes conditions.

### **III.1. Indice de peroxyde (IP) :**

La stabilité oxydative des huiles et des graisses est l'un des paramètres les plus importants pour l'évaluation de leur qualité. L'indice de peroxyde (IP) est généralement utilisé pour évaluer la stabilité ou le rancissement des graisses. En mesurant la quantité de peroxydes et d'hydro peroxydes formés au cours des étapes initiales de l'oxydation des lipides (**Kowalski et al ., 2004**).

Dans cette étude, le degré d'oxydation sur des échantillons d'huile de tournesol a été déterminé en mesurant l'IP en absence et en présence d'un extrait d'algue *padina pavonica* pendant quatre semaines.

La figure 19 représente la variation de l'indice de peroxyde des échantillons d'huiles (tournesol + extraits lipidique), (tournesol+ extrait phénolique) et l'huile tournesol témoins sous l'effet du temps de stockage.

D'après la figure 19 on remarque que tous les extraits lipidiques (2%,4%,6%) ainsi que l'extrait phénolique à 300 ppm ont montré une capacité antioxydant, car ils ont tous réduit les valeurs de l'indice peroxyde du mélange par rapport à l'huile de tournesol témoins. La différence entre les valeurs de l'IP de l'huile de tournesol témoins au début et à la fin de la période d'essais.

L'huile de tournesol témoin signale une augmentation nettement plus rapide de l'indice de peroxyde lors du stockage par rapport aux autres échantillons (Figure 19). En effet, l'huile de tournesol sans extrait (témoin) présente le plus haut indice de peroxyde parmi les autres huiles. En fait, son indice de peroxyde était de 0,3 Meq O<sub>2</sub>/kg pour le mélange lipidique et nul pour le mélange phénolique avant l'ajout des deux extraits et après quatre semaines de stockage, il atteint 7 MeqO<sub>2</sub>/kg. Une augmentation très accentuée de son indice de peroxyde initial Ça peut se traduire par la libération des hydro peroxydes qui sont les premiers produits d'oxydation. L'évolution de cet indice des huiles contenant des antioxydants suit un rythme relativement moins accentué que celle du témoin. Ceci démontre que l'enrichissement de l'huile végétale par les composés bioactifs tels que les polyphénols et le stérol semble améliorer la stabilité oxydative de l'huile de tournesol. Cette même explication a été avancée par d'autres études confirmant que les composés bioactifs de la spiruline augmentent la stabilité de l'huile d'olive (**Alavi et Golmakani, 2017**). De même, **Farvin et Jacobsen (2015)** ont évalué l'activité antioxydante des extraits d'algues *Fucus serratus* et *Polysiphonia fucoides* dans une émulsion

huile de poisson dans l'eau. Leurs résultats ont montré que l'indice peroxyde de l'émulsion contenant l'extrait éthanolique de *Polysiphonia fucoides* était inférieur à celui du témoin tout au long de la période de stockage.

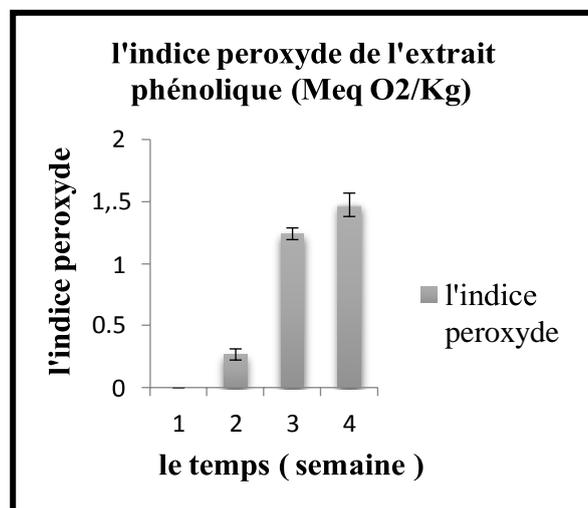
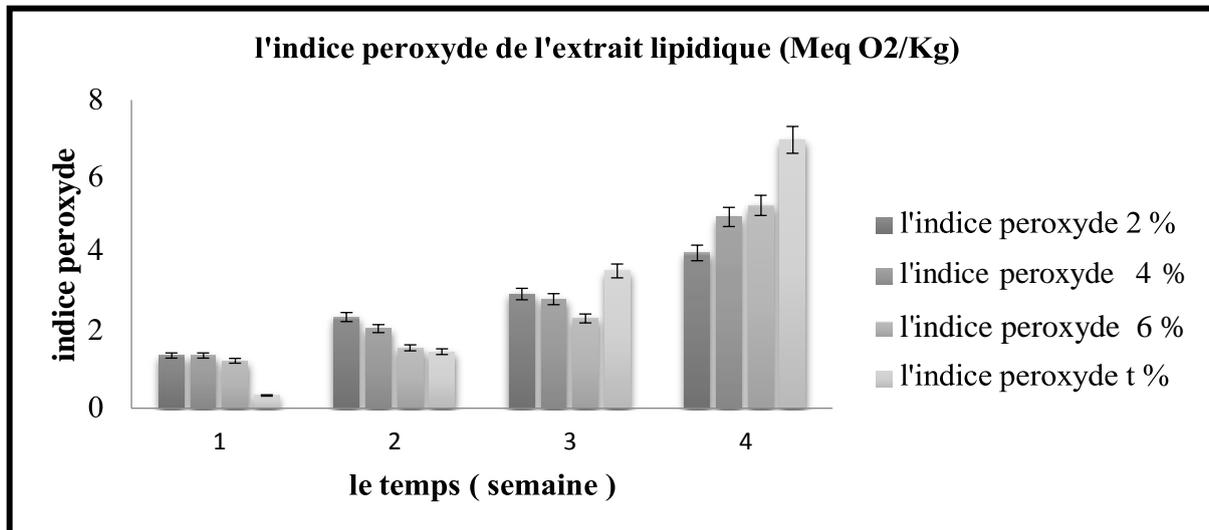


Figure 19 : Histogramme représentant l'indice de peroxyde des différents extraits.

### III.2. L'acidité :

L'acidité est un facteur qui renseigne sur l'altération de l'huile par hydrolyse (**Gharby et al.,2011**). En effet, dans les huiles végétales, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides 98-99% (**Lecerf, 2011**). L'hydrolyse de ces derniers libère des acides gras dont le dosage permet d'avoir une idée sur l'état d'avancement de la dégradation de l'huile (**Gharby et al., 2011**). En général les huiles raffinées renferment naturellement très peu d'acides gras libres. Qui se sont traduites par une légère variation de l'acidité pour tous les

échantillons. Après quatre semaines de stockage, l'acidité de l'huile tournesol témoin est passée de 0,07% à 0,11 %, pour l'huile de tournesol enrichie par l'extrait lipidique et phénolique, elle est passée 0,12 % à 0,08 %. La faible évolution de l'acidité au cours du stockage peut s'expliquer par l'hydrolyse des triglycérides qui n'est pas suffisante pour compenser, voire augmenter les fonctions acides gras libres bloquées par polymérisation ou volatilisées au cours de phase d'oxydation (Richardson *et al.*, 1985).

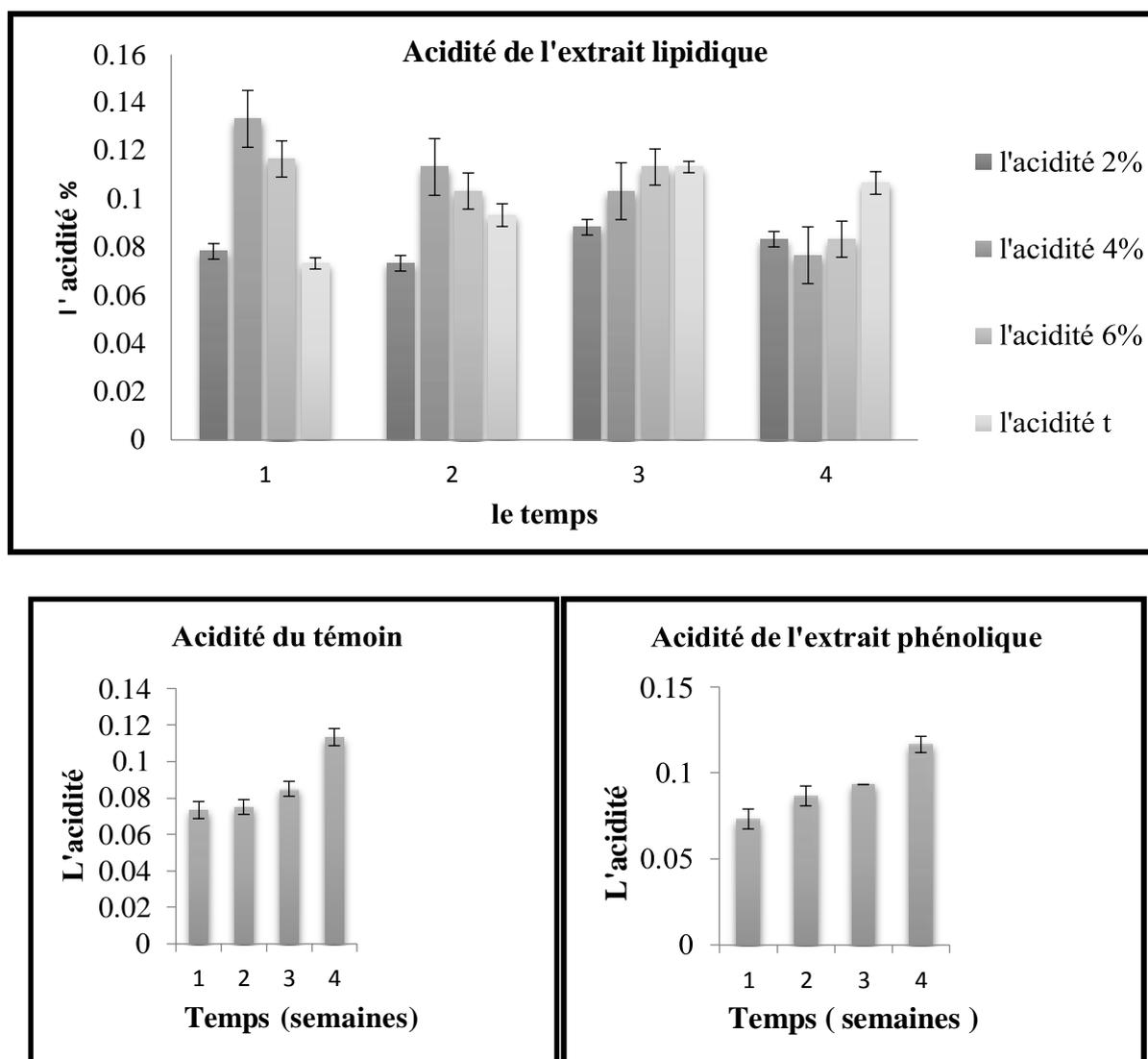


Figure 20 : Teneur en acidité pour les différents extraits

### III.3. Les chlorophylles :

Les pigments de chlorophylle sont responsables de la couleur verte de nombreuses plantes et algues. Toutefois, lorsqu'ils sont présents dans une matrice alimentaire, les pigments de chlorophylle peuvent agir comme des prooxydants (Mahoney *et al.*, 2018).

La figure 22 montre la quantité de pigments chlorophylliens présents dans les différents échantillons.

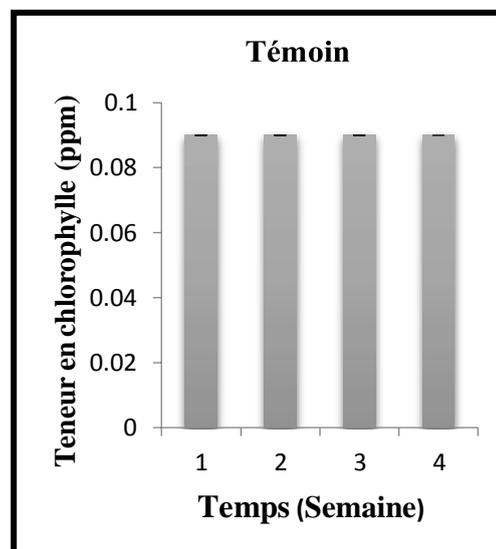
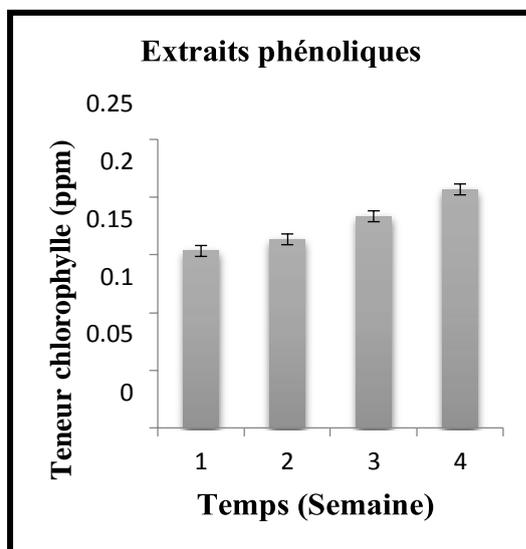
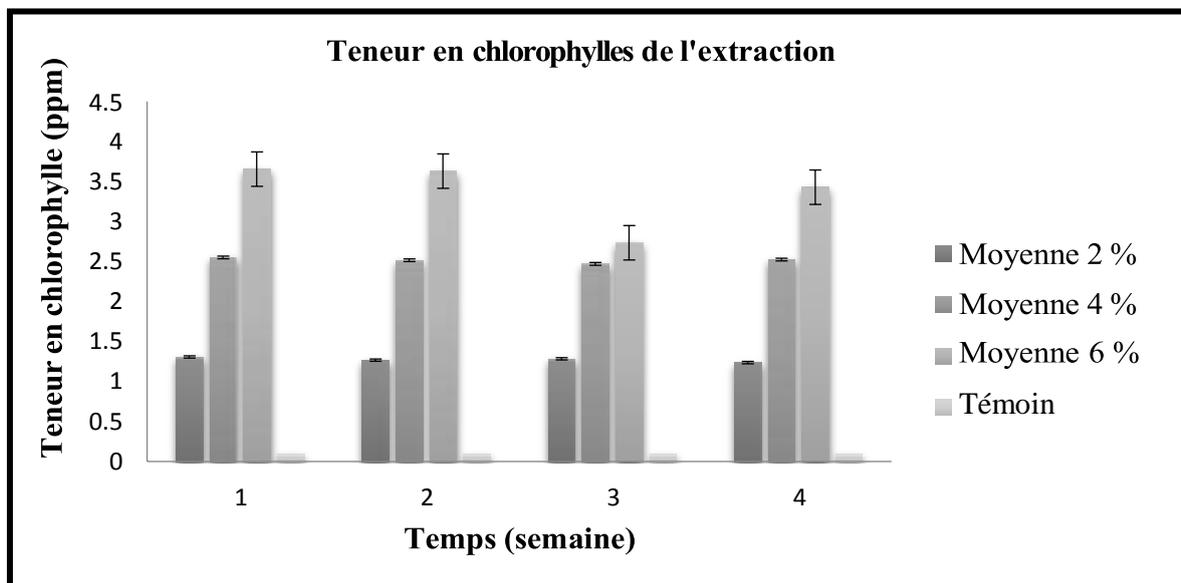


Figure 21 : variation des teneurs en chlorophylle pour les différents extraits.

Les résultats obtenus et illustrés sur la figure 22, montrent clairement la richesse des extraits en chlorophylles. De grandes différences entre l'huile de tournesol « témoins » et les différents échantillons sont observés, ici encore une proportionnalité directe entre la concentration de l'extrait et la teneur en chlorophylle des huiles est observée sachant que l'extrait lipidique à 6% détient la teneur la plus élevée (2,86 ppm).

### III.4 La couleur :

La couleur est un paramètre sensoriel qui dépend de la présence et de la quantité de pigments, tels que les chlorophylles, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les anthocyanines. Ce paramètre peut fortement influencer l'acceptation d'un produit par le consommateur. Dans ce contexte, la couleur des échantillons d'huile de tournesol enrichie a été déterminée et comparée à celle de l'huile de tournesol non enrichie. La figure 19 représente la variation de la couleur des échantillons d'huiles (tournesol + extraits lipidique), (tournesol+ extrait phénolique) et l'huile tournesol témoins sous l'effet du temps de stockage.

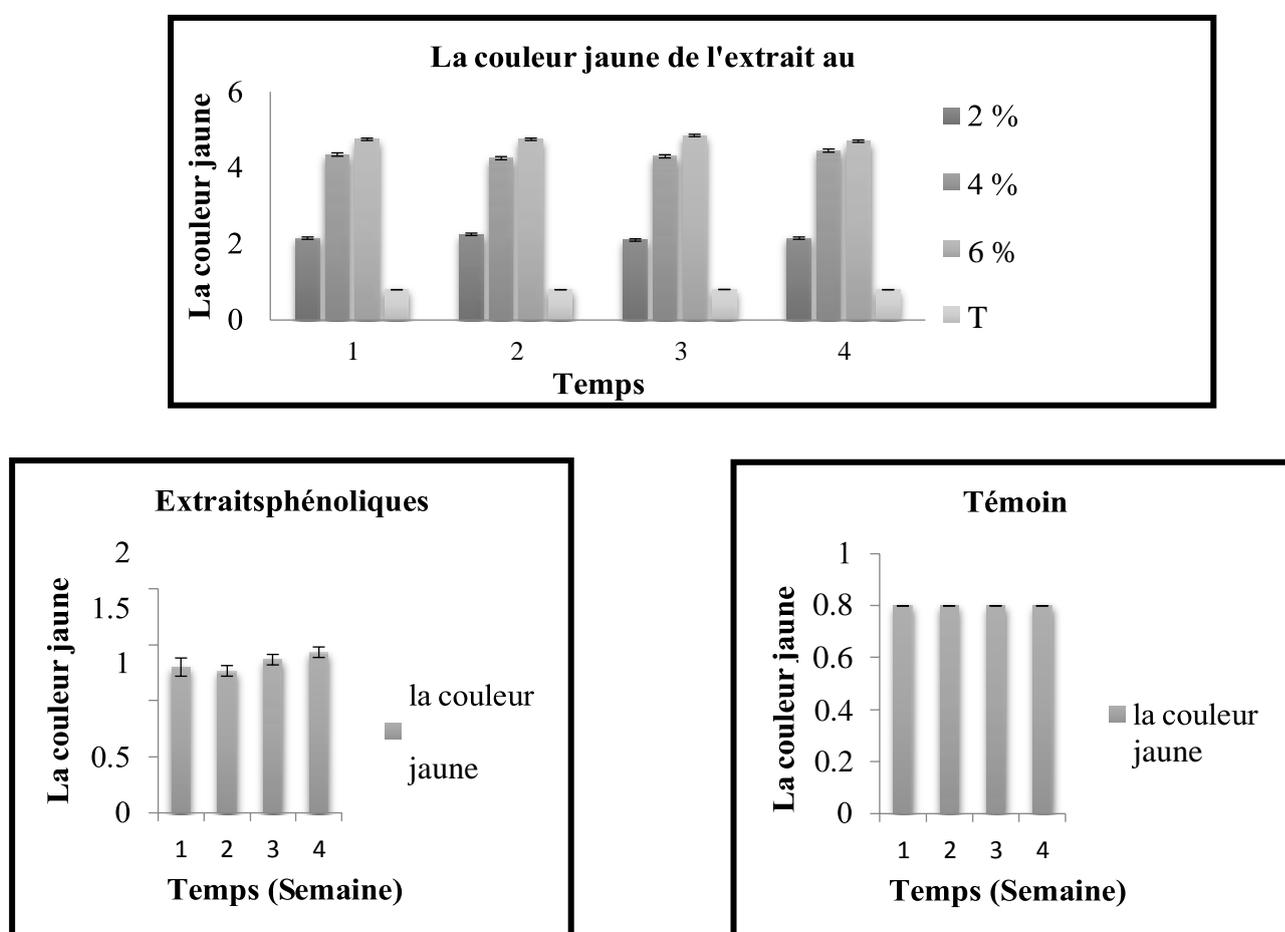


Figure 22: variation de la couleur des différents extraits

### III.5 La stabilité oxydative initié par le test Rancimat :

Les résultats sont présentés sous forme de graphes . La Figure 23 représente le temps d'induction en fonction de la conductivité des différents extraits analysés (Extrait lipidique, Extrait phénolique, L'huile de tournesol « Fleurial »).

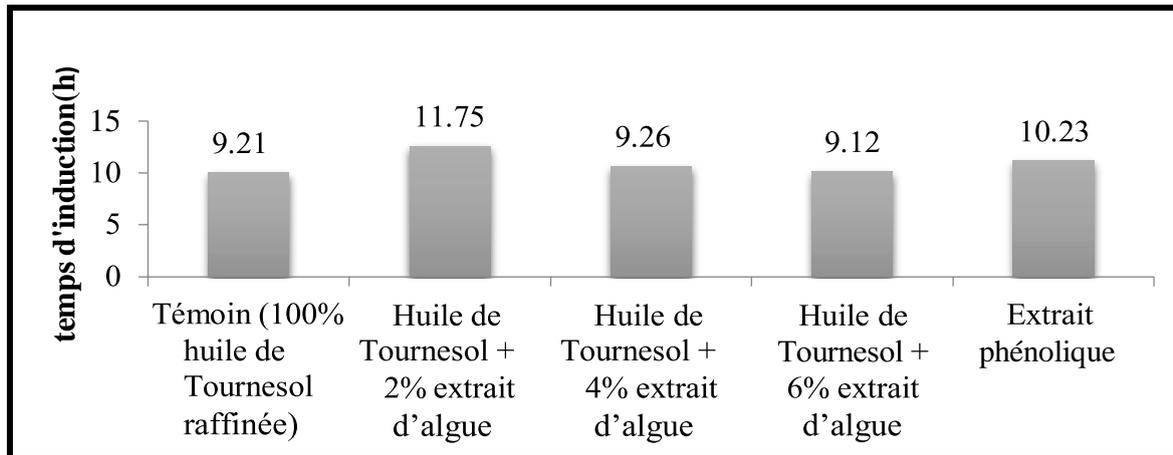


Figure 23 : Temps d'induction exprimés en (h) des échantillons de l'huile.

Bien qu'il n'y ait pas de différences significatives entre les résultats obtenus pour l'extrait lipidique à 2% et l'extrait phénolique dont les deux ont présenté une meilleure résistance par rapport à l'huile de tournesol « témoin ». Ces résultats de la résistance à l'oxydation, et la peroxydation des lipides forcée nous renseignent sur l'efficacité de l'extrait lipidique à 2% et l'extrait phénolique à 300 ppm. Ces valeurs peuvent être expliquées par l'effet antioxydant des composés phénoliques présents dans les algues brunes et d'autres composants qui sont présents dans l'extrait lipidique tels que les acides gras en particulier l'acide palmitique qui présente une teneur élevée (22,17738%). Une étude précédente a montré que l'acide palmitique augmente la stabilité des huiles fixes contre la peroxydation, et contribue à la production de divers types de margarines lorsqu'il est mélangé à l'huile dans une proportion de 15-25% (Saastamoinen et al., 1989).

### IV. Profile en Acide gras :

Le tableau ci-dessous nous indique les différentes compositions en acides gras de l'extrait au Soxhlet de l'algue brune, huile de tournesol « Fleurial » ainsi que du mélange (huile de

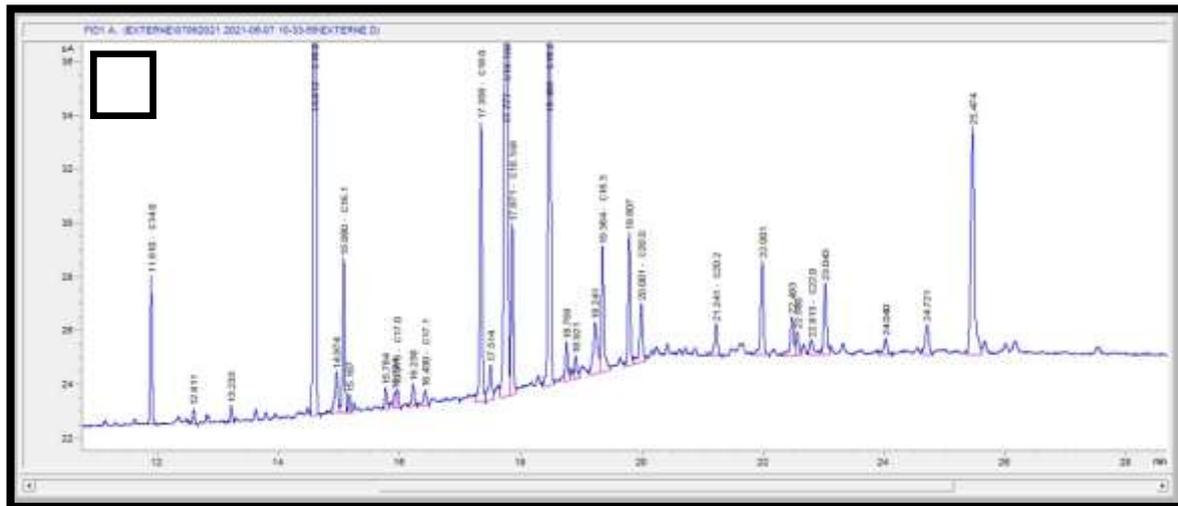
tournesol+extrait d'algue).

**Tableau II :** Tableau du profils en acides gras du mélange.

<b>Acide gras</b>	<b>Nom</b>	<b>Type</b>
<b>C14.0</b>	myristique	AGS
<b>C16.0</b>	palmitique	AGS
<b>C16.1</b>	palmitoléique	AGMI
<b>C17.0</b>	heptadécanoïque	AGMI
<b>C17.1</b>	heptadécénoïque	AGMI
<b>C18.0</b>	stéarique	AGS
<b>C18.1n9</b>	oléique	AGMI
<b>C18.1n9</b>	oléique	AGMI
<b>C18.2</b>	linoléique	AGPI
<b>C18.3</b>	linoléinique	AGPI
<b>C20.0</b>	arachidique	AGS
<b>C20.1</b>	eicosénoïque	AGMI
<b>C20.2</b>	eicosadiénoïque	AGPI
<b>C22.0</b>	béhénique	AGS
<b>C24.0</b>	lignocérique	AGS
<b>Acides gras non identifié</b>	/	/

AGC : Acides gras saturés /AGMI : Acides gras moninsaturés /AGPI : Acide gras polyinsaturés respectivement.

La figure 25 présente les différents chromatogrammes des échantillons analysés (Extrait d'algue, Huile de tournesol et le mélange « extrait d'algue +huile de tournesol).



**Figure 25.** Chromatogramme du mélange « Extrait d'algue + Huile de tournesol»

La composition en acides gras des organismes marins et terrestres diffère significativement, les premiers étant plus riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne. Ainsi, en raison de leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé, les organismes marins, en particulier les Algues, peuvent représenter une source intéressante d'acides gras alimentaires (Colombo *et al.*, 2006 ; Kumari *et al.*, 2010).

Le profil en acides gras de l'extrait d'algue a montré la présence d'acides gras avec des chaînes aliphatiques allant de 14 à 24 atomes de carbones, avec un totale de concentration en acides gras de 79,278% (tableau II).

Quinze acides gras sont identifiés (tableau II) et classés dans trois groupes différents ,Acides gras saturés (AGS),Acides gras monoinsaturés (AGMI),Acides gras polyinsaturés (AGPI).

Les AGS correspondaient à (28,0086% ) de la teneur en acides gras totaux de l'extrait d'algue (79,278%), parmi ceux –ci l'AGS le plus abondant est l'acide palmitique (16 :0) avec un pourcentage de (22,17738%), Il s'agit d'une caractéristique distinctive car l'acide palmitique

(C16:0) est l'acide gras saturé primaire dans plusieurs algues marines (**Bemelmans et al., 2002; Denis et al., 2010; El-Shoubaky et al., 2008; Khotimchenko, 1991; Matanjun et al., 2009**) . suivi de l'acide stéarique (3,0389%), Acide myristique (1,5465%), Acide arachidique (1,03261), le reste des AGS (Acide lignocérique et Acide margarique) se trouve à l'état de trace inférieur à 1%. Les AGMI représentent 34,47737% de la teneur en AG totaux de l'extrait de *Padina pavonica*. L'AGMI le plus abondant est l'acide oléique (18 :1n9, 33,14731%). Comme indiqué précédemment, cet acide est l'un des principaux AGMI chez les espèces d'algues brunes (**Khotimchenko et al., 2002 ; Li et al, 2002 ; Dawczynski et al., 2007 ; Silva et al.,2013**). Suivi de l'acide palmitoléique (16:1, 0,99077 %) et de l'acide heptadécénoïque (17 :1, 0 123929%). Les AG polyinsaturés (AGPI) correspondaient à 12,457 % de taux des AG totaux. Le principal AGPI trouvé dans l'extrait d'algue est l'acide linoléique (18:2 n- 6, 11 ,52031%) suivi de l'acide alpha- linoléique (18:3, 1,01750%), L'acide eicosadiénoïque se trouve à l'état de trace inférieur à 1%.

L'acide palmitique et l'acide oléique forment la majeure partie de la teneur totale en acides gras de l'extrait de *Padina pavonica* dans cette étude, les résultats présentés ici sont en accord avec une étude précédente dans lesquelles l'acide palmitique et l'acide oléique sont dominat (**Kamenarska et al., 2002**).

Les acides gras insaturés sont présents en plus grande abondance par rapport au pourcentage d'acides gras saturés ce qui a été déjà prouvée dans une autre étude, de nombreuses algues brunes sont décrites comme contenant plus d'acides gras insaturés que d'acides gras saturés, en particulier les AGPI C18 et C20 (**Kumari et al., 2010 ; 2011 ; Pereira et al., 2012**).

La composition en acides gras est la plus importante caractéristique des huiles végétales en ce qui concerne leur valeur nutritionnelle, ainsi que leur stabilité à l'oxydation. L'échantillon d'huile de tournesol étudié est du type linoléique. Dans ce type, l'acide linoléique domine l'acide gras oléique. Du point de vue nutritionnel l'huile choisie est un échantillon approprié pour l'enrichissement car l'acide linoléique fait partie des acides gras essentiels qui sont indispensables à l'organisme humain.

Le profil en acides gras de l'huiles de tournesol « Fleurial », exprimée en acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI), est résumée dans le tableau (II)

D'après les résultats nous avons constatés que l'AGS le plus abondant est l'acide palmitique (C16.0, 5,91929%) suivi par l'acide stéarique (C18.0, 3,64649%), le reste d'AGS se trouve à l'état de trace inférieure à 1%. L'AGMI le plus abondant est l'acide oléique (18.1n9, 25,09447 %). Le principal AGPI de l'huile de tournesol est l'acide linoléique avec une teneur élevée (18.2, 59,20461%). **Orsavova et al. (2015)**. Ont étudié la composition en acides gras de l'huile de tournesol et ont déterminé 62,2% d'acide linoléique, 28,0% d'acide oléique, 6,2% d'acide palmitique et 2,8% d'acide stéarique. Les acides margarique, palmitoléique et eicosanoïque ont également été détectés. La composition de leur huile est similaire avec la composition de l'huile analysée dans ce travail, avec une légère différence au niveau de la teneur. Il peut être affirmé que les mêmes acides sont dominants dans les différentes huiles de tournesol

L'ajout de l'extrait d'algue brune dans l'huile de tournesol « Fleurial » conduit à une augmentation significative de la teneur en acide linoléique, acide oléique et l'acide palmitique. La teneur en acide oléique dans l'huile enrichie en extrait d'algue n'est pas significativement inférieure à celle de l'huile de tournesol pure. Et malgré cela la stabilité oxydative de l'huile enrichie est meilleure et cela est sûrement dû à la richesse de l'extrait d'algues en polyphénols

# *Conclusion*

**Conclusion :**

Le présent travail met en évidence le potentiel indéniable des algues marines comme alternative aux additifs alimentaires classiques, avec l'incorporation et/ou l'enrichissement d'aliments par des extraits algaux. Leur composition, lorsqu'elles sont traitées dans des conditions favorables, peut être riche en plusieurs fractions d'intérêt, à savoir en acides gras essentiels et en polyphénols, ainsi qu'en différents composants comme des stérols des lécitines et des polysaccharides sulfatés connu pour leurs activités biologiques.

Ce travail a porté sur la caractérisation d'un extrait d'algue brune pour l'enrichissement d'une huile de table afin d'améliorer sa qualité nutritionnelle en acides gras insaturés d'une part, et d'autre part améliorer sa stabilité oxydative grâce à sa forte teneur en composé phénolique.

Des extractions par macération de la fraction phénolique en utilisant de l'éthanol aqueux à 75%. Et au soxhlet de la fraction lipidique en utilisant (Chloroforme /Méthanol : V/V) ont été effectués. Nous avons incorporé ses extraits dans l'huile de tournesol « Fleurial ».en utilisant trois concentrations (2%,4% et 6%) pour le mélange (extrait au soxhlet + huile de tournesol) et une concentration de 300 ppm pour l'extrait phénolique.

Cette évaluation est précédée par une analyses des différent extraits (Dosage des polyphénols, phlorotannins, test de l'activité antioxydante( DPPH) . puis les caractéristiques physico-chimiques du mélange ont été effectués (Huile/Extrait) (Acidité libre, Indice de peroxyde, Rancimat et le dosage des teneurs en chlorophylle et en coulure) ainsi la composition en acides gras de l'extrait d'algue brune.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait phénolique s'est avéré être meilleur que celle de l'extrait au soxhlet avec 84,793 mg EAG/kg. De même pour L'évaluation de l'activité antioxydante où l'extrait phénolique a exhibé la meilleur activité de piégeage du radical DPPH avec un IC<sub>50</sub> de 24,8442mg/ml contre 295,335 mg/ml pour l'extrait lipidique.

En outre, les résultats de l'analyse physico-chimique et l'indice de peroxyde et le Rancima et révèlent que l'huile enrichie avec les extraits lipidiques et phénoliques présente une meilleure résistance à l'oxydation par rapport à l'huile témoin qui s'oxyde rapidement.

De plus l'incorporation de l'extrait d'algue dans l'huile de tournesol « Fleurial » a montré un profil en acides gras riche en acides gras polyinsaturés y compris les acides gras essentiels

acide linoléique (LIN ; 18:2 n -6) et alfa- linoléique (ALA ; 18:3) qui sont. Ces deux acides gras sont les représentants des oméga-6 (LA) et oméga-3 (ALA)

Ces résultats permettent de conclure que l'incorporation des deux extraits d'algue brune dans l'huile de tournesol a relativement aidé à améliorer la qualité nutritionnelle de ce dernier en termes d'acide gras polyinsaturés. De plus, l'huile enrichie présente une meilleure stabilité oxydative plus que l'huile témoin. De plus l'extrait phénolique montre une excellente activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH°. Par conséquent, cette huile enrichie peut constituer un potentiel aliment fonctionnel de par sa composition riche et par sa stabilité oxydative.

En perspective, il serait très intéressant d'analyser et de caractériser les autres composants lipidiques de cette algue notamment les phytostérols et les lectines afin de mieux exploiter comme complément alimentaire.

*Références*  
*Bibliographique*

## Références bibliographique

### A

- ✚ **Antia G. Pereira, Paz Otero, Javier Echave, Anxo Carreira-Casais, Franklin Chamorro, Nicolas Collazo, Amira Jaboui, Catarina Lourenço-Lopes, Jesus Simal-Gandara, Miguel A. Prieto** . Xanthophylls from the Sea: Algae as Source of Bioactive Carotenoids :*Marine Drugs*.2021; 19(4): 188.
- ✚ **Alicia Ayerdi Gotor and Larbi Rhazi** .Effects of refining process on sunflower oil minor components: a review : OCL 2016, 23(2) D207
- ✚ **Alavi, N., & Golmakani, M.-T. (2017a)**. Antioxidant properties of whole-cell *Spirulina* (*Arthrospira 406 platensis*) powder expressed in olive oil under accelerated storage conditions. *Journal of Applied 407 Phycology*, 29(6), 2971-2978
- ✚ **Arimboor, R. et Arumughan, C. (2011)**. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) proanthocyanidins inhibit in vitro enzymatic hydrolysis of protein. *J. Food Sci.* 76(6):130-7.
- ✚ **Andia Andréa Almeida da Silva, Tania Maria Sarmento da Silva, Celso Amorim Camara, Neide Queiroz, Marciane Magnani, Jailson Santos de Novais, Luiz Edmundo Bastos Soledade, Edeltrudes de Oliveira Lima Antonia Lucia de Souza et Antonio Gouveia de Souza** . Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil *Food Chemistry* **141(2013)**, Pages 3552-3558.

### B

- ✚ **Bakkalbaşı, E., 2018**. Oxidative stability of enriched walnut oil with phenolic extracts from walnut press-cake under accelerated oxidation conditions and the effect of ultrasound treatment. *J. Food Meas. Charact.* 13, 43–50.
- ✚ **BOETTCHER, A. A., and TARGETT, N. M.** 1993. Role of polyphenolic molecular size in reduction of assimilation efficiency in *Xiphister mucosus*. *Ecology* 74:891-903
- ✚ **Baldauf SL (2003)** : The deep roots of eukaryotes. *Science* 5626:1703–1706.
- ✚ **Boulom, S.; Robertson, J.; Hamid, N.; Ma, Q.; Lu, J.** Seasonal changes in lipid, fatty acid,  $\alpha$ -tocopherol and phytosterol contents of seaweed, *Undaria pinnatifida*, in the Marlborough Sounds, New Zealand. *Food Chem.* **2014**, 161, 261–269.
- ✚ **Berset C.** Pigments phenoliques : structu-res, stabilite, march e des colorants naturels et effets sur la sante. In: P. Sarni Manchado, V. Cheynier (coord.), Les polyphenols en agroalimentaire. Paris : Lavoisier, 2006.
- ✚ **Bemelmans, W.J.E., Broer, J., Feskens, E.J.M., Smit, A.J., Muskiet, F. A.J., Lefrandt, J.D., Bom, V.J.J., May, J.F., Meyboom-de Jong, B., 2002.** Effect of

increased intake of  $\alpha$ -linolenic acid and group nutritional education on cardiovascular risk factors: the Mediterranean  $\alpha$ -linolenic enriched Groningen dietary intervention (margarin) study. *Am. J. Clin. Nutr.* 75, 221—227

## C

- ✚ **Cuvelier ME, Maillard MN.** Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *OCL* 2012 ; 19(2) : 125-132
- ✚ **Cuvelier ME, Latino-Martel P.** Additifs antioxygènes. In : B de Reynal (coord.), *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries alimentaires*, 4e édition. Paris : Lavoisier, 2009 : 183-214.
- ✚ **Cossut J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S., Humbert S., Roelstraete L., Vanuxeem M. et Vidal D.** 2002. *Les Corps Gras : Entre Tradition et Modernité (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires)*. P18.
- ✚ **Cabioch J., Floc'h J-Y., Le Toquillon A., Boudouresque C-F., Meinesz A. & Verlaque M.**, 1992. *Guide des algues des mers d'Europe. Manche/Atlantique et Méditerranée*. Ed. Delachaux et Niestlé, 234 p. ISBN. 2-603-00848-X.
- ✚ **Cox, S., Hamilton Turley, G., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N., Jaiswal, A.K.**, 2014. Antioxidant potential and antimicrobial efficacy of seaweed (*Himantalia elongata*) extract in model food systems. *J. Appl. Phycol.* 26, 1823–1831. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0215-0>
- ✚ **Congo, M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou
- ✚ **Bu Chougui, N., Djerroud, N., Naraoui, F., Hadjal, S., Aliane, K., Zeroual, B., Larbat, R.**, 2015. Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food chemistry* 173, 382-390p. *rkina Faso*. p. 42.
- ✚ **Chattip Prommuak , Prasert Pavasant<sup>1</sup> , Armando T. Quitain, Motonobu Goto<sup>3</sup> , and Artiwan Shotipruk.** *Microalgal Lipid Extraction and Evaluation of Single-Step Biodiesel Production Emerging Technology for Green Engineering*, in Bangkok, Thailand, 26-27 January 2012.
- ✚ **Colombo ML, Risé P, Giavarini F, de Angelis L, Galli C, Bolis CL** 2006. Marine macroalgae as source of polyunsaturated fatty acids. *Plant Foods Hum Nutr* 61: 67-72.

## D

- ✚ Denis, C., Moranc, ais, M., Li, M., Deniaud, E., Gaudin, P., WielgoszCollin, G., Barnathan, G., Jaouen, P., Fleurence, J., 2010. Study of the chemical composition of edible red macroalgae Grateloupia turuturu from Brittany (France). *Food Chem.* 119, 913—917.
- ✚ Dawczynski C, Schubert R, Jahreis G (2007) Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem* 103:891–899

## E

- ✚ El Hattab, N.; Daghbouche, Y.; El Hattab, M.; Piovetti, L.; Garrigues, S.; De la Guardia, M. FTIR-determination of sterols from the red alga *Asparagopsis armata*: Comparative studies with HPLC. *Talanta* **2006**, 68, 1230–1235.
- ✚ El-Shoubaky, G.A., Moustafa, A.M.Y., Salem, E.A.E., 2008. Comparative phytochemical investigation of beneficial essential fatty acids on a variety of marine seaweeds algae. *Res. J. Phytochem.* 2, 18—26.

## G

- ✚ Grompone M.A. (2005): Sunflower oil. In: Shahidi F. (ed.):Bailey’s Industrial Oil and Fat Products, Edible Oil and Fat Products: Edible Oils. 6th Ed. Vol. 2. John Wiley Sons,Inc., New York: 655–730.
- ✚ Grattan, B. J. (2013). *Plant sterols as anticancer nutrients: · Evidence for their role in breast cancer. Nutrients*, 5, 359–387.
- ✚ Gharby S., Harhar H., Kartah B., El Monfalouti H., Haddad H., Charrouf Z. *Les Technologies des Laboratoires* 22(2011) 13-23

## H

- ✚ Hladkov I., Merkl R., Šmidrkal J., Kyselka J. and Filip V. Antioxidant effect of mono and dihydroxy phenols in sunflower oil with different levels of naturally present tocopherols. In: *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2013, 115, pp. 747 – 755.

## I

- ✚ **I. Ismail Awatif and M. Arafat Shaker.** Quality Characteristics of High-Oleic Sunflower Oil Extracted from Some Hybrids Cultivated under Egyptian Conditions, *HELIA* 2014; 37(60): 113–126

## J

- ✚ **J. J. Baudet, C. Ledermann, D.Rivaud, Matté Is, L. Lot, F. Kay, P. Montigny.** Des grains aux huiles et protéines végétales, Filière française des huiles et protéines végétales, PROLEA, Paris.2012.

## K

- ✚ **KHOTIMCHENKO, S. V., KULIKOVA, I. V.,** 1999. Lipids of two species of brown algae of the genus *Laminaria*. *Chem. Nat. Compd.* 35 : 17-20.
- ✚ **Karleskind A.** 1992. Raffinage des Corps Gras. In « Manuel des Corps Gras ».P 1155.
- ✚ **Kandasamy K., Moodley K.J., Bux F.,** 2014. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel.* 116.103-108
- ✚ **Kamal-Eldin A. (2006):** Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108: 1051–1061.
- ✚ **Koşar, M., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R.,** 2005. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chem.* 91, 525–533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.029>
- ✚ **Knežević, S.V., Blažković, B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kőszeg, T & Petrik, J. (2011).**Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules*, 16(2), 14454-1470.
- ✚ **kumari P, Kumar M, Gupta V, Reddy CRK, Jha B** 2010. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chem* 120: 749-757.
- ✚ **Z. Kamenarskaa, M. J. Gasicb, M. Zlatovicb, A. Rasovicd, D. Sladicb, Z. Kljajicd, K. Stefanova, K. Seizovaa, H. Najdenskic, A. Kujungievc, I. Tsvetkovac and S. Popov .** Chemical Composition of the Brown Alga *Padina*

pavonia (L.) Gaill. from the Adriatic Sea. *Botanica Marina* Vol. 45, 2002, pp. 339–345

## L

- ✚ **Lopes, G., C. Sousa, J. Bernardo, P.B. Andrade, P. Valentão, F. Ferreres and T. Moga.** 2011. Sterol profiles in 18 macroalgae of the Portuguese coast. *J. Phycol.* 47: 1210–1218.
- ✚ **Lentz, D. L., M. D. Pohl, J. L. Alvarado, S. Tarighat and R. Bye** (2008). "Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a pre-Columbian domesticate in Mexico". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (17): 6232-6237.
- ✚ **Lopes, G., Sousa, C., Silva, L.R., Pinto, E., Andrade, P.B., Bernardo, J., Moga, T., Valentão,P.,** 2012. Can phlorotannins purified extracts constitute a novel pharmacological alternative for microbial infections with associated inflammatory conditions? *PloS One* 7, e31145.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031145>
- ✚ **Lecerf, J.-M.** *Médecine des maladies Métaboliques* 3(2011) 257-262

## M

- ✚ **Masuma M. Hakim, Illa C. Patel.** *A review on phytoconstituents of marine brown algae. Future Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2020, Vol.6, No.1,.
- ✚ **Mendis, E., Kim, S.,** Present and Future Prospects of Seaweeds in Developing Functional Foods. , . *Advances in food and nutrition research* 2011, 64
- ✚ **McClintock JB, Baker BJ, Steinberg DK.** 2001. The chemical ecology of invertebrate meroplankton and holoplankton. In: McClintock JB, Baker BJ, editors. *Marine chemical ecology.* Boca Raton (FL): CRC Press. p. 195–226.
- ✚ **Maataoui, B. S., Hmyene, A., & Hilali, S.** (2006). Activites antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie [*Opuntia ficus indica*]. *Lebanese science journal*, 7(1), 3–8
- ✚ **Markus, W. L. and Peter, A. B.** (1986). Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12–57) and the rancimat method. 63(6): 792–795.
- ✚ **Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz-Méndez, M., & Dobarganes, M.** (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas y Aceites*, 60(2), 155-160. [http:// dx.doi.org/10.3989/gya.096908](http://dx.doi.org/10.3989/gya.096908).
- ✚ **Mekinić, I. G.; Skroza, D.; Šimat, V.; Hamed, I.; Čagalj, M.; Perković, Z. P.** Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification. *Biomol.* 2019, 9, 244, doi: 10.3390/biom9060244

- ✚ **Mahmoudi, S ., Khali ,M ., Mahmoudi, N .** étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut ( *Cynara Scolymus L .* ) . Revue (Nature et Technologie ) B-science Agronomique et Biologique ,2013 , vol.9, pp. 35-40
- ✚ **Mehdi Tabarsa, Masoud Rezaei, Zohreh Ramezanpour , J. Robert Waaland and Reza Rabiei .** FATTY ACIDS, AMINO ACIDS, MINERAL CONTENTS, AND PROXIMATE COMPOSITION OF SOME BROWN SEAWEEDS J. Phycol. 48, 285–292 (2012).
- ✚ **Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.M., Muhammad, K.,** 2009. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Euclima cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. J. Appl. Phycol. 21, 75—80

## N

- ✚ **Naja. K., Mawlawi, H., Chbani. A., (2012).** Antioxidant and Antifungal activities of *Padina Pavonica* and *Sargassum Vulgare* from the Lebanese Mediterranean Coast. *Advances in Environmental Biology*, 6(1): 42-48. ISSN 1995-0756. s par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel.

## O

- ✚ **Orsavova, J. ; Misurcova, L. ; Ambrozova, J. V. ; Vicha, R. ; Mlcek, J., 2015.** Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *Int. J. Mol. Sci.*, 16 (6): 12871-12890

## P

- ✚ **Pomin VH, Mourão PA.** 2008. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans. *Glycobiology* 18: 1016-1027.
- ✚ **Pagarete, AS Ramos, P Puntervoll, MJ Allen, V Verdelho.** Antiviral Potential of Algal Metabolites—A Comprehensive Review. *Mar. Drugs* (2021), 19 (2) , 94
- ✚ **Parekh, J & Chanda, S. (2007).** In vitro antimicrobial activity of *Trapanatans* Linn. Fruit rind extracted in different solvents. *African Journal of Biotechnology*, 6(6), 766-770.

- ✚ **Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*,(4), 1– 8.

## R

- ✚ **RAGAN, M. A., and GLOMBITZA, K. W.** 1986. Phlorotannins, brown algal polyphenolics, pp. 129-241, in F. E. Round and D. J. Chapman (eds.). *Progress in Phycological Research*, Volume 4. Biopress, Bristol, England.
- ✚ **Rebeca André, Rita Pacheco, Mafalda Bourbon and Maria Luísa Serralheiro .** Brown Algae Potential as a Functional Food against Hypercholesterolemia: a review *Foods* 2021, 10, 234
- ✚ **Roche J. 2005.** Composition De La Graine De Tournesol (*Helianthus annuus L.*) Sous L'effet Conjugué Des Contraintes Agri-Environnementales Et Des Potentiels Variétaux. Thèse de Doctorat Spécialité Science des Agro ressources. Université de Toulouse. P16.
- ✚ **Rania I.M. Almoselhy.** Comparative Study of Vegetable Oils Oxidative Stability using DSC and Rancimat Methods Egypt. *J. Chem.* (2021) Vol. 64, No. 1. pp. 299 – 312
- ✚ **Rahmani M, Saad L. 1989.** Photo–oxidation of olive oil: influence of chemical
- ✚ **Richardson T. & Finley J. W. Wesport,** Connecticut: AVI Publishing Company, INC (1985) – 205-217.

## S

- ✚ **SCHMIDT Š., POKORNÝ J.,** (2006): Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids. In: *Czech Journal of Food Sciences* , 23, pp. 93 – 102.
- ✚ **Silberfeld T, Leigh JW, Verbruggen H, Cruaud C, Reviere B, Rousseau F.** A multi-locus time calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyta): Investigating the nature of the evolutionary nature of the : brown algal crown radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 2010;56:659–674.
- ✚ **Szydłowska-Czerniak, A., Rabiej, D., Kyselka, J., Dragoun, M., & Filip, V.** (2018). Antioxidative effect of phenolic acids octyl esters on rapeseed oil stability. *Lwt*, 96(April), 193–198.
- ✚ **Saidani, Karima. (2010).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre algues marines: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* de la cote de Béjaia. These de Magister en Microbiologie Appliquée. Université de Bejaia, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, 38-43p.

- ✚ **Suleria ,H,A ,R Osborne,S., Gobe ,G.** Marine-based nutraceuticals : An innovative trend in the food and supplement industries .Mar.Drugs.2015;vol.13,P.6336-6351.
- ✚ **Singleton,V,L,ROSSI ,J,A** colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphotungstic acid reagents, American Journal of Enology an Viticulture.(1965):vol.16,p.144-158.
- ✚ **Stiger, V., Deslandes, E. and Payri, C. E.** (2004). Phenolic contents of two brown algae, *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia): Interspecific, ontogenic and spatio-temporal variations. *Botanica Marina*, 47, 402-409
- ✚ **Saastamoinen, M., Kumpulainen, J. and Nummela, S. 1989.** Genetic and environmental variation in oil content and fatty acid composition of oats. *Cereal Chem.* 66:1- 296-3N

## T

- ✚ **Tchiegang C., Kitikil A.,** 2004. Données ethno nutritionnelles et caractéristiques physicochimiques des légumes feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura* 22 (1), 11-18
- ✚ **Tierney, M, S., Smyth, T, J., Hayes, M., (2013). et al.** Influence of pressurized liquid extraction and solid-liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of Irish microalgae. *International journal of food science et technology.*; vol.48, n°4, p. 860-869.

## W

- ✚ **Wijesinghe WAJP et You-Jin J.** Biological activities and potential cosmeceutical applications of bioactive components from brown seaweeds : a review *Phytochem Rev* (2011) 10:431–443

## Y

- ✚ **Yong-Xin Li , Isuru Wijesekaraa, Yong Li , Se-Kwon Kima.** Phlorotannins as bioactive agents from brown algae : a review *Process Biochemistry* 46 (2011) 2219–2224

# *Annexes*

## Annexe 01 : Présentation du groupe Cevital

Cevital, est une société par action (SPA) dont les actionnaires principaux sont M. REBRAB et FILS, elle est l'un des fleurons de l'industrie agroalimentaire en Algérie qui est constituée de plusieurs unités de production équipées de la dernière technologie et poursuit son développement par divers projets en cours de réalisation. Elle a été créée en Mai 1998, Elle se situe dans le nouveau quai du port de BEJAIA.

Cevital agro-industrie dispose de plusieurs unités de production. Les différentes unités sont les suivantes : Deux raffineries de sucre ; une unité de sucre liquide ; une raffinerie d'huile ; une margarinerie ; une unité de conditionnement d'eau minérale ; une unité de fabrication et de conditionnement de boissons rafraîchissantes ; une conserverie.

1. Huiles Végétales Connues sous les appellations suivantes :

« **FLEURIAL** » est une huile 100% tournesol, sans cholestérol, riche en vitamine (A, D, E) et en acides gras essentiels.

« **ELIO** » est une huile 100% végétale, un mélange équilibré de tournesol, de palme et de soja, sans cholestérol, elle contient de la vitamine E et des acides gras essentiels

2. Sucre blanc et sucre liquide

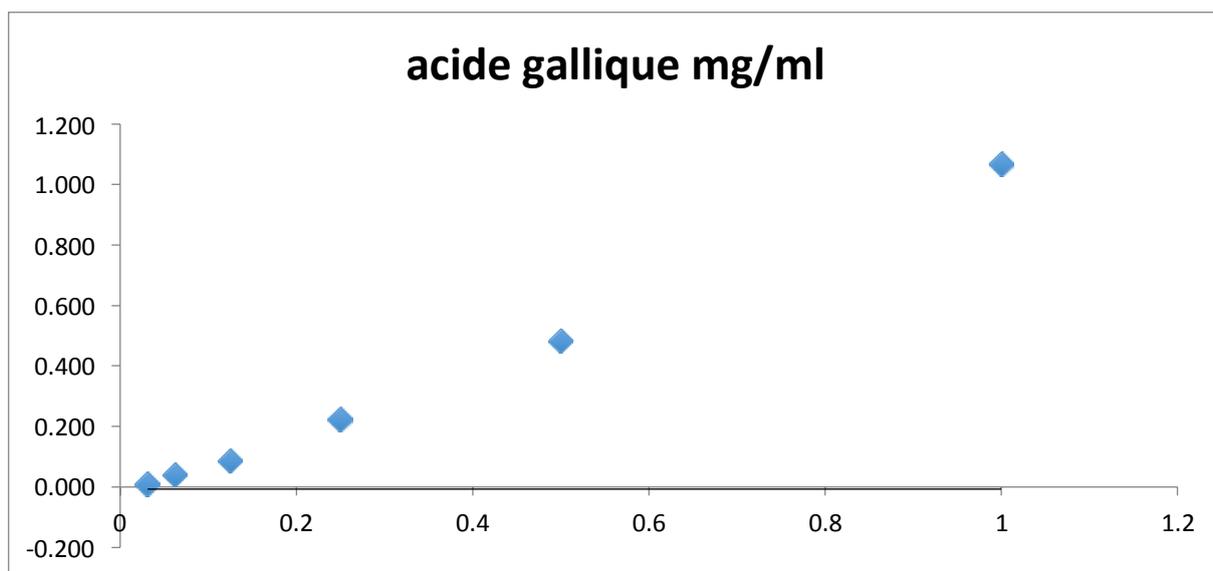
**Le Sucre blanc** ; il est produit à partir du raffinage du sucre roux de canne qui est riche en saccharose.

**Sucre liquide** ; CEVITAL produit du sucre liquide pour les besoins de l'industrie agroalimentaire et plus précisément pour les producteurs des boissons gazeuses

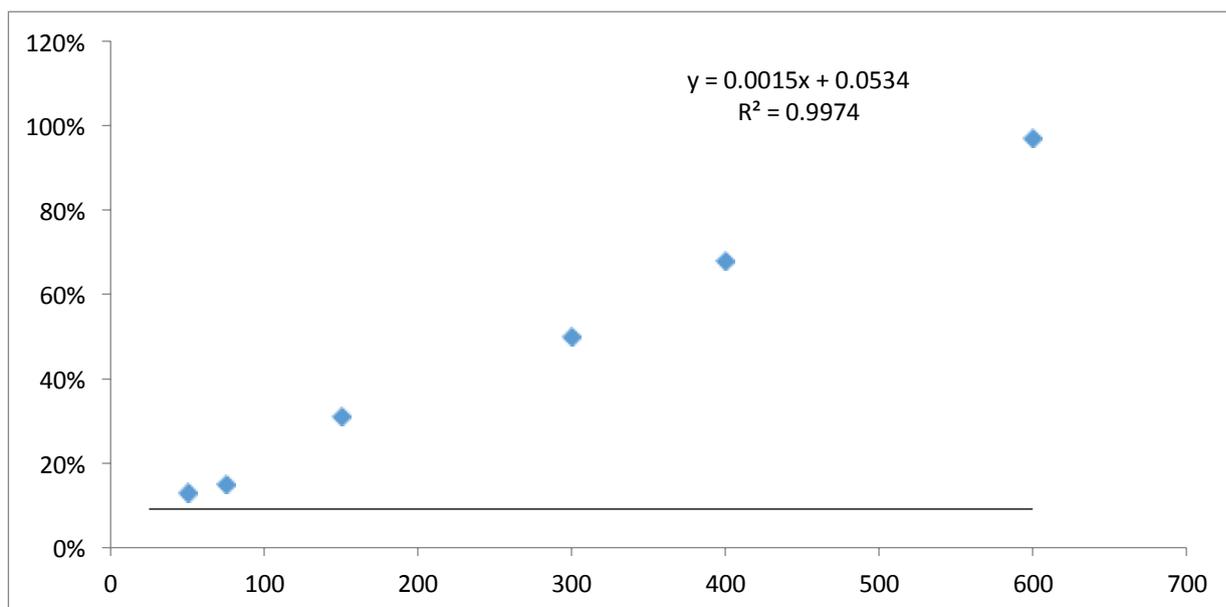
3. Margarinerie et graisses végétales :

« **FLEURIAL** » ; est une margarine sans cholestérol, 100% végétale un mélange de tournesol, de soja et de palme, riche en vitamines A, D et E elle répond aux exigences de l'équilibre nutritionnel du consommateur.

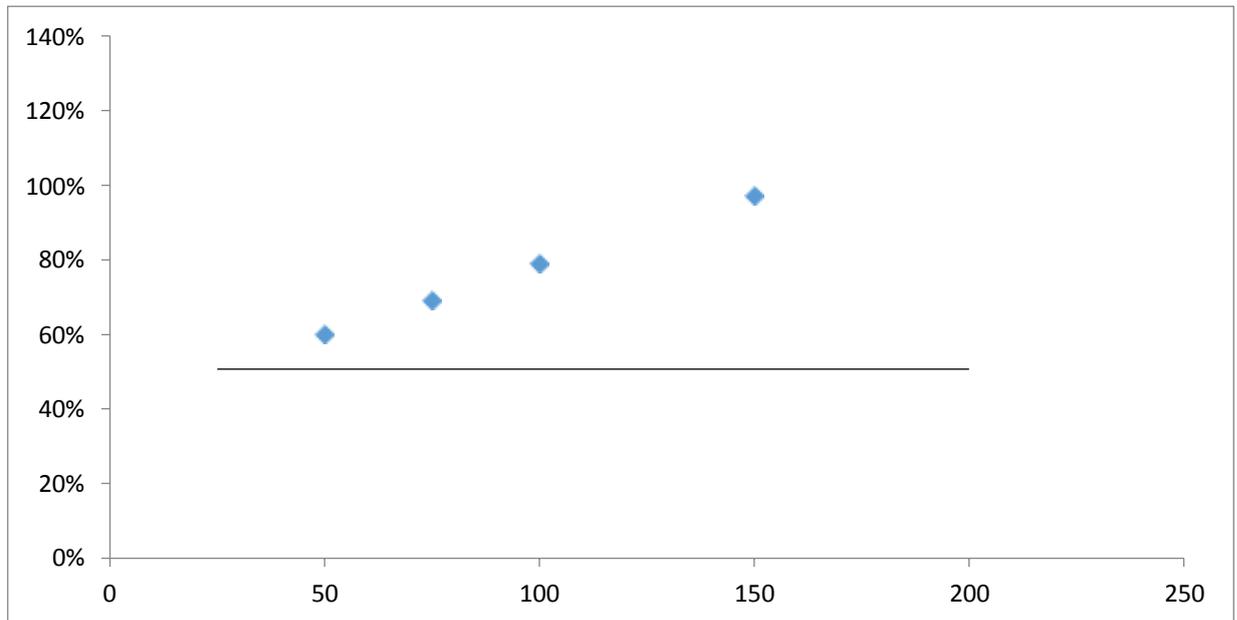
« **MATINA** » ; elle contient un mélange de beurre et de margarine riche en vitamines A D et E et cela grâce à un processus de fabrication ultra moderne. Sa composition fait d'elle une margarine idéale pour tartiner et préparer de pâtisseries et des viennoiseries.

**Annexe 02 : courbes d'étalonnage.**

Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.



Courbe d'étalonnage pour le dosage du DPPH de l'extrait au soxhlet.



Courbe d'étalonnage pour le dosage du DPPH de l'extrait phénolique.

### **Résumé :**

Cette étude visait à évaluer l'effet des extraits phénolique et lipidique d'une algue brune sur l'amélioration de la stabilité oxydative et l'enrichissement de l'huile de tournesol « Fleurial ». Les extraits ont été caractérisés en termes de teneur en polyphénols en phlorotannins et pour leur activité de piégeage du DPPH. L'extrait lipidique (à 2%, 4%, 6%) et l'extrait phénolique (à 300 ppm) sont additionnés à l'huile de tournesol. Un suivi sur 4 semaines est effectué par la mesure de l'indice peroxyde (IP), acidité, couleur, teneur en chlorophylle durant quatre semaines, ainsi que le test de rancimat. Le profil en acides gras de l'extrait, de l'huile témoin ainsi que du mélange est déterminé par CPG. La meilleure teneur en polyphénols ainsi que la meilleure activité antioxydante est enregistrée par l'extrait phénolique (IC<sub>50</sub> : 30,76 % µg/ml). L'ajout de l'extrait lipidique à 2% et phénolique à 300 ppm a permis une meilleure stabilité oxydative (IP=3 Meq O<sub>2</sub>/kg, IA=0,07%, temps d'induction =11,57Heures) ; (IP=1,21Meq O<sub>2</sub>/kg, IA=0,11, temps d'induction = 10,15 Heures) respectivement par rapport au témoin. Le profil en acide gras de mélange (huile de tournesol + extrait d'algue) montre une composition riche en acides gras polyinsaturés : l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique. Ces résultats montrent que l'extrait d'algue brune améliore efficacement la stabilité oxydative de l'huile de tournesol. Et l'enrichit en acides gras polyinsaturés.

**Mot clés :** Algues brunes, extraction par macération, extraction au Soxhlet, activité antioxydante, stabilité oxydative, acides gras polyinsaturés.

### **Abstract :**

This study aimed to evaluate the effect of phenolic and lipidic extract of a brown algae on the improvement of oxidative stability and enrichment of sunflower oil "Fleurial". The extracts were characterized in terms of polyphenol and phlorotannin content and for their DPPH scavenging activity. The lipidic extract (at 2%, 4%, 6%) and the phenolic extract (at 300 ppm) were added to sunflower oil. A four week follow-up is done by measuring the peroxide value (PI), acidity, color, chlorophyll content during four weeks, as well as the rancimat test. The fatty acid profile of the extract, the control oil and the mixture are determined by GPC. The best polyphenol content and antioxidant activity was recorded by the phenolic extract (IC<sub>50</sub>: 30.76 % µg/ml). The addition of lipid extract at 2% and phenolic extract at 300 ppm resulted in better oxidative stability (IP=4 Meq O<sub>2</sub>/kg, AI=0.08%, induction time=11.57 Hours); (IP=1.21Meq O<sub>2</sub>/kg, AI=0, 11, induction time=10.15 Hours) respectively compared to the control. The fatty acid profile of the mixture (sunflower oil + algal extract) shows a composition rich in polyunsaturated fatty acids: linoleic acid, oleic acid and palmitic acid. These results show that the extract of the brown algae effectively improves the oxidative stability of sunflower oil. And enriches it in polyunsaturated fatty acids.

**Key words:** brown algae, maceration extraction, Soxhlet extraction, antioxidant activity, oxidative stability, polyunsaturated fatty acids.