

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimie

Mémoire

Présenté par : M^r SADI Hamza
En vue de l'obtention du Diplôme de Magister
en Biologie
Option : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives

Thème

Le pouvoir antioxydant de quelques algues marines

Devant le jury :

Président : ATM ANI D.

Professeur (UAMB)

Rapporteur : ZEBBOUDJ A.

M. Conférences (UAMB)

Examineurs : LOUAILECHE H.

Professeur (UAMB)

MOULAÏ R.

M. Conférences (UAMB)

Année universitaire : 2009/2010

Remerciements

Voici venu le moment de remercier l'ensemble des gens qui m'ont aidé un peu ou beaucoup, de loin ou de près, ponctuellement ou tout au long de ce travail. J'espère donc n'oublier personne.

Je commencerai par remercier profondément Mme. Le Docteur A. ZEBBOUDJ pour avoir accepté d'être ma directrice de mémoire, pour son soutien, ces recommandations continues et pour les conseils qu'elle m'a prodigués tout au long de cet travail. Je tiens également à lui exprimer toute ma reconnaissance pour sa grande disponibilité.

Je tiens également à remercier vivement, Melle le Professeur H. LOUAILECHE de m'avoir accueillie dans son laboratoire.

J'exprime mes sincères gratitude, à Mr. le Professeur D. ATMANI pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

J'adresse mes remerciements à l'égard de Melle le Professeur H. LOUAILECHE et Mr. le Docteur R. MOULAÏ qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je voudrais également remercier Mr. M.L. MOUSLI de m'avoir aidé dans l'identification des espèces d'algues utilisées dans cette étude.

J'associé mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire de biochimie alimentaire, en particulier Mr. M. BACHIR HBEY.

Un grand merci à mes très chers parents et à toute ma famille, qui m'ont vraiment aidé, soutenu depuis toujours.

Je ne saurais oublier de remercier Bilal, Omar, Salim, Bellik, Slimane, Atmane, Nassir, Naim, Hidher, Rachid, Locif et Ounour pour leur soutien.

*Je dédie ce travail à mes
chers parents et à toute ma famille*

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction	1
--------------------	---

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

I. Aspects généraux sur la biologie des algues	3
I.1. Généralités	3
I.2. Grands groupes d'algues	3
I.2.1. Selon la pigmentation	3
1. Les algues vertes (chlorophycées).....	3
2. Les algues rouges (rhodophycées)	3
3. Les algues brunes (phéophycées)	3
4. Les algues bleues (Cyanobactéries)	4
I.3. Caractéristiques générales des espèces d'algues étudiées	4
I.3.1. Chlorophycophytes.....	4
1. <i>Ulva lactuca</i>	4
2. <i>Enteromorpha intestinalis</i>	4
I.3.2. <i>Phéophycophytes</i>	5
1. <i>Cystoseira mediterranea</i>	5
2. <i>Cystoseira fimbriata</i>	5
I.4. Ecologie des algues marines	6
I.5. Composition et valeur nutritive des algues	7
I.6. Principaux producteurs d'algues dans le monde	7
I.7. Domaines d'utilisations des algues	8

II. Oxydants, antioxydants et stress oxydatif	10
II.1. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote(ERON)	10
II.1.1. Notion du radical libre	10
II.1.2. Principales sources des ERON	11
II.1.2.1. Source mitochondriale.....	11
II.1.2.2. Source enzymatique	12
1. NADPH oxydase	12
2. Xanthine oxydoréductase	13
3. Nitrique oxyde synthase.....	13
II.1.2.3. Autres sources	14
II. 1.3. Rôles physiologiques des ERON	14
II.1.4. Défenses physiologiques contre les ERON	15
II.1.4.1. Système antioxydant enzymatique	16
1. Superoxyde dismutase	16
2. Catalase.....	16
3. Glutathion peroxydase et glutathion réductase	17
II.1.4.2. Systèmes antioxydant non enzymatique	18
II.1.4.2.1.Polyphénols	18
II.1.4.2.1.1. Modes d'action des composés phénoliques	19
1.Chélation des métaux de transition	20
2. Effet scavenger	20
3. Inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres	21
II.1.4.2.2. Caroténoïdes	21
II.1.4.2.2.1. Modes d'action des caroténoïdes	22
1. Effet scavenger	22
2. Piégeage de l'oxygène singulet	22
II.1.4.2.3. Chlorophylles.....	24
II.1.4.2.3.1.Mode d'action des chlorophylles.....	25
II.1.4.2.4. Vitamine C.....	26
II.1.4.2.5. Vitamine E.....	27
II.1.4.2.6. Glutathion.....	28
II.1.4.2.7. Sélénium.....	28

II.2. Stress oxydant cellulaire	29
II.2.1. Qu'est-ce qu'un stress oxydant cellulaire?	29
II.2.2. Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERON	30
II.2.2.1. Cibles lipidiques ;peroxydation des membranes biologiques	30
II.2.2.2. Cibles non lipidiques.....	32
1. Dénaturation des protéines.....	32
2. Altération des acides nucléiques.....	32
II.2.3. Marqueurs biochimiques et mise en évidence du stress oxydatif	33
II.2.4.Pathologies liées au stress oxydant	34

MATERIELS ET METHODES

I. Echantillonnage	36
I.1. Site d'étude.....	36
I.2. Récolte du matériel végétal	36
II. Etude phytochimique	40
II.1. Teneur en eau	40
II.2. Dosage des polyphénols totaux	40
II.2.1. Préparation des extraits	40
II.2.2. Détermination des phénols totaux	40
II.3. Dosage des flavonoides totaux	41
II.4. Dosage de la chlorophylle a, b et les caroténoïdes totaux	41
III. Etude de l'activité antioxydante des extraits de plantes testées	42
III.1 Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	42
III.2. Pouvoir réducteur	42
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	43
IV. Analyse statistique	43

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I.Teneur en humidité des plantes étudiées	44
II. Etude phytochimique	44

II.1. Dosage des polyphénols totaux	44
II.2. Dosage des flavonoïdes totaux	46
II.3. Dosage des caroténoïdes totaux	47
II.4. Dosage des chlorophylles	48
III. Etude de l'activité antioxydante	50
III.1. Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	50
III.2. Pouvoir réducteur	52
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	54
IV. Analyse des corrélations linéaires	55
Conclusion	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
ANNEXES	

Liste des abréviations

Abs : absorbance

ADN : acide désoxyribonucléique

AMP : adénosine monophosphate

ARN : acide ribonucléique

ATP : adénosine 5-triphosphate

CAT : catalase

CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires

CoQ : cytochrome Q

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO : espèces réactives de l'oxygène

ERON : espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

FAD : flavine adénine dinucléotide

FMN : flavine mononucléotide

GCs : guanylate cyclase soluble

GMPc : guanosine monosphosphate 3,5 cyclique

GPx : glutathion peroxydase

GSH : γ -glutamyl-cystéinyl-glycine

GSSH : glutathion-disulfure

4-HNE: 4-hydroxynonéal

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

MDA: malonedialdéhyde

NADH: nicotinamide adenine dinucléotide

NADPH : nicotinamide adenine dinucléotide Phosphate

NOS : nitrique oxyde synthase

8-OH-dG : 8-hydroxy-désoxyguanosine

P-450 : cytochrome P-450

RPE : résonance paramagnétique électronique

SOD : superoxyde dismutase

TBA : acide thiobarbiturique

XDH : xanthine déshydrogénase

XO : xanthine oxydase

XOR : xanthine oxydoréductase

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Zonation verticale des macroalgues marines	6
2	Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	11
3	Production et élimination des ERO au niveau de la mitochondrie	12
4	Biosynthèse de NO ^o à partir de L-arginine par les NOS	14
5	Effet scavenger (éboueur) de la superoxydase dismutase sur les ERO	16
6	Protection contre les peroxydes lipidiques et régénération de la Glutathion peroxydase	17
7	Structure moléculaire de quelques polyphénols algaux	19
8	Structure de base des flavonoïdes	18
9	Groupes fonctionnels de l'activité antiradicalaire des flavonoïdes	21
10	Structure moléculaire de la chlorophylle <i>a</i> et <i>b</i>	25
11	Chélation de métaux de transition par l'acide ascorbique	26
12	Rôle de la vitamine C dans la régénération de la vitamine E	27
13	Structure moléculaire de la vitamine E	28
14	Modification de l'équilibre redox cellulaire par la production aïgue ou chronique des ERON	29
15	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	31
16	Illustration du mode d'action des radicaux hydroxyles sur la guanine (A), lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire (B)	33
17	Photographie de la station de récolte	36
18	Photographies du matériel végétal	37
19	Teneur en polyphénols totaux des espèces étudiées	45
20	Teneur en flavonoïdes totaux des espèces étudiées	46
21	Teneur en caroténoïdes totaux des espèces étudiées	47
22	Activité scavenger à l'égard de DPPH des espèces étudiées	50
23	Effet de la concentration sur le potentiel inhibiteur de DPPH	51
24	Pouvoir réducteur des espèces étudiées	53
25	Potentiel d'inhibition de peroxyde d'hydrogène des espèces étudiées	54
26	Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %.	56
27	Corrélation entre la teneur en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %	57
28	Corrélation entre les différentes activités antioxydantes des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %.	58

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Analyse globale moyenne des algues en générale	7
II	Analyse moyenne des matières sèches	7
III	Demi-vies des principaux dérivés réactifs de l'oxygène	10
IV	Structures et caractéristiques de quelques carotènes	23
V	Structures et caractéristiques de quelques Xanthophylles	24
VI	Les principales affections liées à la production des ERON	32
VII	Répartition des pigments des plastes dans les différents groupes d'algues.	38
VIII	Caractéristiques morphologiques des espèces étudiées	39
IX	Tableau représentant la teneur en eau des différentes plantes étudiées	44
X	Teneur en chlorophylles <i>a</i> et <i>b</i> des différentes espèces étudiées	49

Introduction

Introduction

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) sont définies comme étant des atomes ou des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur la dernière orbitale, provoquant ainsi une distribution électronique instable qui leur confère une très grande réactivité (Pons-Rejraji *et al.*, 2009). Afin de les maintenir à des concentrations physiologiques et d'enrayer leurs actions néfastes, notre organisme a développé un système antioxydant constitué de deux barrières de protection ; l'une enzymatique endogène (superoxyde dismutases, catalases et la glutathion peroxydases) et l'autre non enzymatique exogène (vitamine C, vitamine E, glutathion, caroténoïdes....etc.).

Cependant, dans certains cas, les capacités de ce système sont dépassées par la production incontrôlée de ces molécules, induisant ainsi un stress oxydatif avec installation d'un nouvel équilibre redox de niveau oxydant plus élevé et permanent (Beaudeau *et al.*, 2006). Dans ce cas, ces molécules oxydantes interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants (ADN, lipides, et protéines), ce qui provoque par conséquent, diverses pathologies regroupées sous le nom de pathologies oxydatives (maladies cardiovasculaires, athérosclérose, cancers,....etc.).

La plupart des matrices végétales, comprennent des molécules biologiquement actives, qui constituent la clé de voûte du système antioxydant. Ces composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale possédant un large éventail d'activités biologiques. Les composés phénoliques, les caroténoïdes et les chlorophylles font partie de ses substances actives qui trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie.

La prise en considération des algues marines dans cette étude est tout à fait justifiée, car leur exploitation dans les différents domaines connaît un essor remarquable depuis ces dernières années (FAO, 1987). Riches en composés phénoliques, en caroténoïdes et en chlorophylles, ces végétaux marins constituent une source inépuisable d'antioxydants dont les intérêts grandissent jour après jour. En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydatif.

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une revue de littérature est présentée sur les algues marines, décrivant leurs principaux phylums, leurs différents domaines d'utilisations ainsi qu'un aperçu sur les radicaux libres et le stress oxydatif, inducteur de nombreuses pathologies. Le deuxième volet est voué aux résultats phytochimiques (dosages des polyphénols, des flavonoïdes, des caroténoïdes et des chlorophylles *a* et *b*) obtenus à partir des plantes sélectionnées, et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante via les trois tests ; réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, pouvoir réducteur et inhibition du H₂O₂.

*Aperçu
bibliographique*

Aspects généraux
Sur la biologie des algues

I. Aspects généraux sur la biologie des algues

I.1. Généralités

Les *algues*, bien moins connues que la plupart des autres végétaux du fait de leur habitat essentiellement aquatique qui les place hors de l'environnement habituel de l'Homme, les algues constituent pourtant une flore d'environ 25 000 espèces (Gayral, 1975). Bien que surtout abondantes dans les milieux aquatiques (mer et eaux douces), les algues sont susceptibles de vivre dans les conditions écologiques les plus diverses, certaines sont aériennes, d'autres endophytes dans les tissus végétaux et animaux (Ozenda, 2000). Ces végétaux peuvent être définis comme des thallophytes pourvus de pigments assimilateurs.

I.2. Grands groupes d'algues

1.2.1. Selon la pigmentation

Les algues peuvent adopter plusieurs classifications. Parmi celles-ci, les classifications s'épaulant sur la composition pigmentaire et la distribution dans l'eau. En se basant sur la composition pigmentaire nous avons les groupes suivants :

1. Les algues vertes (chlorophycophytes)

Les chlorophycophytes comptent environ 10 000 espèces. Ce groupe est très homogène en ce qui concerne la composition pigmentaire et le métabolisme glucidique. Toutes les algues appartenant à cet embranchement renferment les chlorophylles *a* et *b*, du β -carotène et des oxycarotènes (lutéines, zéaxanthines, violaxanthine) (Bezanger *et al*, 1990).

2. Les algues rouges (rhodophycophytes)

Les rhodophycophytes sont d'une couleur rouge plus ou moins nette, due à la présence dans leur appareil plastidial de la phycoérythrine. Dans les cellules de ce groupe, les réserves glucidiques figurées sont des grains de rhodamylon (amidon extraplastidial) colorable en brun et non en bleu par l'iode (Gayral, 1975).

3. Les algues brunes (phéophycophytes)

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

4. Les algues bleues (Cyanobactéries)

Ces organismes, unicellulaires ou pluricellulaires, ont longtemps été inclus dans les “algues” et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et de leur coloration bleu-vert. Il est actuellement admis que leur ultrastructure, de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de Cyanobactéries qui leur est désormais appliqué. Se sont des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l’oeil nu soit des populations très importantes formant des “fleurs d’eau” exploitées depuis longtemps dans certaines régions (spirulines au Tchad ou au Mexique, par exemple) (FAO, 1987 ; Donadieu, 1985).

I.3. Caractéristiques générales des espèces d’algues étudiées

Les algues marines faisant l’objectif de cette étude sont au nombre de quatre espèces. Deux espèces appartiennent aux chlorophycophytes (*Ulva lactuca* et *Enteromorpha intestinalis*), les deux autres sont des phéophycophytes (*Cystoseira mediterranea* et *Cystoseira fimbriata*).

I.3.1. Chlorophycophytes

1. *Ulva lactuca*

Cette algue verte appartenant au genre *Ulva*, famille des Ulvaceae et à l’ordre des Ulvales, se présente comme une lame orbiculaire de taille allant de 10 à 30 centimètres, plus ou moins lobée, qui s’attache au substrat rocheux par un petit disque formé de nombreux rhizoïdes issus des cellules basales. Elle est également connue sous le nom de *laitue de mer*, à cause de l’aspect de ses frondes organisées en lames aplaties rappelant les feuilles des laitues. C’est une espèce qui se développe dans les eaux peu profondes, sur les niveaux supérieurs du littoral. Dans certains pays du nord, cette algue se consomme crue en salade (Gayral, 1975 ; Dejean Arrecgros et Pierre, 1977 ; FAO, 1987 ; Ozenda, 2000).

2. *Enteromorpha intestinalis*

L’espèce *Enteromorpha intestinalis* du genre *Enteromorpha*, famille des Ulvaceae et d’ordre des Ulvales, est une algue verte marine dont les frondes creuses rappellent un tube intestinal. L’appareil végétatif est un thalle tubulaire, de 5 à 20 centimètres de longueur, étranglé comme un boyau et qui se fixe sur le substrat par un disque formé de rhizoïdes. Elle pousse sur des fonds rocheux et caillouteux de la partie supérieure de l’étage médiolittoral,

dans les endroits semi-battus. Les utilisations potentielles du genre *Enteromorpha* sont l'alimentation humaine et l'industrie médicale (Dejean Arrecgros et Pierre, 1977 ; FAO, 1987).

I.3.2. Phéophycophytes

Les Cystoseires sont des Phéophycophytes, arborescentes touffues, très ramifiées et souvent de grande taille qui constituent généralement des peuplements denses et étendus (Knoepffler-Peguy, 1973). En méditerranée, les cystoseires abondent et se reconnaissent d'autant plus facilement que les fucus sont absents. Les cystoseires possèdent, selon les espèces, des exigences écologiques très variées. Les unes sont localisées près du niveau des

basses mers ou dans les cuvettes littorales, d'autres au contraire ne s'observent qu'en profondeur; de même, certaines espèces recherchent les stations abritées alors que d'autres ne se développent qu'en stations très battues (Dejean Arrecgros et Pierre, 1977 ; FAO, 1987).

1. *Cystoseira mediterranea*

Cette espèce appartenant au genre *Cystoseira*, famille des Cystoseiraceae et à l'ordre des Fucales, est constituée d'un thalle possédant deux systèmes, l'un est un système caduc composé de rameaux (primaires, secondaires et tertiaires) portant des différenciations végétatives particulières (épines, "feuilles", tophules) et des organes de reproduction (réceptacles) et l'autre est un système pérennant par ses tiges dressées et son appareil de fixation (Annexe 3). Cette algue fréquente les rochers battus et exige des eaux très claires, une forte insolation, et surtout une température relativement constante. Elle ne supporte ni une immersion un peu prolongée ni une brusque variation de la température. Il semblerait également qu'elle a de gros besoins en oxygène, car elle affleure généralement le niveau saturé en oxygène. Elle ne se fixe que sur les rochers horizontaux ou légèrement inclinés et disparaît dès que la roche présente un pan vertical (FAO, 1987 ; Knoepffler-Peguy, 1973).

2. *Cystoseira fimbriata*

Cette Cystoseire fait également partie du genre *Cystoseira*, famille des Cystoseiraceae et à l'ordre des Fucales, est une plante vésiculifère commune sur les côtes méditerranéennes. Elle se distingue aisément des autres espèces par l'absence d'épines, par la largeur et l'aplatissement de ses rameaux primaires disposés en rosette. Au contraire des autres *Cystoseires*, ce n'est pas une indicatrice du mode. Elle se rencontre aussi bien dans les

zones battues où elle conserve son aspect juvénile, à rameaux primaires et secondaires larges et aplatis, que dans les stations abritées où elle s'épanouit en magnifiques plantes de 60 cm. En mode calme, les rameaux primaires s'allongent et, devenant cylindriques, changent totalement l'habitus de cette algue (Knoepffler-Peguy, 1973 ; Dejean Arrecgros et Pierre, 1977).

I.4. Ecologie des algues marines

La flore algale peut être scindé en algues planctoniques appartenant au phytoplancton regroupant des organismes phytomicroscopiques vivant en suspension dans l'eau et en algues benthiques appartenant au benthons, constitué par l'ensemble des organismes vivant en liaison intime avec le fond (Barsanti et Gualtieri, 2006 ; Donadieu, 1985).

Ces algues benthiques, en réponse à des facteurs environnementaux (Substrat, lumière, salinité de l'eau et lumière) dessinent un étagement floristique (figure 1). La lumière joue un grand rôle dans la répartition des algues en fonction de la profondeur. Les chlorophycées vivent toujours à faible profondeur (Dejean Arrecgros et Pierre, 1977).

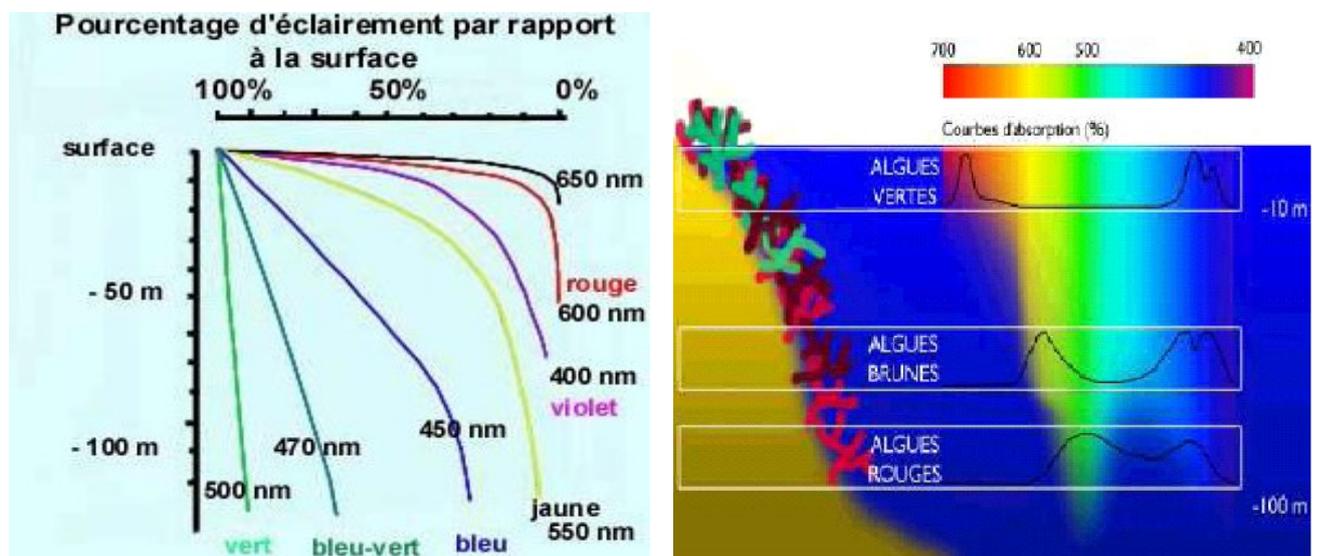


Figure 1 : Zonation verticale des macroalgues marines (Cormaci et Furnari, 2005).

La chlorophylle absorbe surtout les radiations rouges et puisque celles-ci ne pénètrent plus en profondeur, les algues vertes ne peuvent plus vivre. Au contraire les algues qui croissent en profondeur, les rhodophycées en particulier utilisent grâce à leurs pigments les radiations qui pénètrent plus profondément (Dejean-Arrecgros et Pierre, 1977).

I.5. Composition et valeur nutritive des algues

Les algues sont caractérisées par une composition chimique riche et prometteuse. L'analyse de la matière sèche révèle une richesse en protéines, glucides, vitamines, oligo-éléments et en pigments (chlorophylles, caroténoïdes, xanthophylles et phycobilines) (Ismail et Hong, 2002 ; Duan *et al.*, 2006 ; Donadieu, 1985 ; Ganesan *et al.*, 2008) (tableau I et II) ;

Tableau I : Analyse globale moyenne des algues en générale (Donadieu, 1985).

Analyse globale moyenne	
Eau	80%
Matières sèches.....	20%
Matières organiques.....	15%
Matières minérales.....	5%

Tableau II : Analyse moyenne des matières sèches (Donadieu, 1985).

Analyse moyenne des matières sèches	
Matières organiques (75%)	Matières minérales (25%)
<p>Glucides (60%) (Alginate, carraghénanes, fucosanes, gélose, laminarine et cellulose)</p> <p>Protides (10%) (Aspartate, glutamate, alanine, arginine, asparagine, cystéine, glycine, histidine, etc...)</p> <p>Lipides (5%)</p> <p>Vitamines (Vitamine A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D, E et vitamine K)</p> <p>Pigments (Chlorophylles, carotènes, xanthophylles et phycobilines)</p>	<p>En grande quantité (Potassium, chlore, sodium, magnésium, soufre, iode, fer cuivre et manganèse)</p> <p>En faible quantité (Aluminium, argent, arsenic, baryum, chrome, cobalt, fluor, nickel, or, plomb, sélénium et zinc)</p>

I.6. Principaux producteurs d'algues dans le monde

La quantité d'algues produites annuellement par culture ou récoltées dans le monde est de l'ordre de 9 millions de tonnes d'algues fraîches. Les principaux producteurs sont la Chine, la Corée et le Japon qui, à eux seuls, totalisent les quatre cinquièmes de la production,

principalement par la culture (90 % de cette production). Cette production est majoritairement destinée à l'alimentation humaine directe qui représente 75 % de la production mondiale. La deuxième utilisation est l'extraction des colloïdes, qui représente 12,5 %. Le reste est exploité dans les différents secteurs qui sont l'agriculture, l'alimentation animale et la cosmétique (Marfaing et Lerat, 2007).

I.7. Domaines d'utilisation des algues

L'utilisation des algues a toujours été et reste encore très restreinte, mais l'intérêt grandissant qu'elles suscitent, à cogner les portes de leur exploitation. L'utilisation la plus ancienne des algues est sans doute une utilisation alimentaire (Nahas *et al.*, 2007). Depuis les temps historiques, les indiens de l'Amérique centrale, de même que les populations riveraines du Tchad, consommaient régulièrement des galettes obtenues à base d'algues bleues, les spirulines (Akhtar et Sultana, 1977 ; Donadieu, 1985).

En effet, le recours à l'usage alimentaire des algues revient aux époques les plus reculées. En Chine, comme au Japon et dans d'autres pays de l'extrême orient, les algues sont utilisées de façon régulière et importante contrairement à certains pays de l'Europe (Irlande, Islande, Ecosse, Etc.) où leur utilisation reste sporadique et peu importante (Kuda *et al.*, 2005 ; Yuan *et al.*, 2005 ; Ozenda, 2000). Diverses algues rouges (les *Gelidium* et les *Chondrus*) et algues brunes sont cultivées pour la production de farines pour l'alimentation des animaux et surtout des gelées (gélose) qui sont employées dans les entremets. Au Japon, des *Porphyra* contenant jusqu'à 30 % de protéines sont utilisées comme condiment (Ozenda, 2000).

À côté de ces utilisations alimentaires directes, les algues sont encore sollicitées dans le domaine industriel. Les alginates de *Laminaria digitata* sont utilisés pour épaissir du papier, d'autres algues sont récoltées pour extraire des colloïdes (agar-agar, carraghénine) employés pour les cultures de bactéries et de champignons en laboratoire et dans l'industrie pharmaceutique, photographique et cosmétologique (FAO, 1987 ; Ozenda, 2000). Les algues sont également utilisées comme des engrais naturels et pour amender les terres acides grâce à leurs accumulations calcaires (Ozenda, 2000 ; Kumar *et al.*, 2008).

Plusieurs études ont démontré l'effet prometteur de l'utilisation des préparations algales en phytothérapie. C'est d'ailleurs dans ce domaine que l'augmentation du nombre de produits commercialisés a été la plus rapide et la plus spectaculaire en relation avec l'attrait certain des populations vers l'exploitation et l'utilisation de produits de la mer (tant en

utilisation thérapeutique, allopathique ou homéopathique que dans une optique de produits cosmétologiques) (FAO, 1987). Les algues ont une action hypocholestérolémiant, anticoagulante (Donadieu, 1985), antibactérienne (Tüney *et al.*, 2006 ; Patra *et al.*, 2008), antivirale (Plaza *et al.*, 2008), anti-tumorale (Heo *et al.*, 2005), antifongique (Pflugmacher *et al.*, 2007 ; Jayaraj *et al.*, 2008) et anti-oxydante (Zahra *et al.*, 2007 ; Kuda *et al.*, 2005).

***Oxydants, stress
oxydatif et antioxydants***

II. Oxydants, antioxydants et stress oxydatif

II.1. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

II.1.1. Notion du radical libre

Un radical libre se définit comme tout atome ou molécule possédant un électron non apparié sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une grande réactivité : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Eryaman *et al.*, 1999 ; Ivanov, 2008).

L'appellation *espèces réactives de l'oxygène* n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit (radical superoxyde, radical hydroxyl), de l'azote (monoxyde d'azote), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante (peroxyde d'hydrogène, peroxyde nitrite) (Tableau III) (Polla *et al.*, 2007).

Tableau III : Demi-vies des principaux dérivés réactifs de l'oxygène (Sies, 1993).

Espèces réactives de l'oxygène	Demi-vie (s)
HO [°] , radical hydroxyl	10 ⁻⁹
RO [°] , radical alkoxyde	10 ⁻⁶
ROO [°] , radical peroxyde	7
¹ O ₂ , oxygène singulet	10 ⁻⁵
NO [°] , oxyde nitrique	1 à 10
H ₂ O ₂ , peroxyde d'hydrogène	Enzymatique*
O ₂ ^{°-} , radical superoxyde	Enzymatique*
ONOO ⁻ , peroxyde nitrite	0.05 à 1

* Les demi-vies du radical superoxyde et du peroxyde d'hydrogène varient en fonction de l'activité enzymatique des enzymes assurant leur métabolisme.

Ces espèces peuvent potentiellement réagir avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation. Cependant, leurs cibles préférentielles sont les lipides, suivis par les protéines et les bases constitutives du matériel génétique. L'oxydation de ces composants cellulaires peut induire des dysfonctions du métabolisme cellulaire telles qu'une modification de la fluidité membranaire causée par la peroxydation lipidique ou encore une diminution de l'activité d'une enzyme suite à son oxydation (Ré *et al.*, 2005).

II.1.2. Principales sources des ERON

La génération des ERON au sein de l'organisme implique deux principales voies : endogène et exogène (figure 2). En mode endogène, divers types cellulaires et tissulaires donnent naissance à des radicaux libres suite à des fuites électroniques via la chaîne respiratoire ou par l'activation des enzymes tels les oxydases. D'autres sources ou modes de génération exogène des ERON existent de part les interactions avec leur milieu environnant. Par exemple, l'ingestion ou l'inhalation de toxiques, de produits oxydés ou oxydants, ou encore les radiations ionisantes. Nous décrivons ici les principales sources potentielles dans notre organisme.

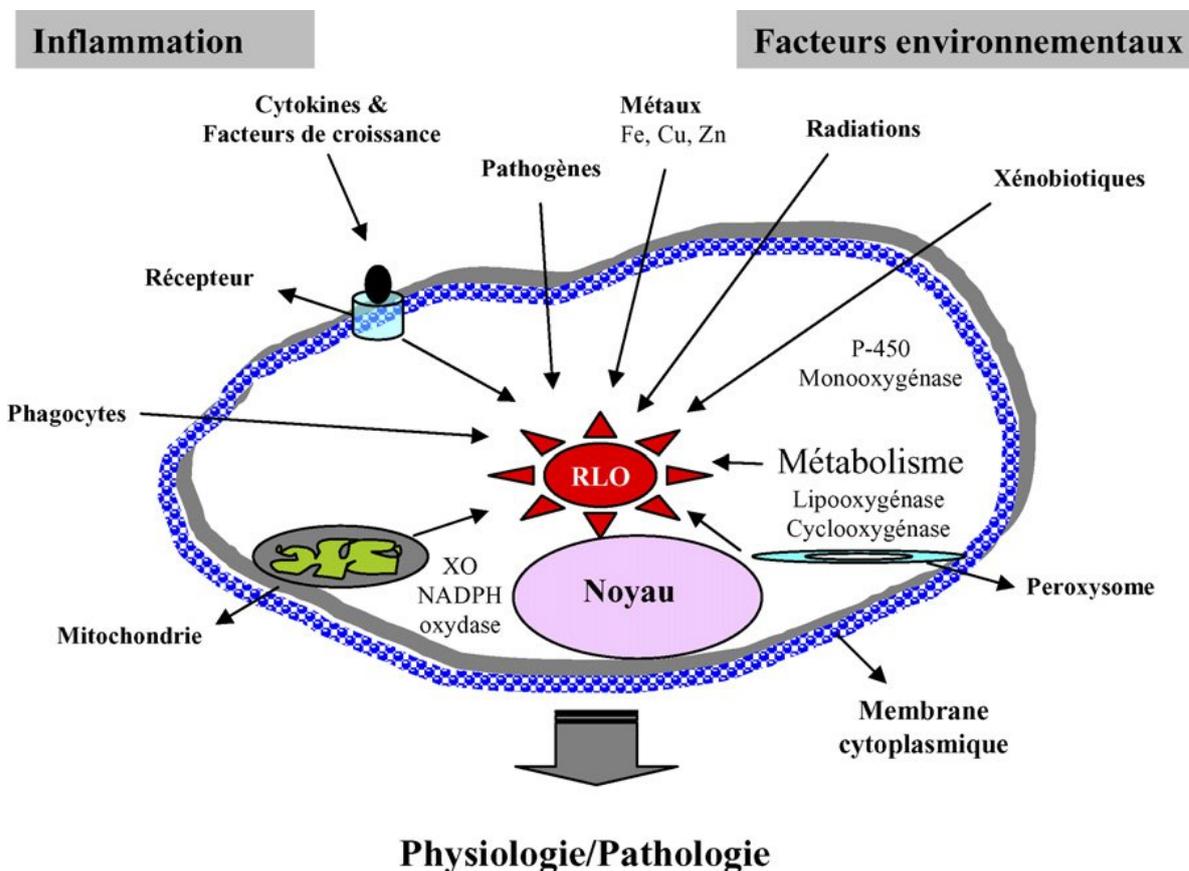


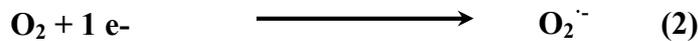
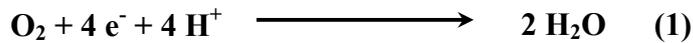
Figure 2: Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso et al., 2007).

XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450.

II.1.2.1. Source mitochondriale

Dans des conditions physiologiques, une majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente par addition de 4 électrons (réaction (1)) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase, accepteur terminal

d'électrons présent dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale (Gardès-Albert *et al.*, 2003).



Toutefois, au niveau de cette membrane mitochondriale, une certaine proportion d'électrons vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2 % de l'oxygène subit une réduction mono-électronique par addition d'un seul électron (réaction (2)) conduisant à la formation du radical superoxyde, au niveau de coenzyme Q (figure 3) (Pastre et Priymenko, 2007 ; Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Favier, 2003).

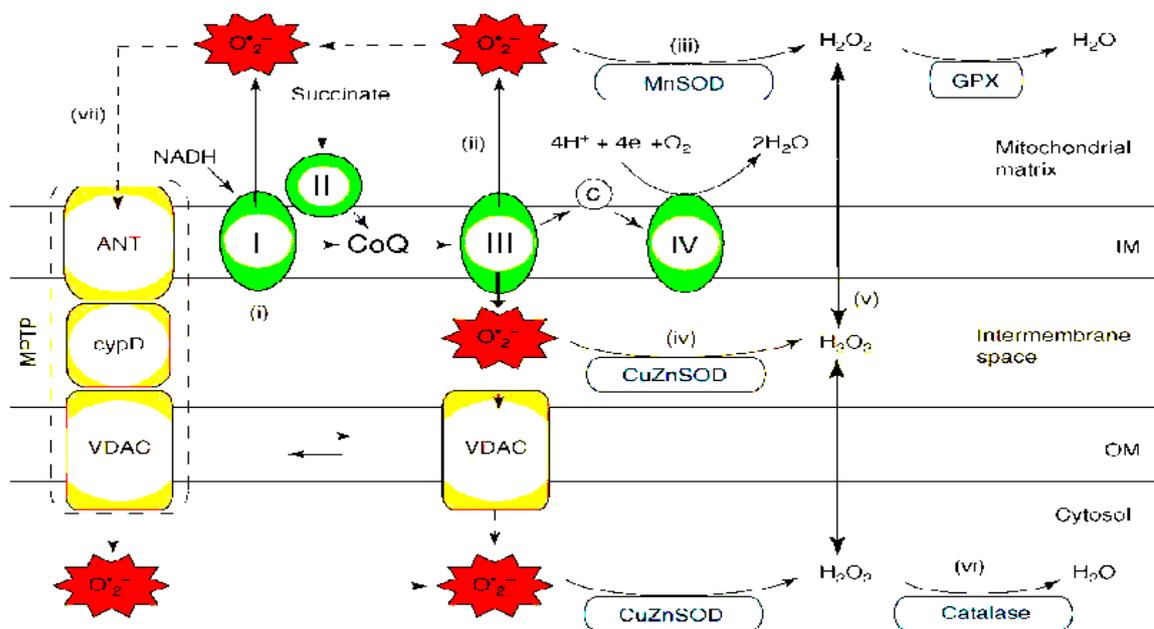


Figure 3: Production et élimination des ERO au niveau de la mitochondrie (Poyton *et al.*, 2009).

II.1.2.2. Source enzymatique

1. NADPH oxydase

La NADPH oxydase est une enzyme cellulaire initialement connue dans les cellules phagocytaires, à l'origine de la production extracellulaire d'anions superoxydes nécessaires à la destruction d'éléments étrangers qui seront finalement phagocytés (Beaudeau *et al.*, 2006).

Les NADPH oxydases des cellules vasculaires constituent aussi une source importante des ERO. Ces enzymes sont exprimées dans les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes de l'adventice et les cellules mésangiales. Leur activité peut être régulée

par de multiples facteurs dont l'angiotensine II, la thrombine, l'acide arachidonique et ses métabolites (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2002).

2. Xanthine oxydoréductase (XOR)

La xanthine oxydoréductase (XOR) est largement distribuée dans l'organisme surtout au niveau de la partie apicale de la membrane des cellules mammaires et des cellules épithéliales intestinales. Cette enzyme est impliquée dans le métabolisme des purines. La XOR est un complexe molybdo-flavo-protéique constitué de deux sous unités identiques de 147 kDa, chacune contenant quatre centres redox : molybdoptérine, FAD et de deux centres fer soufre (Fe_2S_2) (Godber *et al.*, 2000 ; Silanikove et Shapiro, 2007 ; Liu *et al.*, 2003).

In vivo, la xanthine déshydrogénase (forme D) (XDH, EC 1.1.1.204) est prédominante. Cette forme peut être convertie en forme oxydase (forme O) (XO, EC 1.1.3.22) (Martin *et al.*, 2004). Au cours de l'ischémie, l'ATP intracellulaire est catabolisé en AMP et finalement en hypoxanthine qui, en présence de l'oxygène au cours de la reperfusion, est oxydée par la xanthine oxydase en xanthine puis en acide urique; cette oxydation est accompagnée d'une libération d'anion superoxyde et ses dérivés radicalaires (Margaill *et al.*, 2005 ; Martin *et al.*, 2004).

3. Nitrique oxyde synthase (NOS)

Le NO° est synthétisé biologiquement par des enzymes appelées nitrique oxyde synthase (NOS) (NOS, EC 1.14.13.39), qui consomment du β -nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADPH) et de l' O_2 pour oxyder la L-arginine en citrulline et NO° (figure 4). Les NOS utilisent pour fonctionner un ensemble de co-facteurs : la tétrahydrobioptérine (BH_4), la flavine adénine dinucléotide (FAD), la flavine mononucléotide (FMN) et un groupement héménique (protoporphyrine IX de fer) (Genestra *et al.*, 2006 ; Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998).

Trois isoformes de NO synthases ont été identifiées : NOS-1 (neuronale), NOS-3 (endothéliale) et la NOS-2 (macrophage et lymphocyte). Les différences majeures entre ces isoformes sont leur mode d'expression (les NOS-1 et 3 sont constitutives, la NOS-2 est inductible) et la régulation des NOS-1 et 3, mais pas de la NOS-2, par la concentration en ions calcium (Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998 ; Rivot, 1999).

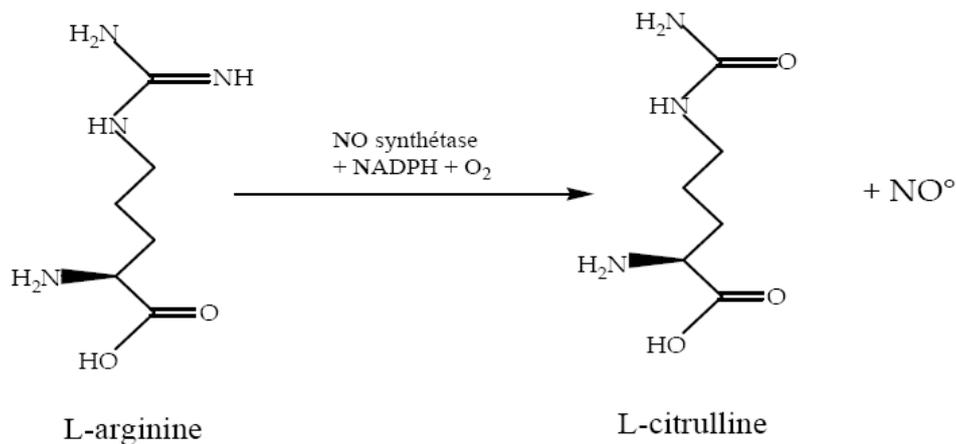


Figure 4 : Biosynthèse de NO° à partir de L-arginine par les NOS (Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998).

II.1.2.3. Autres sources

D'autres activités enzymatiques peuvent aussi fournir des ERO, c'est le cas par exemple des NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques (Barouki, 2006).

Notre environnement et notre mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme. Les expositions prolongées au soleil et aux radiations, les contacts avec des agents cancérigènes et tabagisme, la consommation excessive d'alcool, le stress intellectuel ou thermique, la pollution, les agents infectieux...sont des facteurs qui renforcent la production d'éléments pro-oxydants et favorisent le débordement des défenses et la survenue d'un stress oxydant (Dummermuth *et al.*, 2003 ; Beaudeau *et al.*, 2006 ; Pham-Huy *et al.*, 2008).

II.1.3. Rôles physiologiques des ERON

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire et à la fécondation de l'ovule.

Cependant, la capacité signalétique des ERON a été mise en évidence lors d'expériences démontrant la capacité de NO° à traverser les membranes et de diffuser très rapidement dans la circulation sanguine ou dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) sous-jacentes où il active la guanylate cyclase soluble (GCs), enzyme catalysant la formation de guanosine monophosphate 3,5 cyclique (GMPc) le second messager de la CMLV vasculaire et de la vasorelaxation (Pellegrin *et al.*, 2009). De même, le H_2O_2 a la faculté de traverser les membranes biologiques et par conséquent modifier l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) (Parent *et al.*, 2008).

De plus, la présence de concentrations modérées et contrôlées des ERO est indispensable à l'acquisition du pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Au cours du transit épидидymaire, les ERO modifient par oxydation les qualités structurales et biochimiques de l'ADN, des protéines et des lipides du spermatozoïde. Ils contribuent ainsi à la condensation nucléaire, au remodelage des membranes et à l'acquisition d'une mobilité rectiligne. Dans le tractus génital féminin, l' H_2O_2 et l' $\text{O}_2^{\circ-}$ interviennent dans différentes voies de signalisation intracellulaire de la capacitation, de la réaction acrosomique et de l'acquisition d'une mobilité hyperactive (Pons-Rejraji *et al.*, 2009).

Ainsi, au sein du système nerveux central, NO° émis par certaines fibres post-synaptiques à la suite de leur excitation, diffuserait dans la fibre pré-synaptique d'où, par augmentation de l'intensité des influx nerveux ultérieurs, son intervention dans les processus de mémorisation par potentialisation à long terme (par exemple, dans la mémorisation par la brebis de l'odeur de l'agneau nouveau-né) (Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998). Au cours de la réponse immunitaire, des oxydants chlorés (HOCl) fortement bactéricides sont déployés par les macrophages afin de neutraliser les agents pathogènes (Barouki, 2006).

II.1.4. Défenses physiologiques contre les ERON

Afin de contrer l'action oxydante des d'ERON, notre organisme possède une « armée » d'antioxydants composées d'enzymes (catalase (CAT), superoxyde dismutases (SOD), glutathion peroxydases (GPx),...) dont la plupart nécessitent la présence de cofacteurs métalliques (zinc, cuivre, sélénium, manganèse), de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif pour la formation des radicaux libres (Desmettre et Lecerf, 2005).

II.1.4.1. Système antioxydant enzymatique

1. Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) est une enzyme clé dans la lutte contre le stress oxydatif. Elle catalyse la dismutation du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène (figure 5) (Baker *et al.*, 1985). C'est une famille de métalloenzymes qui contiennent soit du manganèse (Mn-SOD), soit du cuivre et du zinc (Cu/Zn-SOD), et qui sont restreintes à des compartiments cellulaires différents. La SOD se manifeste sous trois formes : SOD 1 ou Cu/Zn-SOD de localisation cytosolique ; SOD 2 ou Mn-SOD au niveau des mitochondries et la SOD 3, également appelée EC-SOD, qui comme la SOD 1 comporte du cuivre et du zinc est extracellulaire (Kalpakcioglu et Şenel, 2008 ; Szymonik-Lesiuk *et al.*, 2003 ; Alper *et al.*, 1998).

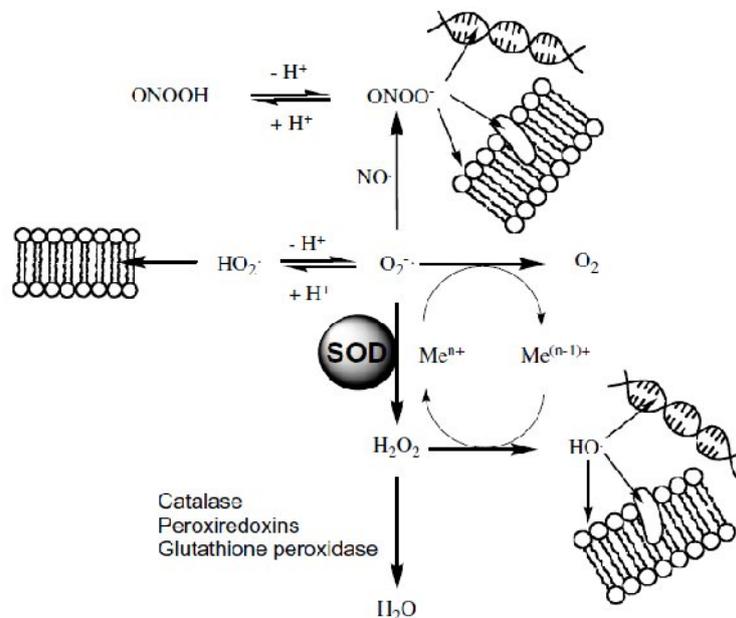


Figure 5 : Effet scavenger (éboueur) de la superoxydase dismutase sur les ERO (Johnson et Giulivi, 2005).

2. Catalase (CAT)

La catalase (EC 1.11.1.6) est présente dans un grand nombre de tissus mais particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. C'est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Dans les cellules des mammifères, sa principale localisation subcellulaire est le peroxysome où elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène (Qujeq et Rezvani, 2007). L'un des rôles majeurs de la

catalase est donc de diminuer la formation des radicaux hydroxydes générés via la réaction de Fenton à partir du peroxyde d'hydrogène (Favier, 2003).

3. Glutathion peroxydase et glutathion réductase

La famille des glutathion peroxydases constitue un autre rempart de protection contre le stress oxydatif. Ces enzymes appartenant au groupe des sélénoenzymes sont sans doute le principal système défenses intra- et extracellulaires contre l'oxydation, car elles détruisent non seulement les peroxydes d'hydrogènes, mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur le transformant ainsi en glutathion oxydé (GSSG) (Chow, 1979 ; Halliwell 1989 ; Pham Huy *et al.* , 2008). Pour que le glutathion peroxydase puisse constamment accomplir ses fonctions, le maintien de la concentration cellulaire basale en glutathion réduit est primordial. La régénération du GSH peut prendre deux voies impliquant des enzymes distinctes (figure 6) (Chow, 1979):

- *La glutathion réductase*, réduit le GSSG en GSH grâce à la présence de NADPH utilisé comme donneur d'électrons. Ce dernier est régénéré par la glucose-6-phosphate déshydrogénase utilisant le glucose 6-phosphate comme substrat.
- *La glutathion synthétase*, quant à elle, participe dans le maintien du taux du GSH en empruntant une voie de synthèse à partir de certains acides aminés (glycine, cystéine et glutamate).

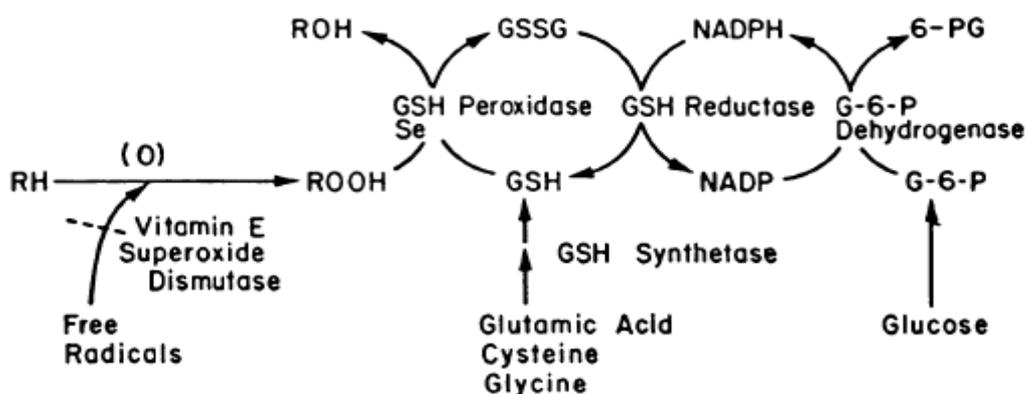


Figure 6 : protection contre les peroxydes lipidiques et régénération de la Glutathion peroxydase (Chow, 1979).

II.1.4.2. Système antioxydant non enzymatique

II.1.4.2.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites secondaires le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Hennebelle *et al.*, 2004). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Chira *et al.*, 2008). Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés à d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existent également (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Hennebelle *et al.*, 2004).

Les polyphénols des algues, aussi appelés phlorotannins, diffèrent des polyphénols terrestres. En effet, les polyphénols des plantes terrestres proviennent de l'acide gallique et éllogique, alors que les polyphénols algaux proviennent des unités de phloroglucinol (1,3, 5-trihydroxybenzène) (figure 7). Les phlorotannins constituent un groupe extrêmement hétérogène de molécules (structure et de diversité de degré de polymérisation) ce qui confère l'établissement d'une large gamme d'activités biologiques (Burtin, 2003 ; Koivikko, 2008).

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, dont les principaux sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base des flavonoïdes (figure 8) peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4,5 et 7 (Apak *et al.*, 2007 ; Chira *et al.*, 2008).

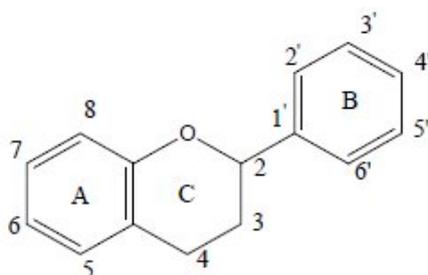


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (Derbel et Ghedira, 2005).

La plupart des flavonoïdes existent sous forme de glycosides, la nature du sucre variant grandement selon les espèces. Les substitutions modifient la solubilité des flavonoïdes, les hydroxylations et les glycosylations rendent les composés généralement plus hydrophiles, alors que d'autres substitutions, telles que la méthylation, les rendent plus lipophiles (Chira *et al.*, 2008).

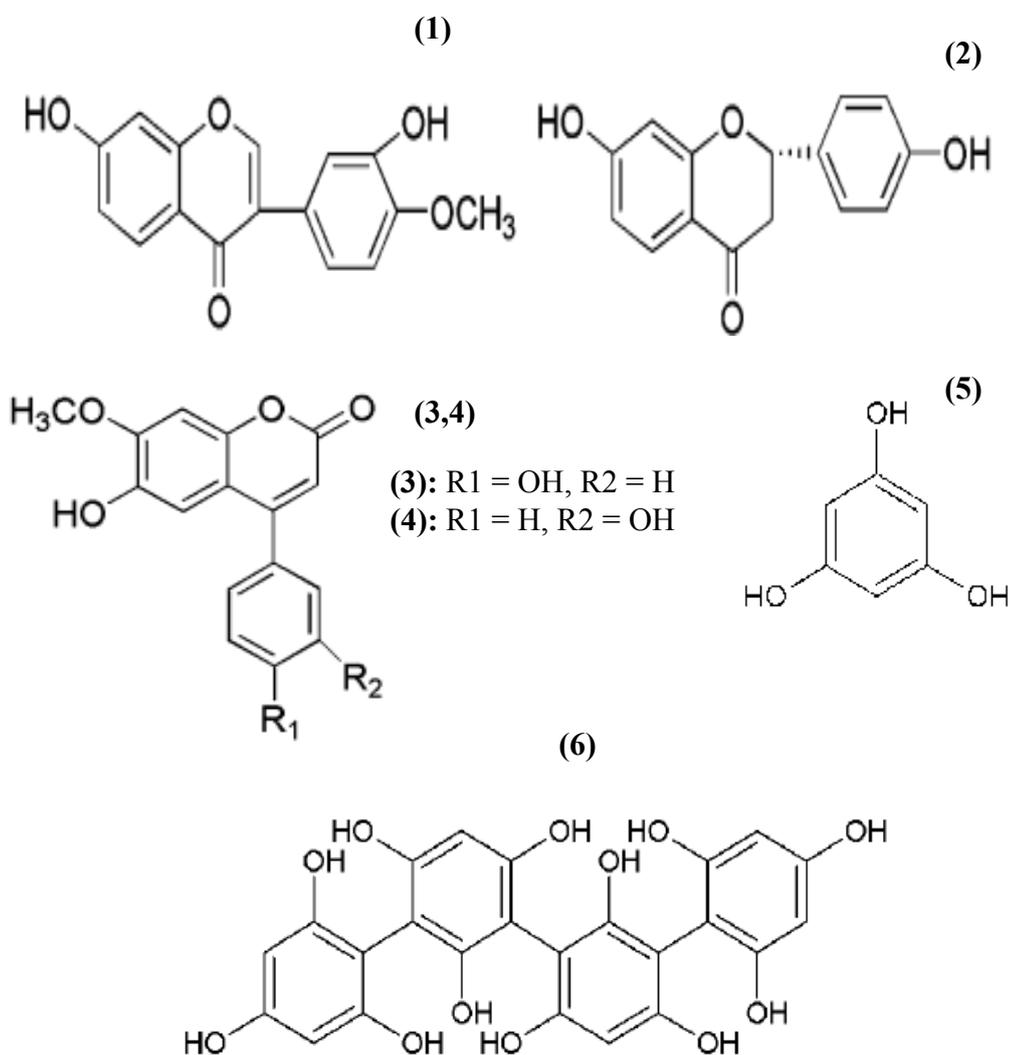


Figure 7: Structure moléculaire de quelques polyphénols algaux : calycosine (isoflavone) (1), liquiritigénine (flavone) (2), melanettine (coumarine) (3), stevenine (coumarine) (4), phloroglucinol (5), tetrafucol A (phlorotannins) (6) (Koivikko, 2008 ; Liu *et al.*, 2009).

II.1.4.2.1.1. Modes d'action des composés phénoliques

Grâce à leur diversité structurale, les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions

radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger et l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres (Cemeli *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2009).

1. Chélation des métaux de transition

Les métaux de transition Fe^{2+} et Cu^{2+} qui sont essentiels pour le déroulement de différentes fonctions physiologiques, peuvent être aussi une source du radical OH° lors de la réaction de Fenton par réduction de H_2O_2 . Cette réaction peut être empêchée par les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les tannins en chélatant ces métaux grâce à leurs fonctions catéchols 3'-hydroxyl, 4'-hydroxyl sur le cycle B, les fonctions 3-hydroxy, 4-oxo du l'hétérocycle C et les fonctions 4-oxo, 5-hydroxy de l'hétérocycle C et le cycle A, respectivement (Balasundram *et al.*, 2006 ; Heim *et al.*, 2002; Hennebelle *et al.*, 2004 ; Apak *et al.*, 2007).

2. Effet scavenger

L'effet scavenger des composés phénoliques consiste à piéger et à neutraliser les formes toxiques de l'oxygène (HO° , $\text{O}_2^{\circ-}$, $^1\text{O}_2$) et les radicaux issus de la peroxydation des lipides (R° , RO° , ROO°), en les réduisant par un transfert direct d'un atome d'hydrogène ou d'un électron (réaction suivante) (Apak *et al.*, 2007 ; Hennebelle *et al.*, 2004). De ce fait, les composés phénoliques interfèrent et bloquent la propagation de la réaction radicalaire en chaîne grâce à leur caractère réducteur en devenant, eux-mêmes, des radicaux phénoxyls assez stables grâce au phénomène de résonance (délocalisation des doublets électroniques) (Pereira *et al.*, 2009).



Cette activité est étroitement liée aux propriétés structurales des composés phénoliques, elle requière (figure 9) (Soobrattee *et al.*, 2005) :

- Une structure ortho-diphénolique du cycle B, essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé (Heim *et al.*, 2002).
- Une double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo, responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxy (Balasundram *et al.*, 2006).
- Des hydroxyles en position 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (Es-Safi *et al.*, 2007 ; Balasundram *et al.*, 2006 ; Apak *et al.*, 2007).

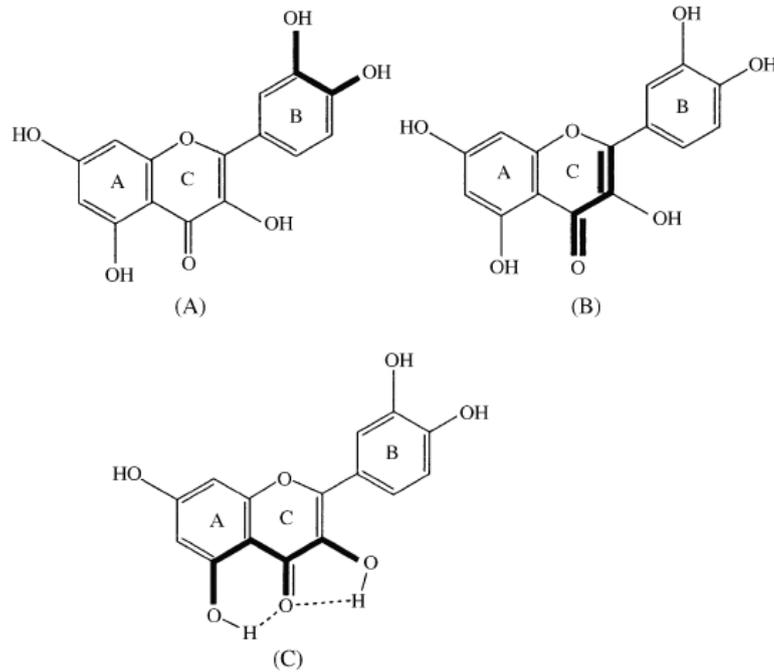


Figure 9 : Groupes fonctionnels de l'activité antiradicalaire des flavonoïdes (Soobrattee *et al.*, 2005).

3. Inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres

L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques est une autre stratégie de l'effet antioxydant des composés phénoliques. Ces composés, grâce à une structure favorable contenant des cycles benzéniques hydrophobe et des groupements hydroxyles qui assurent des liaisons hydrogènes, exhibent une forte aptitude de s'associer covalamment avec des protéines. Ce type de complexation est très important et offre à ces molécules une capacité d'inhiber certaines enzymes, notamment celles impliquées dans la génération des radicaux libres (Xanthine oxydases, lipoxygénases et cyclooxygénase) (Pereira *et al.*, 2009).

II.1.4.2.2. Caroténoïdes

Le nom caroténoïde, est tiré du fait qu'ils constituent le pigment le plus important dans la racine de la carotte *Daucus carota* (Zeb et Mehmood, 2004). Plus de 700 structures, les caroténoïdes constituent une famille de pigments liposolubles largement répandus dans le règne végétal responsables de la couleur jaune, orange ou rouge des fruits et légumes (Muntean *et al.*, 2008 ; Rodriguez-Amaya, 1997).

La structure de base des caroténoïdes est symétrique, linéaire, de 40 carbones et construite par huit unités isopréniques. Ce squelette fondamental peut être modifié par

plusieurs façons différentes (hydrogénation, dehydrogénation, cyclisation, isomérisation et introduction de fonctions d'oxygène) ce qui explique cette grande diversité structurale des caroténoïdes (tableau IV et V) (Rodriguez-Amaya, 1997). Selon l'oxygénation ou non de la chaîne hydrocarbonée, les caroténoïdes sont scindés en Carotènes (non oxygénés) et xanthophylles (oxygénés) (Zeb et Mehmood, 2004).

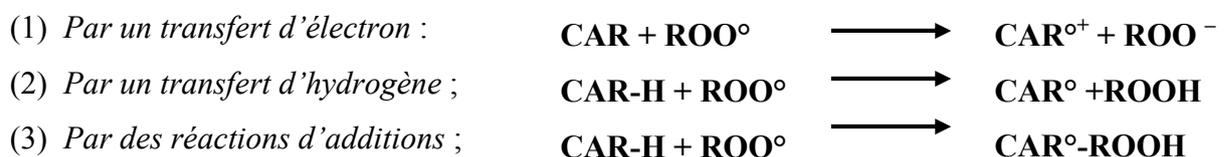
De nombreuses études ont démontré les propriétés antioxydantes des caroténoïdes des algues et leurs implications directes dans la prévention contre plusieurs pathologies qui sont souvent associées au stress oxydatif. Les phéophycées sont particulièrement riches en caroténoïdes et plus spécialement en fucoxanthine, β -carotène et violaxanthine. Pour les rhodophycées, les principaux caroténoïdes sont le β -carotène, α -carotène et leurs dérivés dihydroxylés (Zéaxanthine et lutéine). Quant aux chlorophycées, la composition en caroténoïdes est similaire à celle des plantes supérieures avec les caroténoïdes suivants : β -carotène, zéaxanthine, lutéine, violaxanthine, anthéroxanthine et néoxanthine (Burtin, 2003).

II.1.4.2.2.1. Modes d'action des caroténoïdes

Les caroténoïdes ont des fonctions protectrices contre les dommages oxydatifs avec un fort potentiel de piégeage de l'oxygène singulet (Aboul-Enein *et al.*, 2003; Marxen *et al.*, 2007). Des caroténoïdes tels que le β -Carotène et la lycopène sont des molécules biologiques très importantes, car elles inactivent l'excitation électronique de certaines molécules structurellement instables (Di Mascio, 1991).

1. Effet scavenger

La capacité des caroténoïdes (CAR) à neutraliser les radicaux libres (ROO°) se produit via trois mécanismes distincts (El-Agamey *et al.*, 2004) :



2. Piégeage de l'oxygène singulet

Les caroténoïdes font partie des micronutriments qui participent aux défenses de l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène. Ce sont essentiellement des protecteurs de la peau vis-à-vis des radiations nocives (notamment les ultra violettes) et des piègeurs de

l'oxygène singulet (Guignard, 1979 ; Lawrence *et al.*, 1987 ; Aboul-Enein et El Baz, 2003). Ce potentiel de piégeage de l'oxygène singulet est rendu possible grâce à un transfert de l'énergie de l'excitation de l'oxygène excité ($^1\text{O}_2$) vers le caroténoïde. Ce transfert de l'énergie conduit à l'apparition d'un oxygène moléculaire (forme triplet de l'oxygène) et d'un caroténoïde excité qui revient à l'état basal (non excité) par la dissipation de son excitation sous forme d'énergie thermique (Stahl et Sies, 2005).

Tableau IV: Structures et caractéristiques de quelques carotènes (Rodriguez-Amaya, 1997).

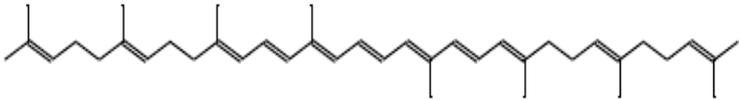
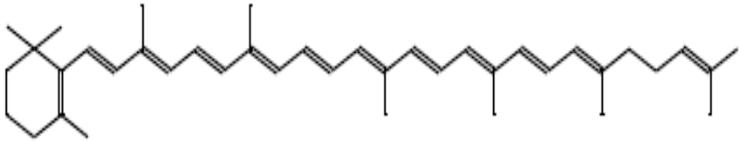
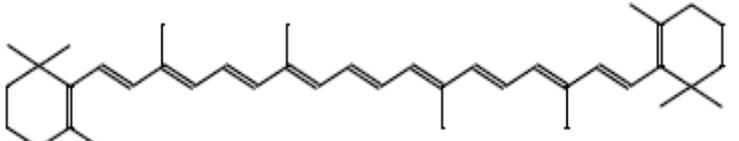
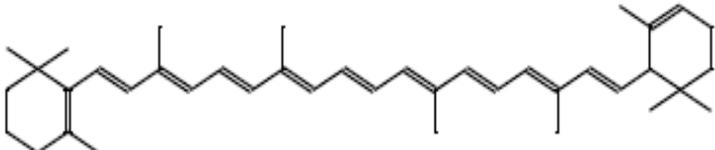
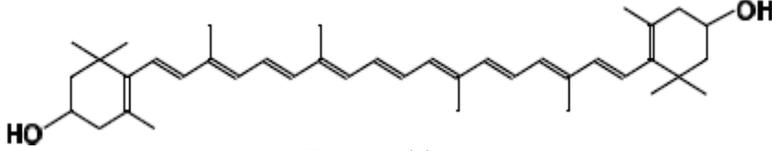
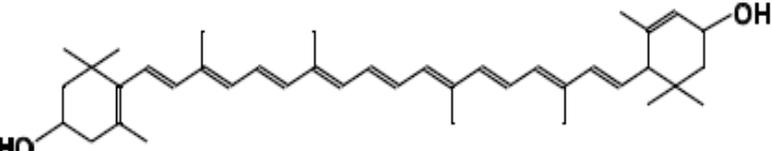
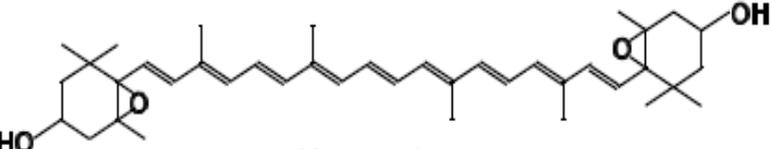
Structure des carotènes	Caractéristiques
 <p style="text-align: center;">ζ-Carotène</p>	<p style="text-align: center;">Acyclique (Jaune- clair)</p>
 <p style="text-align: center;">γ-Carotène</p>	<p style="text-align: center;">Monocyclique (Rouge- orange)</p>
 <p style="text-align: center;">β-Carotène</p>	<p style="text-align: center;">Bicyclique (Orange)</p>
 <p style="text-align: center;">α-Carotène</p>	<p style="text-align: center;">Bicyclique (Jaune)</p>

Tableau V : Structures et caractéristiques de quelques Xanthophylles (Rodriguez-Amaya, 1997).

Structure des Xanthophylles	Caractéristiques
 <p style="text-align: center;">Zéaxanthine</p>	Bicyclique (Jaune-orange)
 <p style="text-align: center;">Lutéine</p>	Bicyclique (Jaune)
 <p style="text-align: center;">Violaxanthine</p>	Bicyclique (Jaune)

II.1.4.2.3. Chlorophylles

Les chlorophylles sont des pigments photosynthétiques qui colorent en vert la plupart des feuilles des végétaux. Leur nom provient du grec *chlorós* et *phyllon* qui signifient : vert des feuilles (Jubert et Bailley, 2007 ; Ferruzzi et Blakeslee, 2007). Dans la nature, les chlorophylles *a* et *b* sont les dominantes dans les algues vertes et les plantes terrestres supérieures, cependant les chlorophylles *c* et *d* sont rencontrées dans les algues brunes et rouges incluant les espèces diatomiques (Ferruzzi et Blakeslee, 2007 ; Schoefs, 2002).

Les chlorophylles constituent elles aussi une famille variée de pigments existant sous différentes formes chez les algues, les bactéries photosynthétiques et les plantes supérieures. Ces molécules font partie d'un groupe de pigments tétrapyrroliques avec des fonctions et des éléments structuraux communs. Elles sont caractérisées par un isocycle à cinq membres contenant un ion de magnésium dans leur centre et par la présence d'une longue chaîne latérale hydrophobe, appelée phytol (figure 10) (Hames *et al.*, 2000 ; Cubas *et al.*, 2008).

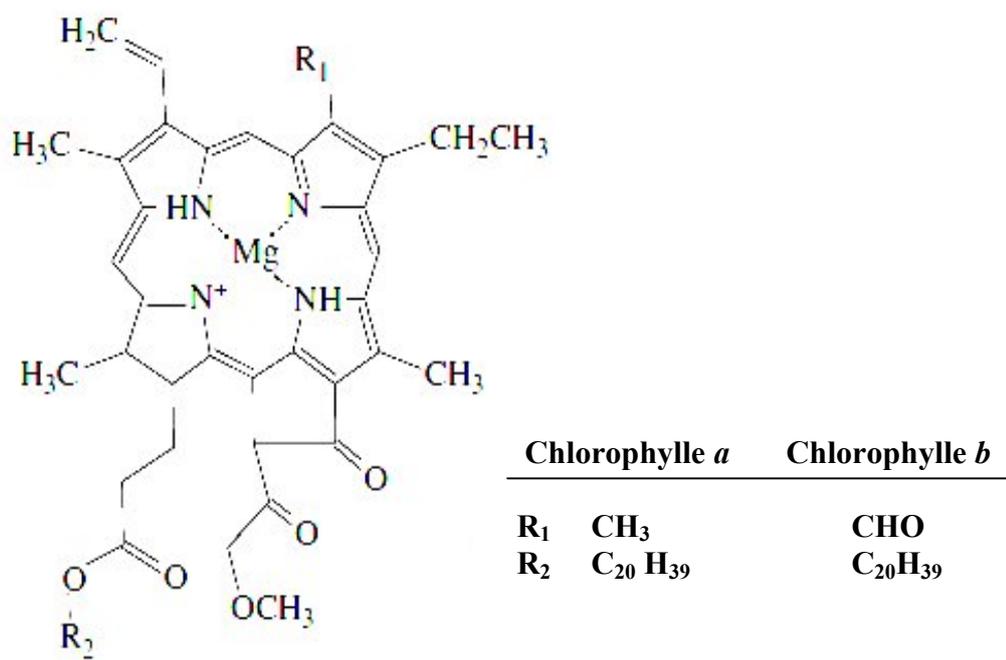


Figure 10: Structure moléculaire de la chlorophylle *a* et *b* (Cubas *et al.*, 2008).

II.1.4.2.3.1. Mode d'action des chlorophylles

Les activités biologiques des chlorophylles et leurs dérivés ont fait l'objet de plusieurs études, elles sont sollicitées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, leur rôle dans le déclenchement de processus apoptotique au niveau de la lignée des cellules tumorales et dans la prévention de nombreux cancers (Ferruzzi et Blakeslee, 2007 ; Huang *et al.*, 2008).

À ces activités biologiques s'ajoute le potentiel antioxydant des chlorophylles, ce sont de véritables chélateurs des métaux de transition (fer, cuivre et zinc), et interviennent aussi dans la neutralisation des radicaux libres (Guignard, 1979). Les chlorophylles et la phéophytine (produit de dégradation de la chlorophylle), présentent un fort pouvoir antioxydant par leur capacité à donner un atome d'hydrogène et de prévenir la peroxydation des lipides (Lanfer-Marquez *et al.*, 2005) ; la structure porphyrine a un rôle essentiel dans cette activité (Fernandes *et al.*, 2007).

II.1.4.2.4. La vitamine C

Les algues marines fournissent une source intéressante de vitamine C. C'est une vitamine qui intervient dans le renforcement du système immunitaire, dans l'activation de l'absorption intestinale du fer et dans le contrôle la formation de tissu conjonctif (Iqbal *et al.*, 2004 ; Burtin, 2003).

Comme molécule antioxydante, l'acide ascorbique a la capacité de chélater les ions métalliques (tels les ions du fer et du cuivre). Pour se faire, cette molécule implique ses groupements hydroxyles en C2 et C3 (figure 11). Ces ions métalliques médient la formation des radicaux libres via la réaction de Fenton et par conséquent renforcent les effets toxiques du stress oxydant (Zümreoglu-Karan, 2006 ; Rios *et al.*, 2009).

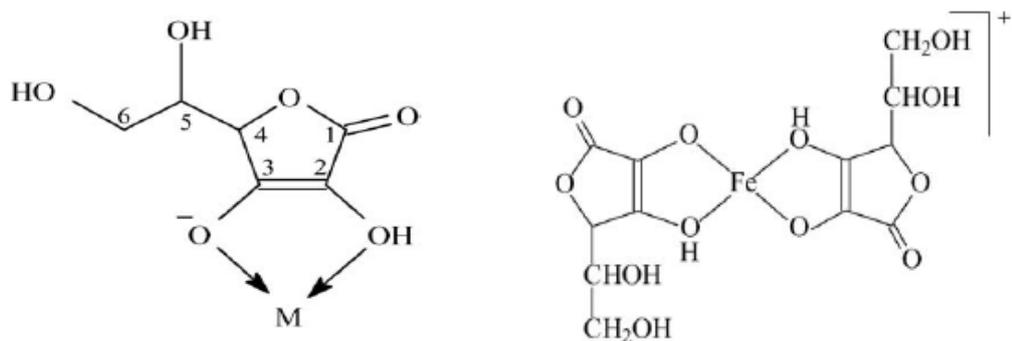


Figure 11 : Chélation de métaux de transition par l'acide ascorbique (Zümreoglu-Karan, 2006).

Par réaction avec les radicaux libres, certains antioxydants deviennent à leur tour, des entités radicalaires. C'est le cas de la vitamine E (α - tocophérol) lorsqu'elle réagit avec les radicaux d'origine lipidique pour empêcher le développement du processus de peroxydation lipidique. Si le flux de radicaux libres formé est trop important, le radical tocophéryl peut toutefois devenir pro-oxydant et contribuer ainsi à augmenter la peroxydation lipidique. Cependant, la présence de la vitamine C dans le milieu peut empêcher cet effet pro-oxydant de la vitamine E grâce à la régénération du radical tocophéryl en tocophérol (figure 12) (Machlin et Bendich, 1987 ; Pincemail *et al.*, 2002 ; Januel, 2003).

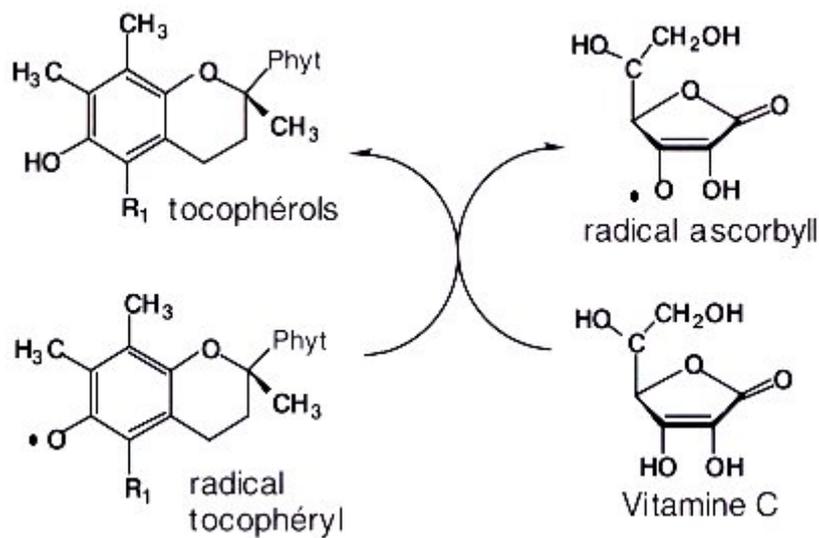


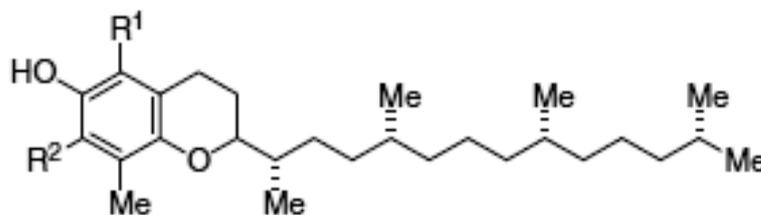
Figure 12 : Rôle de la vitamine C dans la régénération de la vitamine E (Berké *et al.*, 2003).

L'acide ascorbique peut aussi jouer un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres qui sont hautement toxiques pour l'organisme. Il a la capacité de piéger l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'hypochlorite, le radical peroxyde et l'oxygène singulet (Flatland, 2003).

II.1.4.2.5. La vitamine E

La vitamine E désigne sous un terme générique l'ensemble des différents tocophérols et des différents tocotriénols (figure 13) (Pham-Huy *et al.*, 2008). Elle est constituée d'un noyau 6-chromanol sur lequel est fixée une chaîne phytyle entièrement saturée. Les différents tocophérols (α , β , δ et γ) se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le cycle phénolique (Halliwell, 1989). La chaîne aliphatique confère à la vitamine E sa liposolubilité et permet son incorporation dans les membranes cellulaires. La vitamine E est le principal agent antioxydant des membranes cellulaires les protégeant contre les dégradations oxydatives (Halliwell, 1989 ; Di Mascio *et al.*, 1991 ; Ivanov 2008). Elle bloque la chaîne de propagation en captant les radicaux alkoxydes et peroxydes générés lors de la peroxydation et neutralise directement certaines formes radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et l'oxygène singulet (Di Mascio *et al.*, 1991 ; Machlin et Bendich, 1987). Les tocophérols, grâce au groupement hydroxyle de leur cycle aromatique, détruisent les radicaux peroxydes et alkoxydes tout en générant des hydroperoxydes lipidiques (ROOH) et un radical tocophéryl, peu réactif, incapable d'induire de nouvelles réactions

radicalaires (Halliwell, 1989). Le tocophérol peut être régénéré par la vitamine C, le GSH, et l'ubiquinone. L' α - tocophérol est l'isomère le plus abondant et possède l'activité antioxydante la plus forte ; l'ordre d'efficacité des tocophérols est le suivant : $\alpha \geq \beta > \gamma > \delta$ (Di Mascio *et al.*, 1991).



$R^1 = R^2 = \text{Me (CH}_3)$ α - tocophérol

$R^1 = \text{Me, } R^2 = \text{H}$ β - tocophérol

$R^1 = \text{H, } R^2 = \text{Me}$ γ - tocophérol

$R^1 = R^2 = \text{H}$ δ - tocophérol

Figure 13: Structure moléculaire de la vitamine E (Barros *et al.*, 2008).

II.1.4.2.6. Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide formé de cystéine, de glutamate et de glycine dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques (Chow, 1979 ; Carvalho *et al.*, 2004). En situations de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de cosubstrat des GSH peroxydases (Chow, 1979).

II.1.4.2.7. Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno-dépendantes et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines. L'activité antiradicalaire est complétée par ses propriétés immuno-modulatrices. Le sélénium permet de maintenir le pool intra-lymphocytaire de glutathion réduit, ce qui protège la membrane (en particulier les groupements thiols), et permet aux

cellules immuno-compétentes de maintenir leur réponse. Ce rôle protecteur est complété par d'autres fonctions essentielles, telles que son rôle de détoxification des métaux lourds (cadmium, mercure, plomb) qui s'accumulent dans les tissus au cours du vieillissement, ou son effet activateur du métabolisme des xénobiotiques organiques (Roussel et Ferry, 2002 ; Pham-Huy *et al.*, 2008).

III.2. Stress oxydant cellulaire

III.2.1. Qu'est-ce qu'un stress oxydant cellulaire ?

Le stress oxydant est un syndrome au cours duquel les éléments pro-oxydants surpassent les capacités antioxydantes de l'organisme. Il en résulte un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants (Di Mascio *et al.*, 1991). En condition physiologique, le pouvoir oxydant des espèces réactives de l'oxygène est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Cet état d'équilibre permet à l'organisme d'une part, d'assurer une défense anti-infectieuse efficace et de contribuer à la transduction de signaux intracellulaires et d'autre part, d'obvier aux différentes pathologies qui sont directement attelées à ces molécules oxydantes (Wu et Cederbaum, 2003 ; De Moffarts *et al.*, 2005 ; Scandalios, 2005). Le stress oxydatif peut être de courte durée et, par les systèmes antioxydants, limité, avec un retour rapide à un état redox physiologique, ou plus prolongé, avec finalement création d'un nouvel équilibre redox de niveau oxydant plus élevé et permanent, comme celui que l'on peut retrouver dans des pathologies chroniques (Figure 14) (Beaudeau *et al.*, 2006).

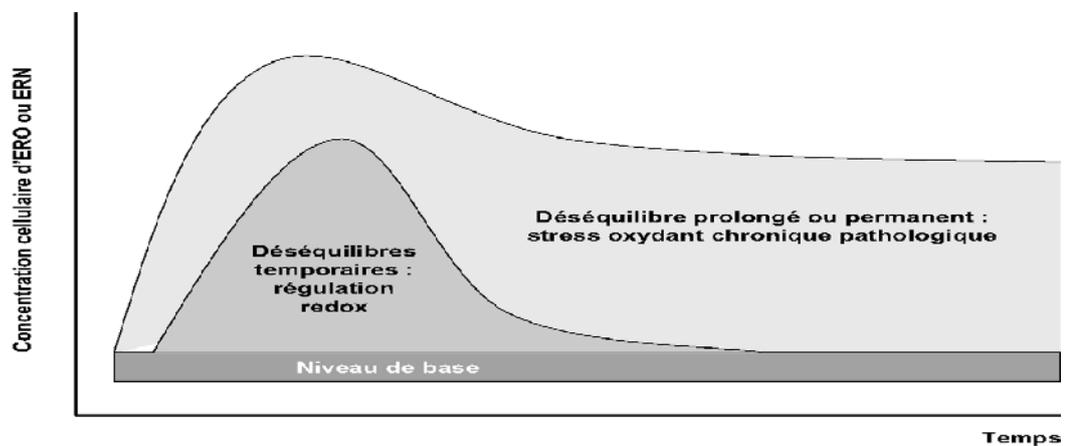


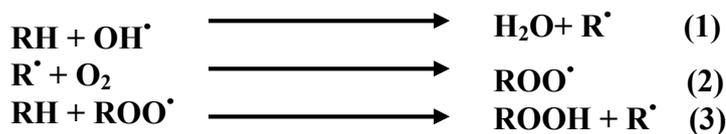
Figure 14 : Modification de l'équilibre redox cellulaire par la production aiguë ou chronique des ERON (Beaudeau *et al.*, 2006).

III.2.2. Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERON

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides.

III.2.2.1. Cibles lipidiques : peroxydation des membranes biologiques

Les ERON peuvent attaquer les lipides et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables, ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane et peut aussi altérer le fonctionnement des protéines membranaires (Koechlin-Ramontxo, 2006).



La peroxydation des lipides est initiée par le radical hydroxyle (figure 15) qui, en arrachant un atome d'hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, forme un radical lipidique (R^\bullet) (radical alkyle) (réaction 1). L'incorporation de l'oxygène sur le radical lipidique conduit à la formation du radical peroxyde (réaction 2) qui en s'associant avec un autre acide gras produit le radical hydroperoxyde lipidique (ROOH) (réaction 3) (Zweier *et al.*, 1987 ; Halliwell, 1989 ; Rolland, 2004) ;

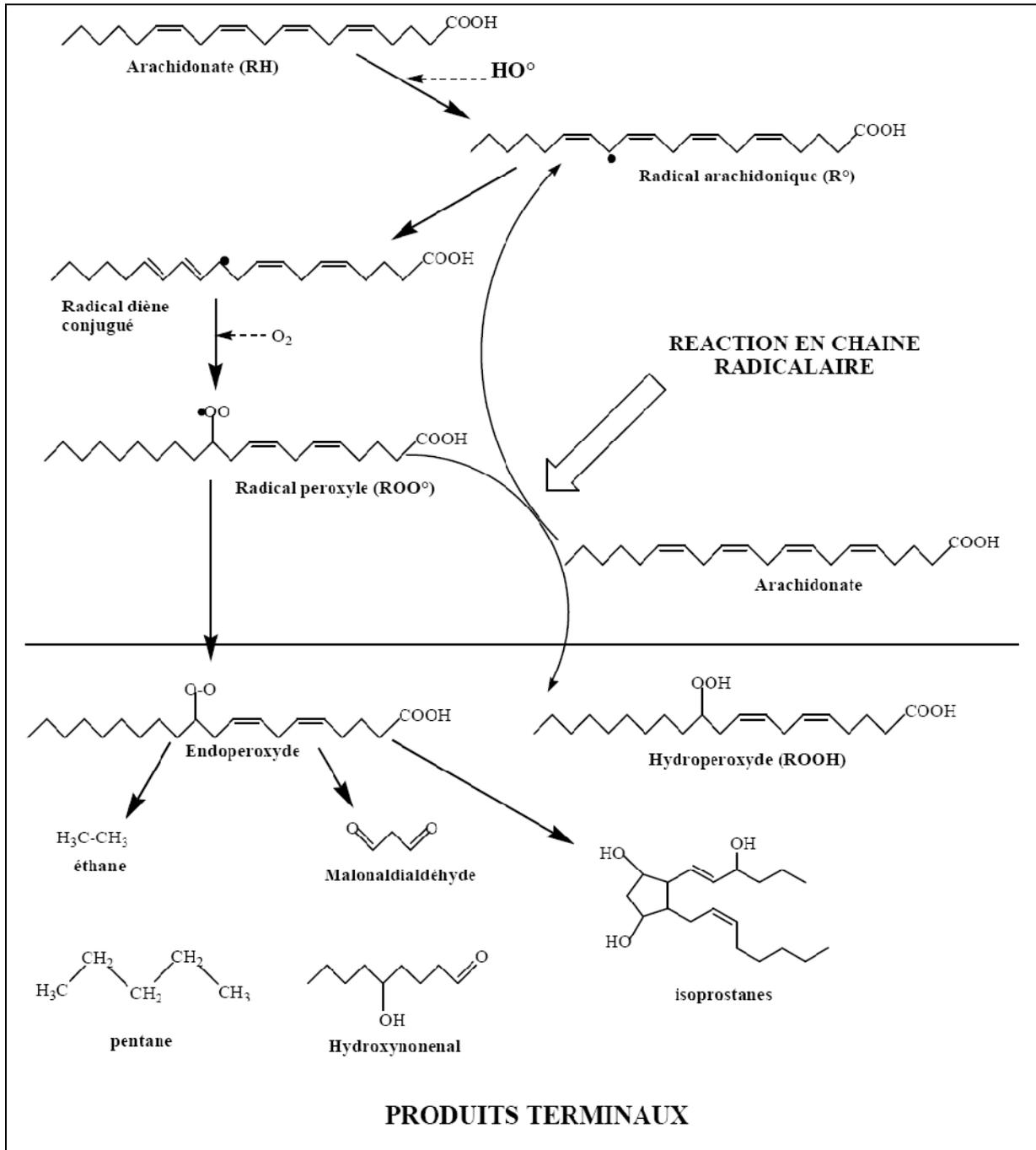


Figure 15 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde lipidique se fractionne toutefois en sous-produits comme la malonaldialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE), l'éthane ou le pentane (Pincemail *et al.*, 1999 ; Morelle-Lauzanne, 2006). Le 4-hydroxynonéal ou le malonaldialdéhyde peuvent former des adduits avec les protéines au niveau des résidus lysine,

histidine ou cystéine, entraînant la formation des pontages intra et inter moléculaires (Favier, 2003 ; Januel, 2003).

III.2.2.2. Cibles non lipidiques

1. Dénaturation des protéines

La toxicité des ERO s'exerce également sur les protéines. Ces molécules actives sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant ainsi leurs fonctions. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, sur lesquels le radical OH° s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (Boisnic et Branchet, 2005). Les radicaux libres, en agissant sur les acides aminés contenant des groupements thiols tels que la cystéine et la méthionine, conduisent à la formation de ponts disulfures et par conséquent l'agrégation de plusieurs molécules de protéines. Ces protéines, même si quelques unes voient leur activité augmenter suite à une oxydation, la plupart deviennent inactives (Ré *et al.*, 2005 ; Koechlin-Ramontxo, 2006).

2. Altération des acides nucléiques

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Les radicaux hydroxyles réagissent avec les bases des acides nucléiques en s'additionnant sur les doubles liaisons. L'action des radicaux hydroxyles sur la guanine (figure 16A) génère deux radicaux libres : R1 (centré sur l'atome de carbone 5) et R2 (centré sur l'atome d'azote 7). Ce dernier (R2) donne naissance à la 8-oxo-guanine, un des principaux marqueurs du stress oxydant dans l'ADN (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Ces attaques des ERO sur les protéines induisent l'apparition de groupements carbonyles, de cystéines oxydées, de fragments peptidiques (détachements d'acides aminés) ou d'agrégats protéiques (Koechlin-Ramontxo, 2006).

Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas réparées entraînent à long terme des altérations géniques (figure 16 B) : cassures chromosomiques, mutations, délétions, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Henrik *et al.*, 1999 ; Gros *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramontxo, 2006).

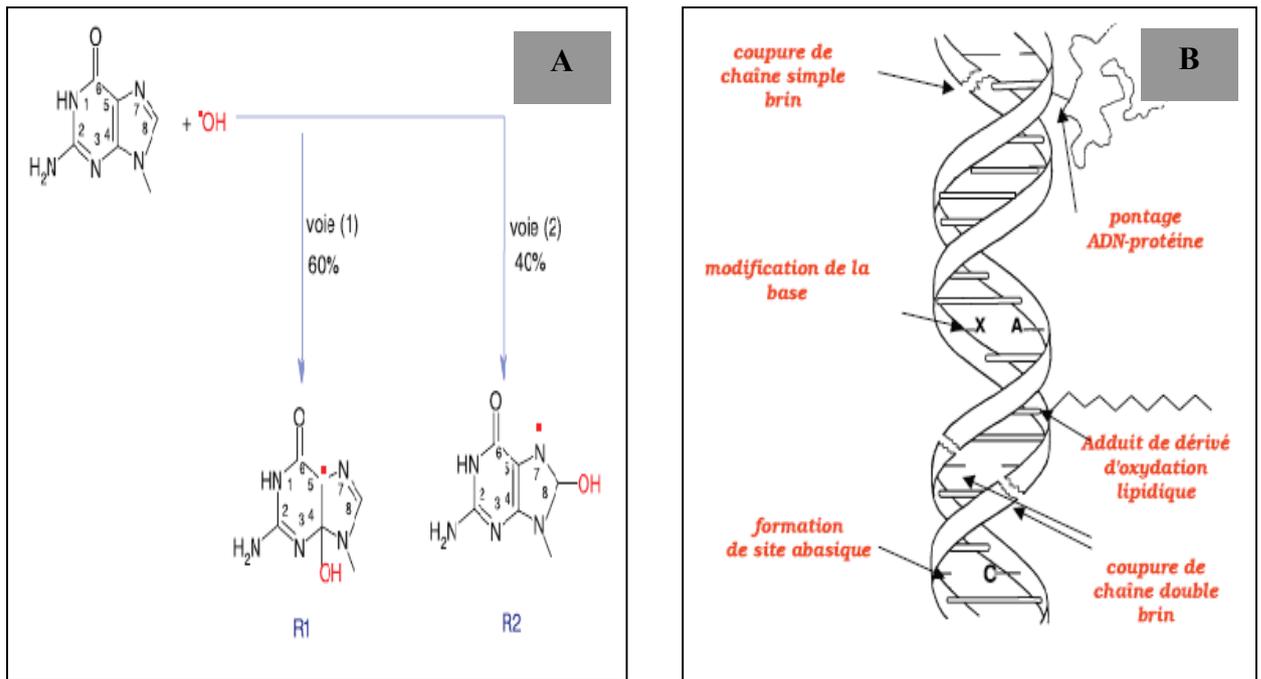


Figure 16 : (A) : Illustration de mode d'action des radicaux hydroxyyles sur la guanine (Gardès-Albert *et al.*, 2003), (B) : lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire (Favier, 2003).

III.2.3. Marqueurs biochimiques et mise en évidence du stress oxydant

La difficulté de mettre en évidence un stress oxydant de façon directe réside dans le fait que les ERON ont une demi-vie extrêmement courte. Les techniques mises en oeuvre afin de doser les radicaux oxygénés sont difficilement réalisables en pratique. Par conséquent, des produits issus des processus d'oxydation, appelés marqueurs biochimiques du stress oxydant, sont utilisés afin de mettre en évidence indirectement le stress oxydant subi par l'organisme (De moffarts *et al.*, 2005 ; Baudin 2006).

La détection spectrophotométrique de la MDA par le test à l'acide thiobarbiturique (TBA) est la méthode la plus ancienne et la plus populaire pour mesurer la peroxydation lipidique. Cette méthode est toutefois sujette à de très nombreux artéfacts dans la mesure où la présence d'hémoglobine dans l'échantillon sanguin ou de fer dans les produits d'analyse interfère avec le test et donne en conséquence des résultats tout-à-fait erronés et peu fiables (Pincemail *et al.*, 1999).

L'utilisation de la TBA est de plus en plus abandonnée au profit d'une méthode de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) qui dose la MDA sous sa forme libre. Néanmoins, la MDA reste un indice peu représentatif de la présence d'une peroxydation

lipidique puisqu'elle ne représente qu'un pourcent des produits de décomposition des peroxydes lipidiques. Plus sensible et beaucoup plus fiable est la mesure d'un autre aldéhyde, le 4-HNE provenant de la dégradation des peroxydes d'acides gras qui se mesure en routine au laboratoire par la méthode HPLC (Pincemail *et al.*, 1999).

Parmi les nombreux métabolites identifiés à partir de l'oxydation de l'ADN, l'un s'est avéré particulièrement intéressant : la 8-hydroxy-désoxyguanosine (8-OH-dG) que l'on peut doser par HPLC avec détection électrochimique à partir de biopsies, de lymphocytes isolés du sang ou encore de l'urine (Baudin, 2006).

Depuis quelques années, les recherches se sont orientées sur les F2-isoprostanes qui se forment suite à l'addition du radical hydroxyle sur une molécule d'acide arachidonique. Ces isoprostanes, dont la prostaglandine 8-épi-PGF 2α est la plus représentative, sont produites dans le sang et sont ensuite excrétées dans l'urine où elles sont dosées par spectrométrie de masse. (Pincemail *et al.*, 1999).

La résonance paramagnétique électronique (RPE) est une méthode spectroscopique qui est considérée comme étant la technique de choix pour la mise en évidence la plus directe possible de radicaux libres comme l'anion superoxyde, le radical hydroxyle ou encore les radicaux de nature lipidique. Cette méthode mesure l'absorption d'énergie produite suite à l'interaction de l'électron libre du radical avec un champ magnétique extérieur produit par de puissants aimants. Cette interaction donne lieu à la formation d'un spectre RPE qui peut être visualisé sur écran d'ordinateur, analysé et éventuellement quantifié (Pincemail *et al.*, 1999).

III.2.4. Pathologies liées au stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales s'intéresse beaucoup au concept de stress oxydatif, en référence à une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygènes toxiques. L'installation de cet état au niveau cellulaire entraîne des lésions directes de molécules biologiques, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides (Joanny Menvielle-Bourg, 2005 ; Morelle-Lauzanne, 2006).

Aujourd'hui, cette forte multiplicité des conséquences médicales de stress oxydant n'a rien de surprenant car, selon les maladies (tableau VI), celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. De plus, La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le

vieillesse diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (Favier, 2003).

Tableau VI: Les principales affections liées à la production des ERON.

Pathologies	Références
Désordres cardiovasculaires	(Zubia <i>et al.</i> , 2007)
Arthrite rhumatoïde	(Joanny Menvielle-Bourg, 2005)
Inflammation chronique	(Zubia <i>et al.</i> , 2007)
Athérosclérose	(Beaudeux <i>et al.</i> , 2006 ; Harrison <i>et al.</i> , 2003)
Maladies d'Alzheimer, de Parkinson	(Desport et Couratier, 2002)
Diabète sucré	(Qujeq et Rezvani, 2007)
Certains cancers	(Roussel et Ferry, 2002)
Cataracte	(Pastre et Prriymenko, 2007)
Dysfonctionnement pulmonaire	(Kumar <i>et al.</i> , 2008)

*Matériels
et méthodes*

I. Echantillonnage

I.1. Site d'étude

La récolte des échantillons est effectuée pendant le mois d'avril 2009 au niveau de la station Ach El Baz ($36^{\circ}51' 15.67''$ N, $4^{\circ} 57'46.65''$ E) située à environ 15 Km à l'ouest de la ville de Béjaia. C'est une station exposée au nord-est et caractérisée par un substrat rocheux et un mode moyennement battu à calme. C'est un site situé loin de tout impact de pollution et avec une activité humaine relativement faible.



Figure 17: Photographie de la station de récolte (Ach El Baz) (Béjaia).

I.2. Récolte du matériel végétal

Les échantillons d'algues ont été récoltés manuellement sur des supports rocheux. Afin de mieux identifier les espèces étudiées, une cueillette soigneuse des végétaux avec leurs crampons fixateurs est primordiale. Les échantillons récoltés ont été placés dans des sacs en plastiques étanches en présence d'une petite quantité d'eau de mer. La récolte des algues est effectuée sur une ceinture de profondeur allant de 10 à 60 cm. La température de l'eau de mer au moment de la récolte est de 20°C tandis que le pH est alcalin (pH 8,02). Au niveau de laboratoire, les algues ont été triées à main pour écarter les plantes épiphytes et les organismes parasites. Les échantillons ainsi triés ont été lavés avec de l'eau afin de se débarrasser des grains sableux agrippés sur les végétaux.

Les photographies, les caractéristiques relatives à la morphologie et la composition pigmentaire de chaque espèce sont récapitulées respectivement dans la figure 18, tableau VII et tableau VIII.



Figure 18: Photographies du matériel végétal.

(A) *Ulva lactuca*, (B) *Enteromorpha intestinalis*, (C) *Cystoseira mediterranea*
(D) *Cystoseira fimbriata*

Tableau VII: Répartition des pigments des plastes dans les différents groupes d'algues.

(● Pigment existant dans le groupe ; ○ Pigment absent dans le groupe)

	Chlorophycophytes	Phéophycophytes	Rhodophycophytes	Références
I. Chlorophylles				
<i>Chlorophylle a</i>	●	●	●	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000 ; De Reviere, 2003)
<i>Chlorophylle b</i>	●	○	○	(Ozenda, 2000 ; De Reviere, 2003)
<i>Chlorophylle c</i>	○	●	○	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000)
<i>Chlorophylle d</i>	○	○	●	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000 ; De Reviere, 2003)
II. Carotènes				
<i>α-Carotène</i>	●	○	●	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000 ; Burtin, 2003)
<i>β-Carotène</i>	●	●	●	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000)
III. Xanthophylles				
<i>Zéaxanthine</i>	●	●	●	(Gayral, 1975 ; Ozenda, 2000)
<i>Fucoxanthine</i>	○	●	○	(Ozenda, 2000 ; Burtin, 2003)
<i>Lutéine</i>	●	○	●	(De Reviere, 2003 ; Burtin, 2003)
<i>Violaxanthine</i>	●	●	●	(Gayral, 1975 ; Burtin, 2003)

Tableau VIII: Caractéristiques morphologiques des espèces récoltées dans la station Ach El Baz (Béjaia).

Embranchement	Station	Nom scientifique	Morphologie des espèces
Chlorophycées	Ach El Baz	<i>Ulva lactuca</i>	<p>1/. Longueur : 7-20 cm 2/. Couleur : verte 3/. Etage : étage médiolittoral 4/. Forme : thalle mince ne comportant que deux couches de cellules</p>
	Ach El Baz	<i>Enteromorpha intestinalis</i>	<p>1/. Longueur: 5-20 cm 2/. Couleur : verte 3/. Etage : partie supérieure de l'étage médiolittoral 4/. Forme : thalle étranglé comme un boyau avec des frondes rappelant l'aspect d'un tube intestinal</p>
Phéophycées	Ach El Baz	<i>Cysoseira fimbriata</i>	<p>1/. Longueur : 10-60 cm 2/. Couleur : brune 3/. Etage : partie supérieure de l'étage médiolittoral 4/. Forme : thalle plat à la base, cylindrique et étroit vers l'extrémité avec de petites vésicules terminées par une petite pointe</p>
	Ach El Baz	<i>Cystoseira mediterranea</i>	<p>1/. Longueur : 10-30 cm 2/. Couleur : brune 3/. Etage : étage médiolittoral 4/. Forme : thalle hérissé de pointes</p>

II. Etude phytochimique

II.1. Teneur en eau

L'humidité des échantillons est déterminée selon la méthode de Van Dijk *et al.* (2006). 5 g de chaque échantillon ont été soumis à la dessiccation à 105° C dans l'étuve jusqu'à stabilisation du poids. La perte de masse a été déterminée par pesée chaque 1 heure. L'humidité des échantillons a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Humidité (\%)} = [1 - (P_1 / P_0)] \times 100$$

Avec ;

P_0 : Poids de l'échantillon avant étuvage (g).

P_1 : Poids de l'échantillon après étuvage (g).

II.2. Dosage des polyphénols totaux

II.2.1. Préparation des extraits

Afin d'extraire les principes actifs des plantes testées, une extraction de type solide-liquide (macération) a été utilisée selon le protocole décrit par Kuda *et al.* (2005). 5 g de l'échantillon broyé dans un mortier sont ajoutés à 50 ml d'éthanol 50% ou d'éthanol 70% ; après une agitation mécanique de 3 heures à température ambiante, le mélange est filtré puis centrifugé pendant 10 minutes à 2220 g. Le surnageant obtenu est récupéré, c'est l'extrait éthanolique.

II.2.2. Détermination des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux est effectué suivant la méthode colorimétrique décrite par Kuda *et al.* (2005) avec quelques modifications. Son principe repose sur le fait que les ions phénolates formés par addition de carbonate de sodium à la solution d'extrait sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu, et comme résultat l'apparition d'une couleur bleuâtre, dont l'intensité reflète la concentration en polyphénols totaux dans les extraits.

200 µl de l'extrait sont ajoutés à 1 ml de réactif de Folin – ciocalteu (1 :10, v/v). Après 3 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (7,5 %) sont additionnées au mélange puis incubés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 760 nm, et la quantité en composés phénoliques totaux est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 g de matière fraîche, en se référant à une courbe étalon établie avec de l'acide gallique

II.3. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes est rendu possible grâce à la formation des complexes : ions d'aluminium (Al^{+3}) – flavonoïdes. Ce remaniement structurel est responsable de l'absorption dans le visible.

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de Djeridane *et al.* (2006). 1 ml de chaque extrait sont additionnées avec le même volume d'une solution de chlorure d'aluminium (2%). Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent de quercétine en mg /100 g de matière fraîche, en se référant à une courbe d'étalonnage.

II.4. Dosage de la chlorophylle *a*, *b* et les caroténoïdes totaux

Le dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes est effectué selon la méthode de Dere *et al.* (1998) ; Abd El Baky *et al.* (2008). C'est une méthode spectrale utilisant des longueurs d'ondes caractéristiques qui correspondent aux absorbances maximales des chlorophylles et des caroténoïdes.

3 g de broyat d'algue sont additionnés à 30 ml d'acétone pur (ou de méthanol). Après ajout de 300 mg de sulfate de magnésium, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 4°C. Le mélange obtenu est filtré puis centrifugé à 5 000 g pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré et les absorbances sont lues à 662, 645 et 470 nm pour les chlorophylles *a*, *b* et les caroténoïdes totaux, respectivement. Dans l'extrait méthanolique, les absorbances sont respectivement lues à 666, 653 et 470 nm pour les chlorophylles *a*, *b* et les caroténoïdes totaux. Les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont calculées en µg/ml selon les formules suivantes : (1), (2) et (3) pour les extraits d'acétones ; (4), (5) et (6) pour les extraits méthanoliques.

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 11,75 A_{662} - 2,350 A_{645} \quad (1)$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 18,61 A_{645} - 3,960 A_{662} \quad (2)$$

$$C_c (\mu\text{g/ml}) = 1000 A_{470} - 2,270 C_a - 81,4 C_b/227 \quad (3)$$

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 15,65 A_{666} - 7,340 A_{653} \quad (4)$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 27,05 A_{653} - 11,21 A_{666} \quad (5)$$

$$C_c (\mu\text{g/ml}) = 1000 A_{470} - 2,860 C_a - 129,2 C_b/245 \quad (6)$$

Où ;

C_a : concentration de chlorophylle *a*;

C_b : concentration de chlorophylle *b* ;

C_c : concentration des caroténoïdes totaux.

III. Etude de l'activité anti-oxydante des extraits de plantes testées

III.1. Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

L'évaluation de l'effet scavenger des extraits de plantes contre le DPPH est rendue possible grâce à la méthode de Kuljarachanan *et al.* (2009) avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur la réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), par don d'atome d'hydrogène ou d'électrons (Singh *et al.*, 2007 ; Sokmen *et al.*, 2004 ; Sharififar *et al.*, 2009).

Un volume de 0,5 ml d'extrait est additionné à 1,5 ml d'une solution de DPPH (60 μ M). Le mélange réactionnel est agité au vortex puis incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 80 minutes. La lecture est réalisée à 517 nm. L'activité scavenger est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH. Elle est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Activité scavenger (\%)} = [A_T - A_E / A_T] \times 100$$

Où;

A_T : absorbance de témoin.

A_E : absorbance de l'échantillon.

III.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité des anti-oxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Blázovics *et al.*, 2003). En solution, cette forme réduite prend une couleur vert -bleue, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Ferreira *et al.*, 2007).

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986) rapportée par Kumar *et al.* (2008). 1 ml de chaque extrait éthanolique est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon de phosphate (0,2 M, PH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$, 1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 2,5 ml d'acide trichloracétique

(10%) sont ajoutés au mélange avant d'être centrifugé à 650 g pendant 10 minutes à température ambiante. 2,5 ml de surnagent sont additionnés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (Fe Cl₃, 0,1%). L'absorbance est lue à 700 nm.

III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

L'évaluation de la capacité scavenger à l'égard de H₂O₂ a été estimée selon la méthode décrite par Benkeblia (2005) avec quelques modifications. 1 ml de chaque extrait éthanolique est additionné à 0,6 ml d'une solution de H₂O₂ (40 mM) préparée dans une solution tampon phosphate (pH 7.4, 0,1M). Après incubation pendant 10 minutes à température ambiante, les absorbances sont lues à 230 nm et le pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène est donné par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du H}_2\text{O}_2 (\%) = [(A_T - A_E) / A_T] \times 100$$

Où;

A_T : absorbance de témoin.

A_E: absorbance de l'échantillon.

IV. Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2003, afin de déterminer les moyennes, les écartypes et les coefficients de corrélation. Les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne ± erreur standard. Pour parvenir à traiter les résultats obtenus, une étude statistique a été réalisée en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur suivie du test LSD (la plus petite différence significative) est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 Fr, afin de mettre en évidence les différences significatives entre les échantillons pour chaque paramètre. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$.

***Résultats
et discussions***

Résultats et discussions

I. Teneur en humidité des plantes étudiées

Les teneurs en eau oscillent d'une plante à une autre de 80,41 à 86,50 %. Le taux le plus élevé en humidité est observé chez les espèces *E. intestinalis* et *C. fimbriata* avec 86,50, 84,39 % respectivement. Les résultats de la teneur en humidité des plantes étudiées sont récapitulés dans le tableau ci après :

Tableau IX: Tableau représentant la teneur en eau des différentes plantes étudiées.

Espèces	Teneurs en humidité (%)
<i>Ulva lactuca</i>	82,06 ± 1,13 ^c
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	86,50 ± 0,44 ^a
<i>Cystoseira mediterranea</i>	80,41 ± 0,39 ^d
<i>Cystoseira fimbriata</i>	84,39 ± 0,77 ^b

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne ± écart type (n=3).

L'analyse statistique effectuée indique l'existence d'une différence significative concernant les teneurs en eau des différentes plantes étudiées ($p < 0,05$). La teneur en eau d'un matériel végétal frais est généralement élevée, quoique variant selon les différents organes : 80 % dans une feuille, 75 % dans une racine et 35 % dans une écorce (Paris et Hurabielle, 1981).

Da Silva *et al.* (2008), dans une étude de détermination de la teneur en humidité et de l'activité de l'eau dans les algues et les poissons par des techniques thermoanalytiques ont obtenu pour les espèces *U. lactuca* (Chlorophycée) et *Padina sp* (Phéophycée) les teneurs en humidité de 76 % et 83,7 % respectivement.

II. Etude phytochimique

II.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus indiquent que les phéophycées (*C. fimbriata* et *C. mediterranea*) présentent le taux le plus important en polyphénols totaux comparativement aux chlorophycées (*U. lactuca* et *E. intestinalis*). Les résultats de la quantification des polyphénols totaux sont illustrés sous forme d'histogrammes ci-dessous (figure 19) :

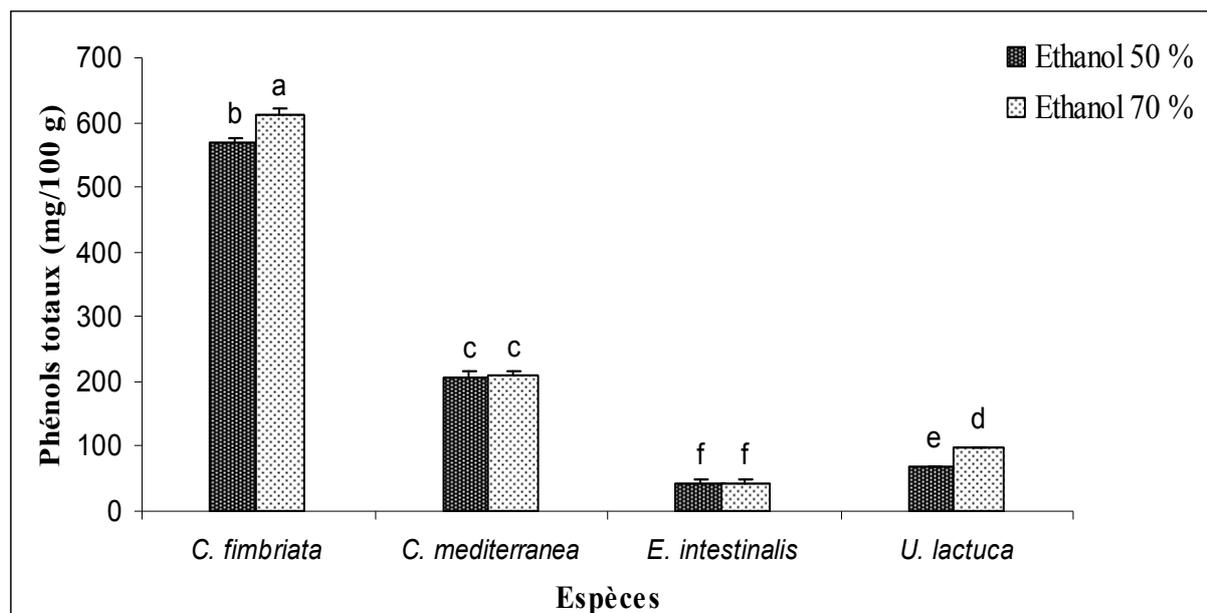


Figure 19: Teneur en polyphénols totaux des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

L'extraction avec de l'éthanol 50% a permis d'obtenir des teneurs en composés phénoliques totaux allant de 569,23 (*C. fimbriata*) à 42,72 mg/100g MF (*E. intestinalis*). Avec l'éthanol 70%, les concentrations sont comprises entre 610,64 (*C. fimbriata*) et 43,04 mg/100g MF (*E. intestinalis*) (figure 20). L'étude statistique indique que les teneurs en composés phénoliques des extraits éthanoliques (EE 50 et EE 70) présentent des différences significatives ($p < 0,05$). Les espèces *C. mediterranea* et *E. intestinalis* sont moins sensibles à l'effet de polarité de solvant, leur teneurs en polyphénols totaux ne présentent pas une différence significative à $p < 0,05$.

Dans une étude réalisée sur l'espèce *U. lactuca* après séchage, Abd El-Baky *et al.* (2008) ont obtenu, dans les extraits dichlorométhane / méthanol, une teneur en composés phénoliques totaux de 460 mg/100g. Les résultats obtenus dans la quantification des polyphénols totaux des phéophycées indiquent un taux accru en polyphénols. Chew *et al.* (2008), dans une étude sur des phéophycées, telles que *Padina antillarum*, *Caulerpa racemosa* et *Kappaphycus alvarezzi* après une extraction avec du méthanol 50% ont obtenu respectivement des teneurs en composés phénoliques de 2430, 144 et 115 mg/100g de matière sèche. Chandini *et al.* (2008), dans une étude réalisée sur des phéophycées corroborent également la richesse de ce groupe d'algues marines en polyphénols.

Les plantes étudiées exhibent des différences de concentration en terme de polyphénols, cette divergence de résultats est probablement tributaire du matériel végétal utilisé dérivant de la

grande diversité structurale des composés phénoliques, rendant impossible une présentation standard d'une technique d'extraction et de dosage de tous les polyphénols (Mattila et Hellström, 2007 ; Sultana *et al.*, 2007; Naczk et Shahidi, 2006).

II.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La figure ci après représente les résultats de la quantité des flavonoïdes totaux des plantes étudiées :

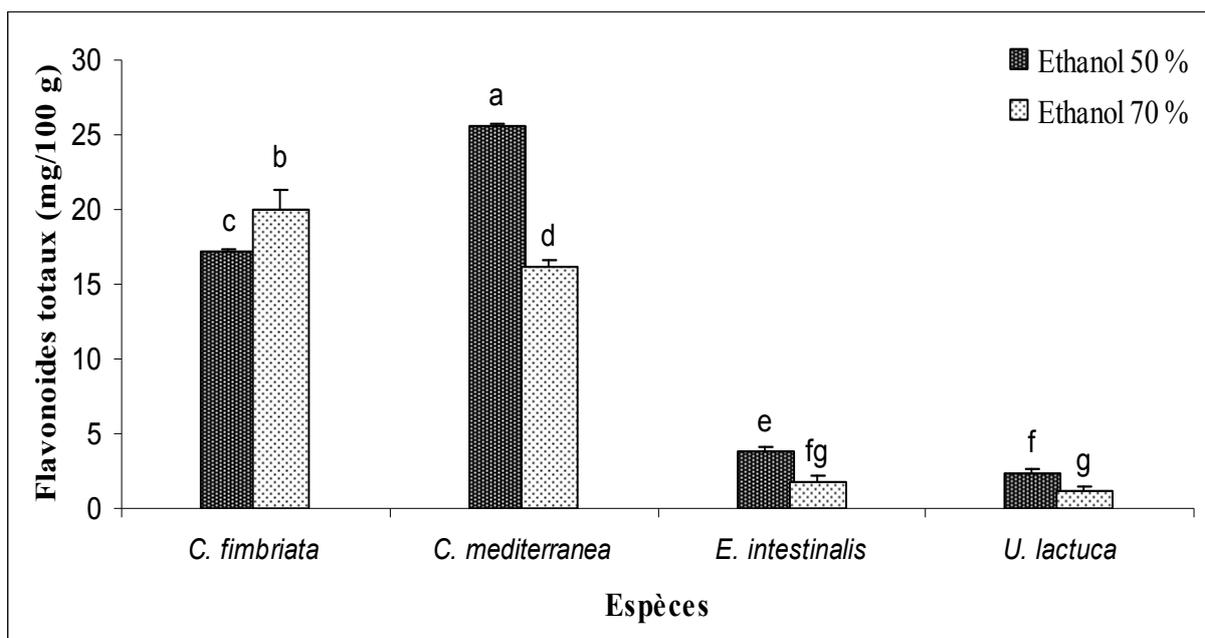


Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

La teneur en flavonoïdes des échantillons d'algues étudiés varie de 2,42 (*U.lactuca*) à 25,56 mg/100g MF (*C.mediterranea*) dans les extraits d'éthanol 50%. Cependant l'extraction avec l'éthanol 70 % a permis d'obtenir des concentrations en flavonoïdes allant de 1,12 (*U.lactuca*) à 20,07 mg/100 g MF (*C.fimbriata*) (figure 21). L'analyse statistique révèle que les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques 50 % et des extraits éthanoliques 70 % sont significativement différentes ($p < 0,05$). Les résultats de dosage des flavonoïdes varient d'une plante à une autre, cette fluctuation est probablement liée à l'espèce utilisée et au caractère hydrosoluble de ces composés (Sultana *et al.*, 2007 ; Falleh *et al.*, 2008).

À l'issu des travaux réalisés sur la quantification des flavonoïdes au niveau des algues, peu d'auteurs évoquent la composition de ces végétaux. Dans une étude récente, Liu *et al.* (2009), ont

pu isoler et identifier deux flavonoïdes (Caylcosine et Liquiritigénine) et deux coumarines (melanettine et stevenine) à partir de l'espèce *Sargassum pallidum* appartenant aux phéophycées.

II.3. Dosage des caroténoïdes totaux

Les résultats de la quantification des caroténoïdes totaux sont illustrés dans la figure 21 :

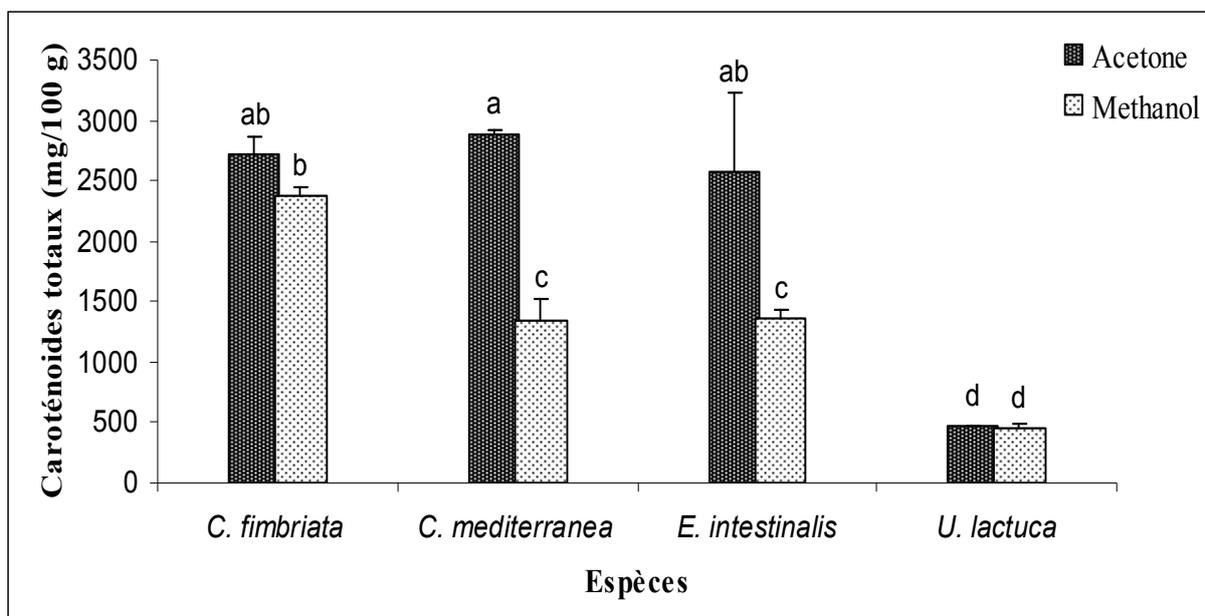


Figure 21: Teneur en caroténoïdes totaux des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

Les proportions en caroténoïdes totaux obtenues varient entre 467,22 (*U.lactuca*) à 2886,97 mg/100g MF (*C.mediterranea*) dans les extraits d'acétone pur. Le méthanol pur, quant à lui a permis d'obtenir des extraits dont les teneurs oscillent entre 453,45 (*U.lactuca*) à 2382,38 mg/100g MF (*C.fimbriata*) (figure 22). L'analyse statistique indique que les teneurs en caroténoïdes totaux des extraits d'acétone ne présentent pas de différences significatives, néanmoins l'espèce *U.lactuca* ($p < 0,05$). L'extraction au méthanol pur a révélé des différences significatives entre les plantes étudiées, l'acétone étant plus extractible que le méthanol.

Dans un extrait de dichlorométhane / méthanol, Abd El-Baky *et al.* (2008) ont obtenu pour l'espèce *U.lactuca* une teneur en caroténoïdes totaux de 1273 mg/100g de matière sèche. Abdel-Kareem (2008) retrouve au niveau de la même espèce une concentration de 554 mg/100g MF ; les espèces *E.intestinalis*, *E.clathrata* et *padina distromatica* ont révélé les teneurs de 1571, 305 et 381 mg/100g MF respectivement, suite à une extraction par un mélange de solvants méthanol : eau : HCl. Dans une étude réalisée sur l'espèce *Ulva rigita*, Dere *et al.* (1998), ont obtenu, dans les

extraits méthanoliques, une teneur en caroténoïdes totaux de 2,08 mg/100g MF ; l'extraction par l'acétone a permis d'obtenir une concentration de 2,06 mg/100g de matière fraîche.

Selon Kopsell D.A. et Kopsell D.E. (2006), la concentration en caroténoïdes d'un tissu végétal dépend en grande partie de l'espèce et des facteurs de croissance environnementaux, tels que la lumière et la température ; la teneur en caroténoïdes d'une plante augmente à maturité puis subit une décroissance graduelle au cours de la sénescence des tissus. Les différences de teneurs en caroténoïdes totaux des échantillons d'algues de notre étude seraient dues aux différences du matériel végétal.

II.4. Dosage des chlorophylles

Les résultats obtenus indiquent, que les algues brunes sont plus riches en chlorophylle *a* comparativement aux algues vertes. La concentration de la chlorophylle *a* des échantillons d'algues analysés varie de 3,3 (*U.lactuca*) à 32 mg/100g MF (*C.mediterranea*) dans les extraits d'acétone, et de 2,39 (*U.lactuca*) à 19,65 mg/100g MF (*C.fimbriata*) dans les extraits de méthanol (tableau X). L'étude statistique des résultats obtenus indique que les teneurs en chlorophylles *a* des extraits de méthanol et d'acétone sont significativement différentes, à l'exception des deux espèces *C.fimbriata* et *C.mediterranea* dans les extraits d'acétone ($p < 0,05$).

En terme de teneur en chlorophylles *b*, les algues vertes enregistrent les valeurs de 2,67 (*U.lactuca*) et 13,35 mg/100g MF (*E.intestinalis*) dans des extraits d'acétone ; l'extraction au méthanol a permis d'obtenir les concentrations de 4,48 (*U.lactuca*) et de 6,74 mg/100g de matière fraîche pour l'espèce *E.intestinalis*. Contrairement aux chlorophycées, les deux espèces *C.fimbriata* et *C.mediterranea* sont révélées dépourvues de chlorophylle *b*. L'analyse statistique des extraits d'acétone et de méthanol nous a révélé l'existence de différences significatives entre les espèces ($p < 0,05$) quant à leurs teneurs en chlorophylles *b*, les espèces *U.lactuca*, *E.intestinalis* font exception avec une extraction au méthanol.

Tableau X: Teneur en chlorophylles *a* et *b* des différentes espèces étudiées (mg/100g MF).

Espèce	Acétone		Méthanol	
	Chl. <i>a</i> ($\lambda = 662$ nm)	Chl. <i>b</i> ($\lambda = 645$ nm)	Chl. <i>a</i> ($\lambda = 666$ nm)	Chl. <i>b</i> ($\lambda = 653$ nm)
<i>U. lactuca</i>	3,30 ± 0,119 ^e	2,67 ± 0,434 ^{c'd'}	2,39±0,024 ^e	4,48±0,062 ^{b'c'}
<i>E. intestinalis</i>	19,18 ± 0,271 ^b	13,35 ± 5,835 ^{a'}	10,40±0,159 ^d	6,74±0,285 ^{b'}
<i>C. mediterranea</i>	32,00 ± 1,145 ^a	ND	16,46±2,912 ^c	ND
<i>C. fimbriata</i>	30,44 ± 2,125 ^a	ND	19,65±0,572 ^b	ND

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne ± écart type (n=3).

* ND : Non Détecté.

Dere *et al.* (1998) ont obtenu à partir d'un extrait d'acétone 100 % de l'espèce *Ulva rigida*, les teneurs de 4,89 et 2,33 mg/100g MF; le méthanol 96 % a permis d'avoir les concentrations 5,46 et 2,41 mg/100g MF de chlorophylles *a* et *b* respectivement. Dans une étude effectuée par Abdel-Kareem (2008), l'extraction de la chlorophylle *a* avec un mélange de solvants méthanol : eau : HCl a donné pour les espèces *U.lactuca*, *E. intestinalis* et *E. clathrata* des teneurs plus élevées estimées de 369, 1192 et 181 mg/100g MF respectivement. Abd El-Baky *et al.* (2008), obtiennent les teneurs de 1764 et 362 mg/100g MS dans des extraits de dichlorométhane : méthanol de l'espèce *U.lactuca*.

Dans la présente étude, les résultats de la quantification des chlorophylles *a* et *b* varient d'une espèce à une autre, Ces fluctuations sont probablement liées à l'espèce et à l'âge de la plante. L'effet de solvant n'est pas épargné, bien que l'acétone soit moins extractible des chlorophylles comparativement au méthanol, nos résultats révèlent que les extraits d'acétone sont notablement plus riches en chlorophylles *a* et *b*, cela peut être expliqué par le fait que le méthanol comme solvant d'extraction, favorise la formation des dérivés de la chlorophylle *a* (Cubas *et al.*, 2008).

La distribution et la teneur en chlorophylles d'une matrice végétale se trouvent souvent dictées par de nombreux facteurs incluant l'espèce et les conditions agro-climatiques (Ferruzzi et Blakeslee, 2007). Le socle structural des chlorophylles est susceptible d'être modifié via des réactions de dégradations médiées par l'action de la lumière, de la température, de l'oxygène et par l'activation des chlorophyllases. Le remplacement de l'ion Mg^{2+} dans les chloropigments par un atome d'hydrogène s'accompagne par la naissance des phéophytines caractérisées par un changement de leur couleur verte claire vers la couleur brune d'olive (Cubas *et al.*, 2008).

III. Etude de l'activité anti-oxydante

III.1. Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

La technique utilisant le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est l'une des méthodes les plus employées pour évaluer l'activité antioxydante (Molyneux, 2004). En raison de son électron célibataire, les solutions de DPPH montrent une couleur violette profonde. En réaction avec des antioxydants, cette couleur violette disparaît et la couleur jaune pure apparaît. La couleur violette correspond à une bande d'absorption à 517 nm, et la diminution de la densité optique à cette longueur d'onde est stoichiométriquement liée à la quantité d'anti-oxydants (Glavind et Holmer, 1967).

Dans notre étude, tous les extraits (100 mg/ml) ont réagi positivement au test antiradicalaire, mais suivant des pourcentages d'inhibitions différents (Figure 22)

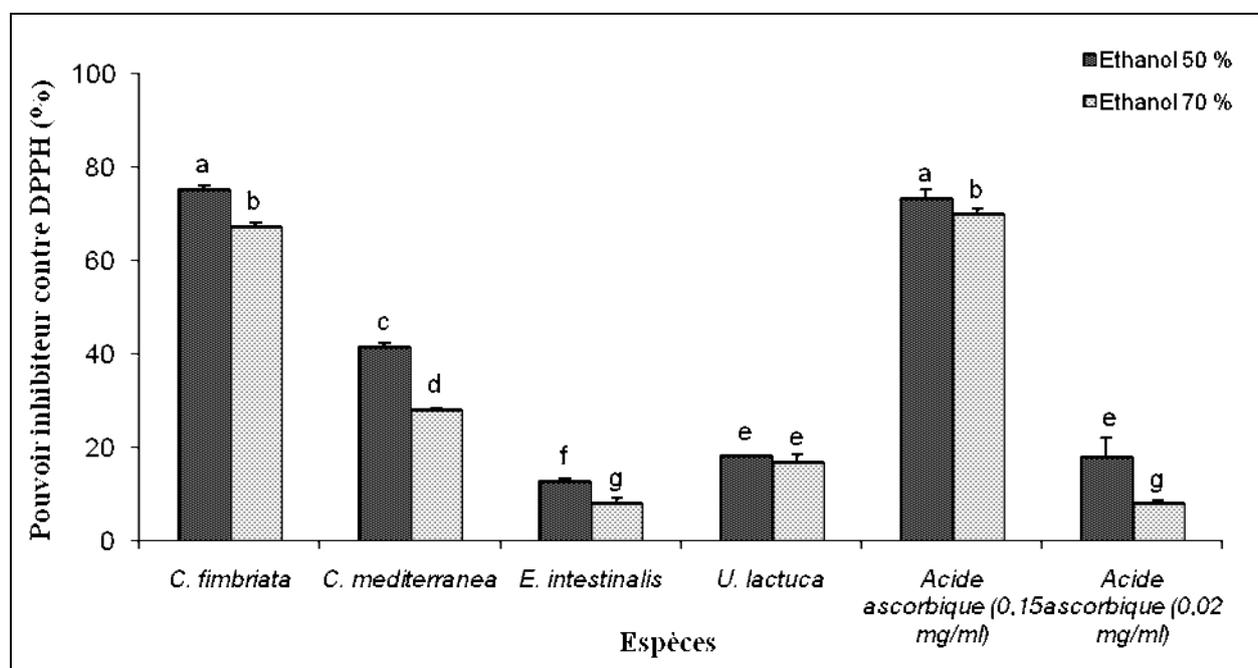


Figure 22: Activité scavenger à l'égard de DPPH des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

Les extraits obtenus avec l'éthanol 50% exhibent des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH allant de 12,64 (*E.intestinalis*) à 75,15 % (*C.fimbriata*). L'extraction par l'éthanol 70% nous a permis d'obtenir des extraits avec un effet scavenger variant de 7,91 à 67,1 % pour les espèces *E.intestinalis* et *C.fimbriata* respectivement. Dans cette étude, l'espèce *C.fimbriata* possède le pouvoir inhibiteur du radical DPPH le plus fort par rapport aux autres espèces étudiées

mais moins important comparant à l'acide ascorbique (0,15 mg/ml). L'analyse statistique concernant l'activité antiradicalaire révèle des différences significatives entre les différentes plantes testées ($p < 0,05$). La variation dans l'activité antiradicalaire est due à la quantité et /ou à la nature des substances antioxydantes présentes dans les extraits des différences espèces.

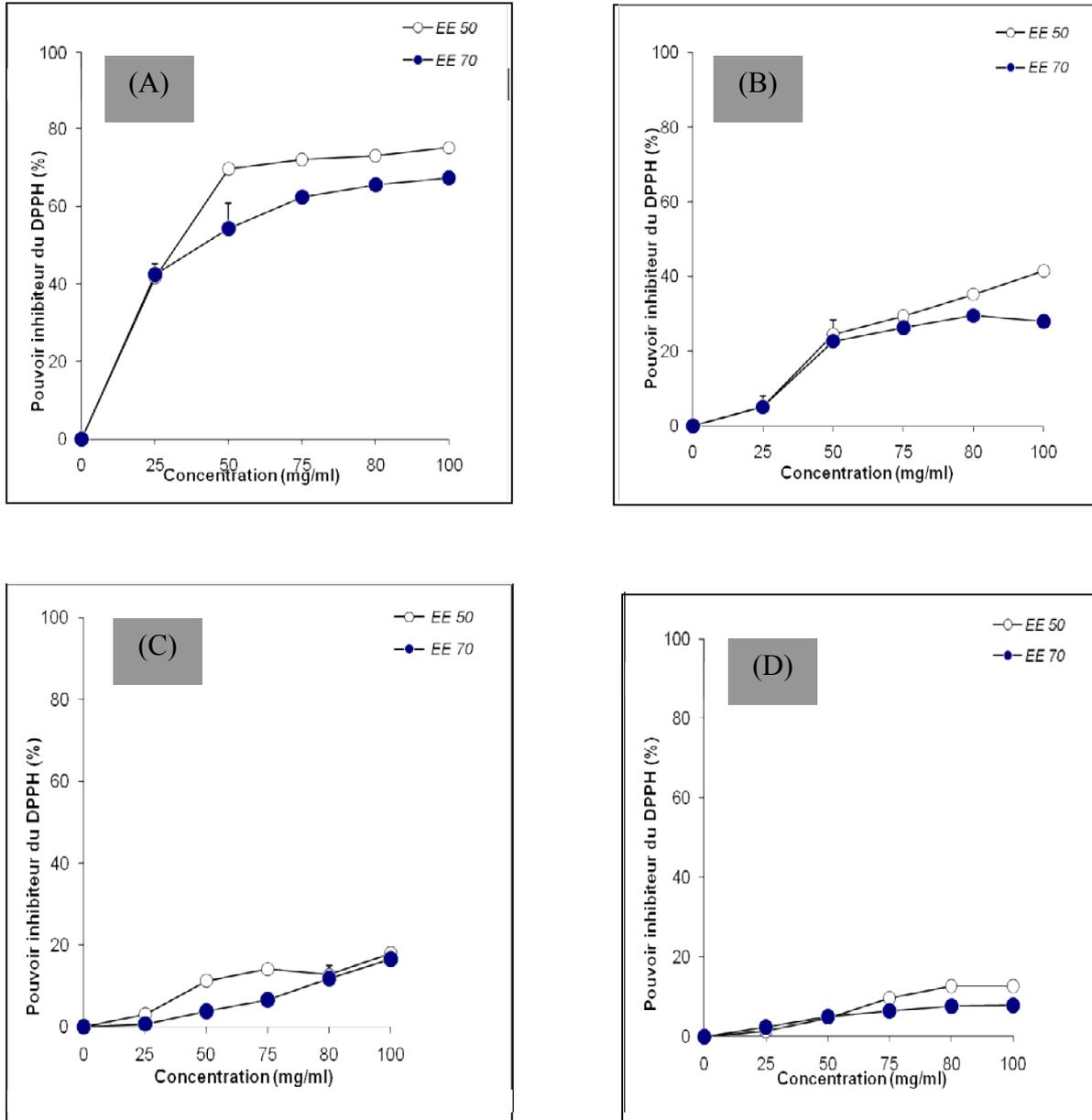


Figure 23: Effet de la concentration sur le potentiel inhibiteur de DPPH (A, *C. fimbriata* ; B, *C. mediterranea* ; C, *U. lactuca* ; D, *E. intestinalis*).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type (n=3).

De nombreux travaux *in vitro* ont pu démontrer une activité antioxydante attrayante des phéophycées. Des algues brunes comme, *Padina tetrastomatica* et *Turbinaria conoides* ont pu exhibé une activité de 14,78 et 17,23 % respectivement pour une concentration de 1000 ug/ml

(Chandini *et al.*, 2008), l'espèce *Sargassum siliquastrum* a montré une activité de 96,75 et 95,55 % pour une concentration de 10 mg/ml dans des extraits d'éthanol et aqueux, respectivement (Cho *et al.*, 2007). Zubia *et al.* (2007) ont constaté que l'espèce *E.intestinalis* possédait une activité antioxydante moins importante que les autres espèces explorées, cela concorde parfaitement avec les résultats obtenus dans notre étude concernant cette espèce. La concentration obtenue pour une inhibition de 50 % du radical DPPH pour un extrait de dichlorométhane : méthanol de l'espèce *U.lactuca* est de 16,50 ug/ml (Abd El Baky *et al.*, 2008).

D'après les résultats obtenus (figure 23), le pouvoir anti-radicalaire est proportionnel à la concentration des extraits, cela va de soit pour les extraits d'éthanol 50 (EE 50) et 70 % (EE 70). Les extraits obtenus avec l'éthanol 50 % présentent un meilleur pouvoir inhibiteur comparant à celui exhibé par les extraits d'éthanol 70 %, et cela est valable pour les différentes plantes étudiées.

Selon Heim *et al.* (2002), la capacité antioxydante est sensiblement affectée par la glycosylation et la O-méthylation des flavonoïdes ; des aglycones comme la genistéine et la daidzeine ont une activité supérieure à celle de leurs dérivés glycosylés. Les différences d'activité antioxydante entre les flavonoïdes polyhydroxylés et polyméthylés sont probablement dues aux différences d'hydrophobicité et de planarité moléculaire.

III.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait de plante s'incarne dans sa capacité à réduire le $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ suite à une donation directe d'électrons. L'addition d'ions de fer ferriques Fe^{3+} au milieu réactionnel conduit à la formation d'un complexe $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]_3$ de couleur bleu-verte et dont l'intensité est attribuable au pouvoir réducteur de chaque extrait de plante (Ribeiro *et al.*, 2008 ; Apak *et al.*, 2008).

L'analyse de la figure 24 montre que le meilleur pouvoir réducteur est celui de la quercétine, antioxydant synthétique, avec une absorbance de 0,87 dans l'éthanol 70 % pour une concentration de 50 mg/ml suivit directement par l'espèce *C.fimbriata* qui enregistre les absorbances de 0,86 et 0,61, respectivement dans les extraits d'éthanol 70 % et d'éthanol 50 % ; l'espèce *E.intestinalis* détient le plus faible pouvoir réducteur avec les absorbances 0,073 et 0,036, respectivement dans les extraits d'éthanol 70 % et d'éthanol 50 %. L'analyse statistique des résultats obtenus révèle des différences significatives des extraits éthanoliques ($p < 0,05$). La figure ci-dessous représente le pouvoir réducteur des extraits de plantes et de la quercétine (50 et 25 ug/ml) ;

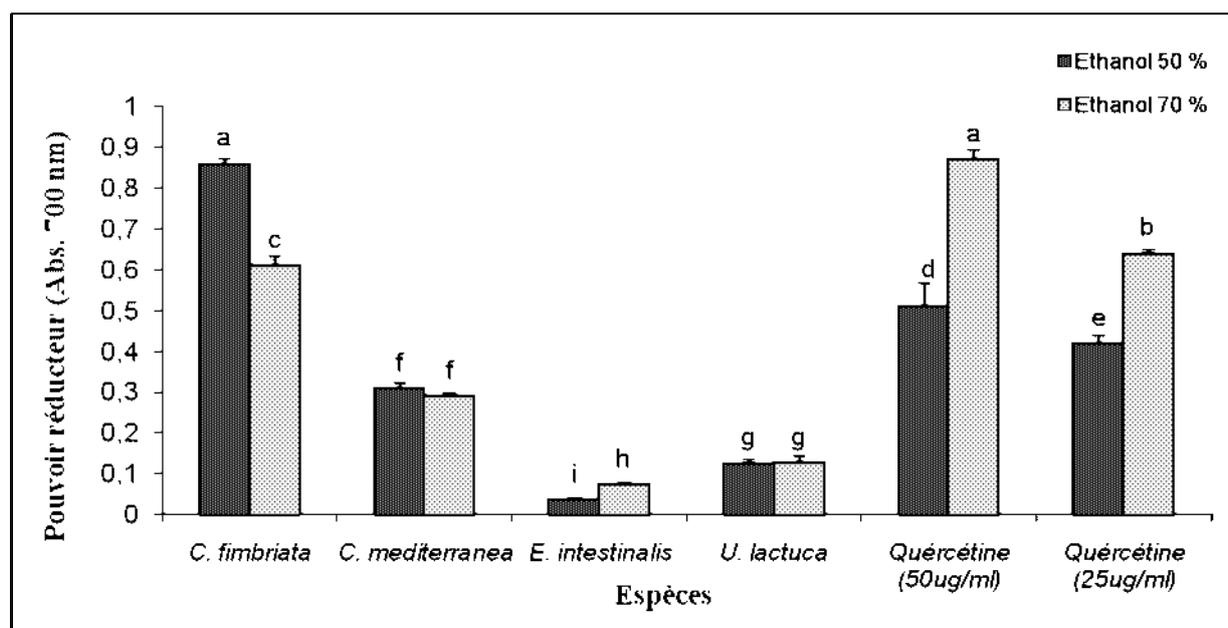


Figure 24: Pouvoir réducteur des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

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

Les positions ortho et para des groupements hydroxyles sont essentielles et très efficaces dans l'établissement de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques, l'organisation spatiale des substituants en position méta est révélée moins importante (Muchuweti *et al.*, 2007).

III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

Afin de mieux rationaliser cette activité antioxydante, et confirmer le potentiel anti-oxydant des différentes espèces étudiées, un troisième test a été utilisé, l'inhibition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le pourcentage d'inhibition de peroxyde d'hydrogène des différentes plantes se trouve récapitulé dans la figure suivante ;

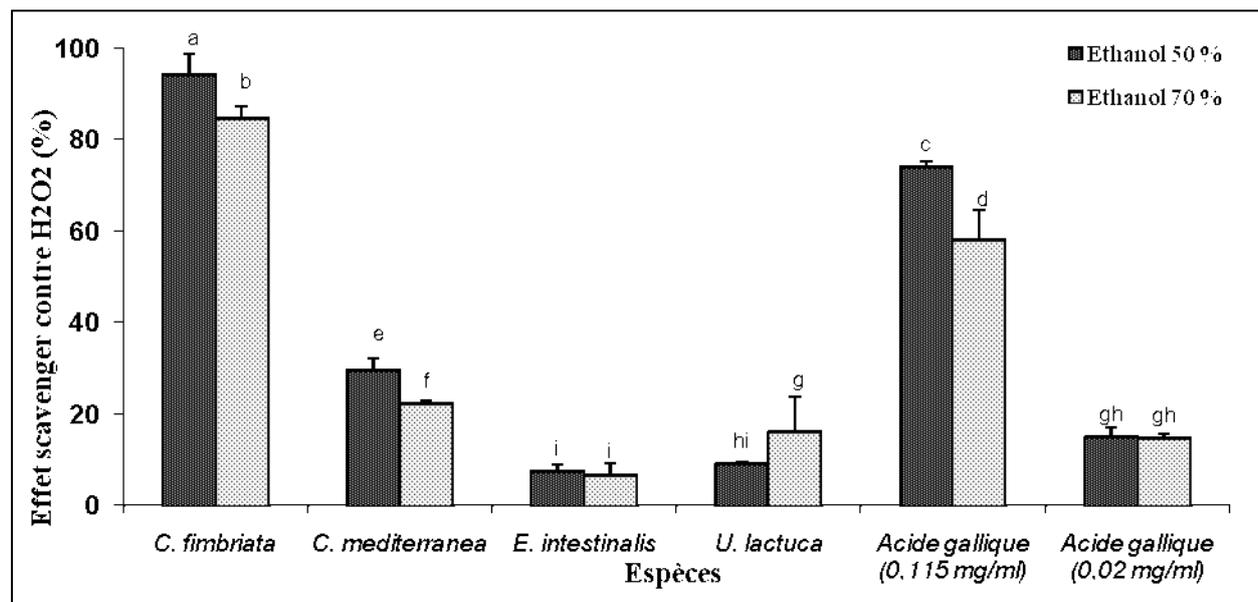


Figure 25: Potentiel d'inhibition de peroxyde d'hydrogène des espèces étudiées.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

* Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type ($n=3$).

La figure 25 montre que la meilleure activité inhibitrice du H_2O_2 est celle de l'espèce *C.fimbriata*, avec 94,01 et 84,47 % dans les extraits d'éthanol 50 et 70 %, respectivement pour une concentration de 100 mg/ml; le plus faible pouvoir inhibiteur de H_2O_2 est attribué à l'espèce *E.intestinalis* avec les pourcentages 6,6 % (extrait éthanologique 70 %) et 7,17 % (extrait éthanologique 50 %).

L'analyse de la figure 25 indique que le pouvoir inhibiteur de H_2O_2 des extraits de plantes suit l'ordre croissant suivant : *E.intestinalis* < *U.lactuca* < *C.mediterranea* < *C.fimbriata*. L'étude statistique révèle un potentiel inhibiteur qui diffère significativement entre les plantes étudiées ($p < 0,05$).

Zubia et ses collaborateurs (2007) ont rapporté que l'activité antioxydante des algues est d'autant importante que ces espèces poussent sur des substrats rocheux affleurant la surface, où elles subissent un stress induit par de nombreux facteurs (forte irradiation, température et dessiccation). Rentrant dans sa stratégie de vie, l'espèce *Enteromorpha ahlneriana*, une espèce stress-susceptible, détient un faible taux d'antioxydants. En effet, il semblerait que cette espèce préfère d'allouer ses ressources d'antioxydants dans la lutte contre les épiphytes plutôt que de les utiliser lors d'un stress oxydatif.

IV. Analyse des corrélations linéaires

Plusieurs auteurs (Djeridane *et al.*, 2006 ; Liu et Yao, 2007 ; Mau *et al.*, 2004 ; Zubia *et al.*, 2007) ont montré que l'activité antioxydante d'un extrait de plante est essentiellement due aux composés phénoliques. L'activité antioxydante des composés phénoliques est souvent associée à leurs propriétés redox, qui leur confèrent une aptitude d'agir comme des donneurs d'hydrogènes ou comme des piègeurs de l'oxygène singulet et triplet (Hayouni *et al.*, 2007 ; Sultana *et al.*, 2007). Hayouni *et al.* (2007), ont montré au cours de leurs travaux effectués sur l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante de deux extraits de plantes une forte contribution des composés phénoliques dans l'établissement de l'activité antioxydante, 76% à 84% de l'activité antioxydante totale.

En effet, les résultats obtenus dans notre étude corroborent et soutiennent l'hypothèse d'une éventuelle relation polyphénols/activité antioxydante, les espèces *C.fimbriata* et *C.mediterranea* qui détiennent les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes présentent les meilleures activités antioxydantes, la faible teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les deux autres espèces, s'est traduite par des activités antioxydantes faibles.

La relation antioxydant / activité antioxydante est confirmée dans la présente étude, par l'existence de bonnes corrélations linéaires positives significatives entre la teneur en composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes totaux) et l'activité antioxydante (réduction du radical DPPH, pouvoir réducteur et inhibition de H₂O₂) (figures 26 et 27). Des corrélations positives modérées sont obtenues entre la teneur en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50%, ceci peut être attribué à la forte présence des flavonoïdes glycosylés, qui détiennent un potentiel antioxydant moins important comparé à leurs formes aglycones (Sultana *et al.*, 2007).

Des corrélations positives très significatives sont également observées entre l'activité anti-radicalaire et le pouvoir réducteur ($r = 0,988$ et $0,989$), l'activité inhibitrice de H₂O₂ et le pouvoir réducteur ($r = 0,993$ et $0,959$), et entre l'activité anti-radicalaire et l'activité inhibitrice de H₂O₂ ($r = 0,976$ et $0,979$) dans les extraits d'éthanol 50% et 70% respectivement (figure 28) ce qui peut expliquer la présence d'antioxydants putatifs exerçant à la fois deux activités antioxydantes.

Dans une étude réalisée sur la détermination de l'activité antioxydante de 11 plantes médicinales, Djeridane *et al.* (2006) ont rapporté que le potentiel antioxydant des composés phénoliques est étroitement associé à leurs structures chimiques, dépendant ainsi du nombre

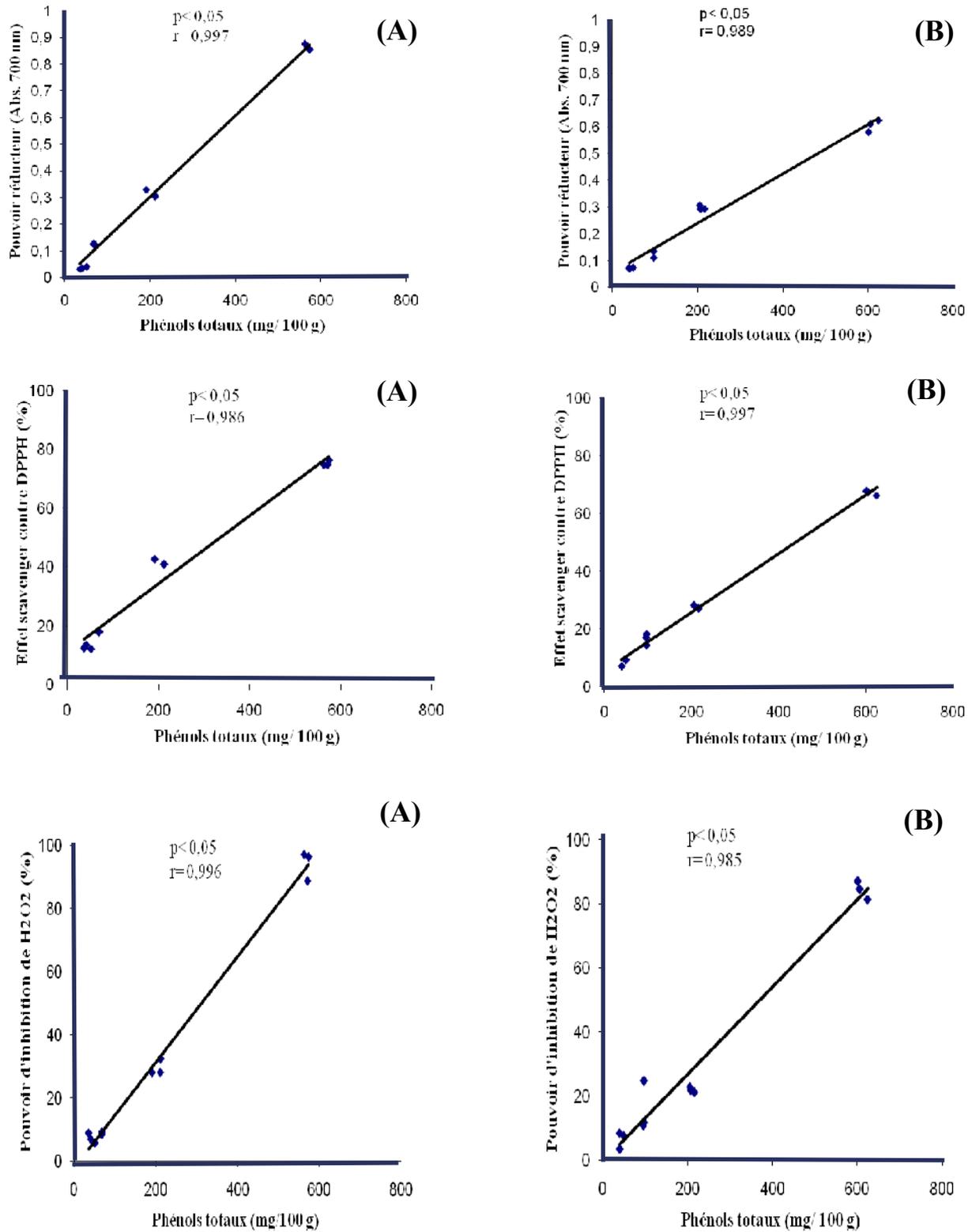


Figure 26: Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % (A) et des extraits d'éthanol 70 % (B).

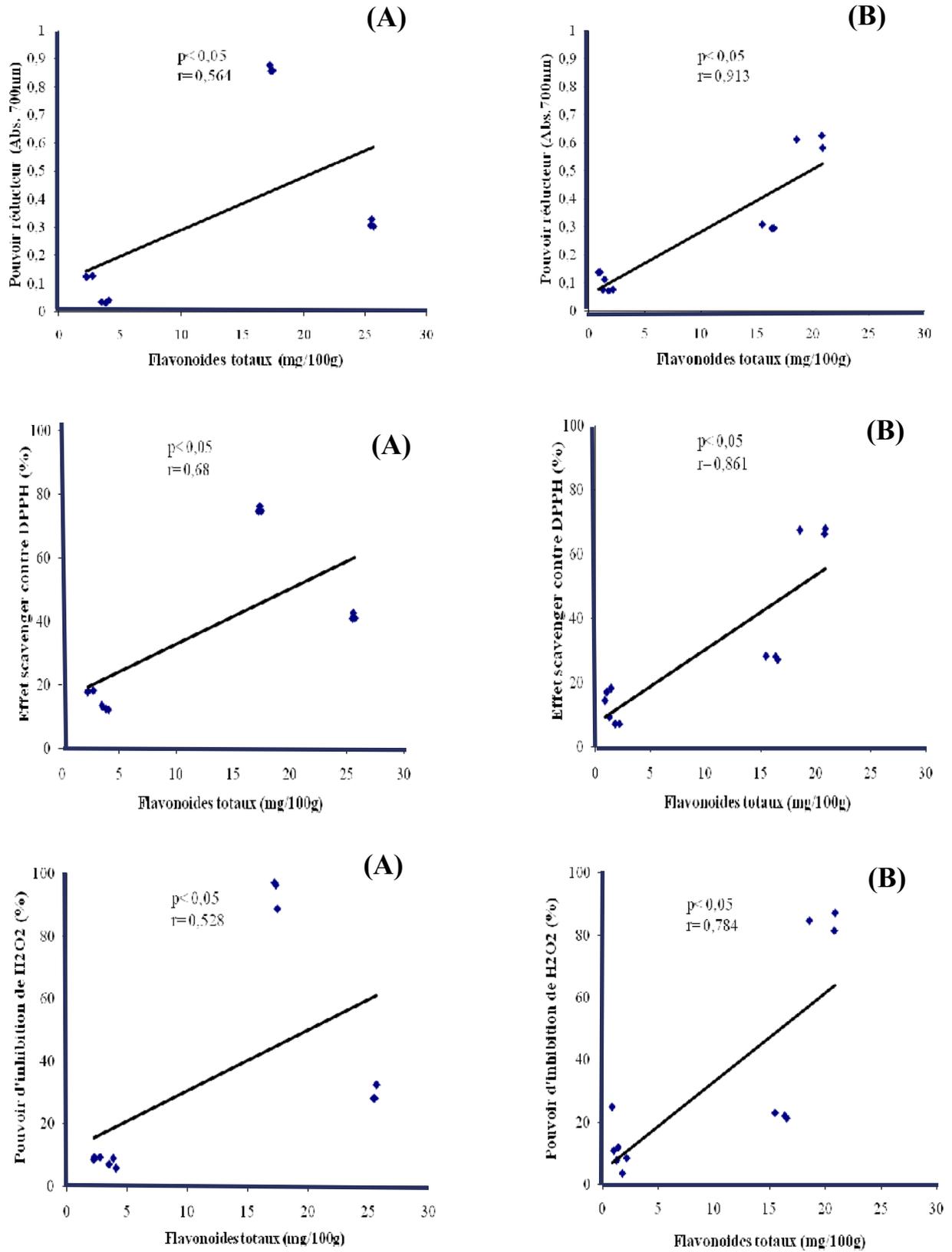


Figure 27: Corrélation entre la teneur en flavonoides totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % (A) et des extraits d'éthanol 70 % (B).

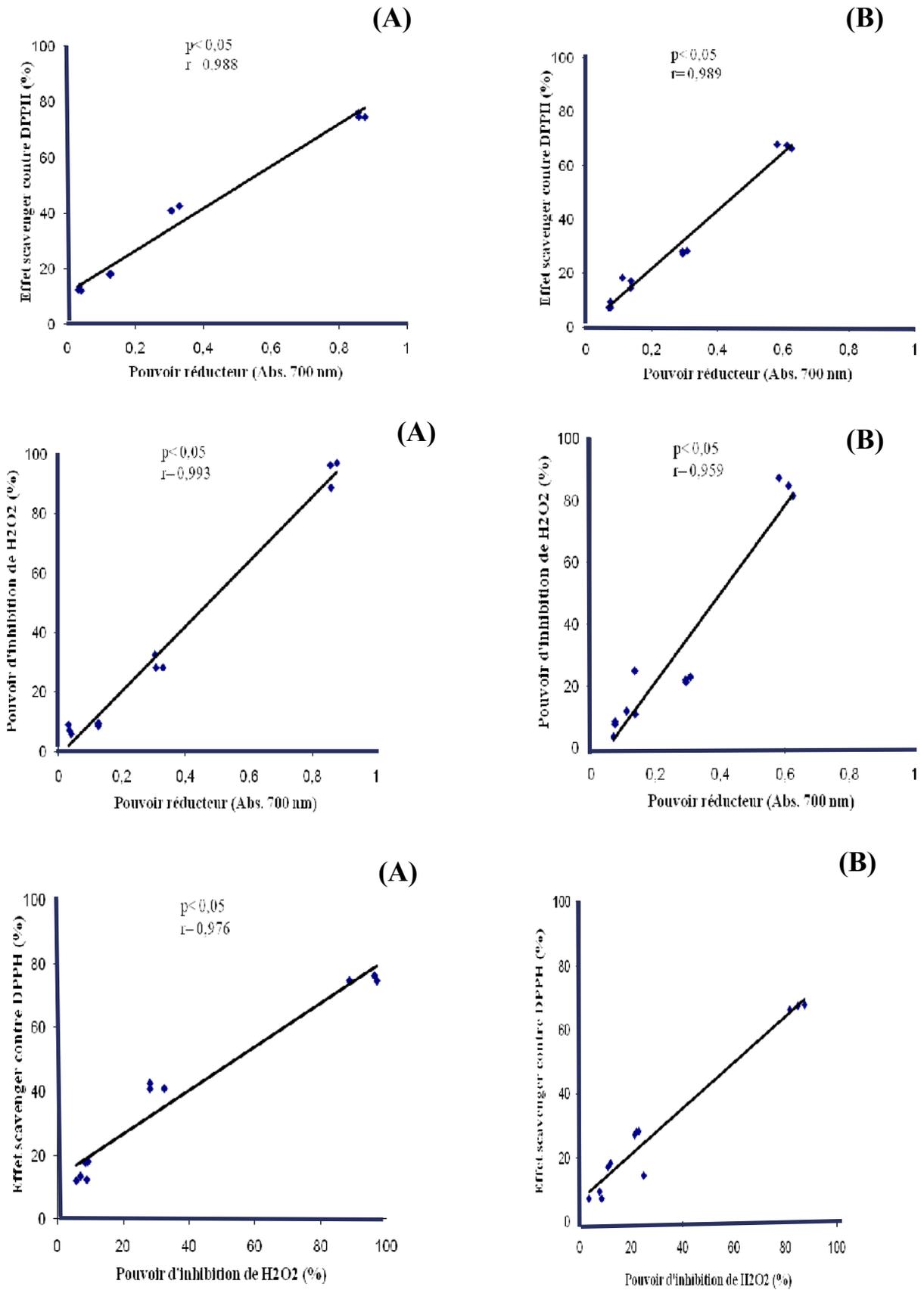


Figure 28: Corrélation entre les différentes activités antioxydantes des extraits d'éthanol 50 % (A) et des extraits d'éthanol 70 % (B).

et de position des groupements hydroxyles agrippés au noyau aromatique de ces molécules. Ces mêmes auteurs ont évoqué le rôle positif du groupement $-CH=CH-COOH$ dans l'établissement de l'activité antioxydante de l'hydroxycinnamate ; il lui procure une grande susceptibilité de céder des atomes d'hydrogènes et une stabilité ultérieure du radical comparé au groupement carboxyles dans les hydroxybenzoates.

Bien que de nombreux auteurs soutiennent la possibilité de l'existence d'une relation composés phénoliques/activité antioxydante, d'autres auteurs affichent une réticence quant à cette éventuelle relation. L'explication la plus rationnelle à cette anomalie est l'éventuelle appartenance de ces molécules à de différentes classes de polyphénols. Ces classes possèdent probablement des forces antioxydantes variables ainsi qu'un effet synergique émanant des liaisons existantes entre eux et/ ou des composants présents dans les extraits de plantes pouvant contribuer à cette activité (Djeridane *et al.*, 2006; Turkmen *et al.*, 2006; Hayouni *et al.*, 2007).

Conclusion

Conclusion

Les différentes recherches dans le domaine pharmaco-médical, sont aujourd'hui focalisées et reconverties vers la source naturelle pour tirer des remèdes qui sont considérés comme 'une force destinée à seconder la nature, car la nature préside aux deux états. Celui de la santé et celui de la maladie'' (Ibn Khaldoun). L'expérimentation moderne a beaucoup insisté pour que, l'utilisation des médicaments ne se fera que lorsque la situation est critique. Et vu tous les effets secondaires engendrés par ces substances, la médecine d'aujourd'hui tend de les remplacer chaque fois que cela est possible par des principes actifs d'origines végétales qui sont biologiquement et physiologiquement adaptés à notre organisme.

La présente étude s'est attelée à une investigation phytochimique de quatre espèces d'algues marines récoltées sur la côte ouest du littoral de Béjaia (station Ach El Baz), par la détermination de leurs teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en caroténoïdes et en chlorophylles et par l'évaluation de leurs activités antioxydantes.

L'étude phytochimique, indique la richesse de l'espèce *C.fimbriata* en composés phénoliques totaux avec une teneur de 610,64 mg /100 g dans l'extrait d'éthanol 70%, comparé aux autres espèces étudiées. Les résultats de la quantification des flavonoïdes totaux révèlent des teneurs appréciables pour les espèces *C.mediterranea* et *C.fimbriata* avec des valeurs de 25,56 et 20,06 mg/100g respectivement dans des extraits d'éthanol 50% et 70%. Le dosage des caroténoïdes totaux indique la richesse des espèces *C.mediterranea*, *C.fimbriata* et *E.intestinalis* avec des teneurs respectives de 2886,97, 2714,92 et 2578,34 mg/100g dans des extraits d'acétone. La quantification des chlorophylles révèle la richesse des espèces *C.mediterranea* et *C.fimbriata* en chlorophylles *a* (32 et 30,44 mg /100 g); la teneur en chlorophylles *b* est très importante chez l'espèce *E.intestinalis* avec une valeur de 13,35 mg/100 g suite à une extraction à l'acétone.

L'évaluation de l'activité antiradicalaire, du pouvoir réducteur et de l'inhibition du H₂O₂ ont révélé que la meilleure activité antioxydante est celle de l'espèce *C.fimbriata* comparé aux autres espèces étudiées. La richesse de l'espèce *C.fimbriata* en polyphénols et en flavonoïdes totaux s'est traduite par un fort potentiel antioxydant.

A partir des différentes corrélations, il s'est avéré que l'activité antioxydante des extraits des quatre espèces étudiées est étroitement liée à leurs teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux en exprimant des facteurs de corrélation positifs. L'établissement des

corrélations entre les différentes activités antioxydantes a révélé de bonnes corrélations avec des coefficients de corrélations positifs oscillant de 0,959 à 0,993.

Nous concluons à partir de cette étude que les extraits des quatre plantes constituent une source inestimable en divers composés phénoliques doués d'activité antioxydante, ce qui explique et justifie le recours accru de certaines populations vers l'exploitation et l'utilisation de ces végétaux de mer dans leurs habitudes quotidiennes, que se soient diététiques ou thérapeutiques. Cependant et malgré leur importance, ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur ces plantes s'imposent aux niveaux pharmacologiques et chimiques, car Les approches sont restées globales en ne prenant en compte que l'ensemble des composés présents dans les extraits. Il serait donc essentiel, à l'avenir de préciser la nature des composés phénoliques, en utilisant des méthodes plus poussées telles que l'HPLC, la GC-MS et la RMN. Il serait aussi intéressant de tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests pharmacologiques *in vivo*. En sus, la mise en évidence des effets cytotoxiques de ces composés est une impérative qui nécessite d'être vérifiée. Finalement, il est également recommandé d'associer l'extraction solide-liquides à d'autres procédés, physiques (sonication), ou chimique (traitements alcalin), afin de maximiser et d'optimiser le taux d'extraction des antioxydants (polyphénols, caroténoïdes, chlorophylles,...etc.) dans les matrices végétales qui, d'après certains auteurs (Koivikko *et al.*, 2008), sont fortement ancrés aux parois cellulaires, ce qui rend par conséquent leur extraction difficile, d'où la nécessité de s'appuyer sur ce type de traitements au cours d'extraction de matériaux biologiques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abd El-Baky H. H., El Baz F. K. et El Baroty G. S. 2008. Evaluation of Marine Alga *Ulva lactuca* L. as A Source of Natural Preservative Ingredient. American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci.3 (3): 434-444.
- Abdel-Kareem M.S.M. 2008. UV-Absorbing Pigments from Some Saudi-Arabian Algal Species. International Journal of Botany. 4 (4): 361-368.
- Aboul-Enein A.M. et El Baz F.K. 2003. Antioxidant Activity of Algal Extracts on Lipid Peroxidation. J.Med.Sci. 3 (1): 87-98.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. et Lomri A. 2007. Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme 74: 636-643.
- Akhtar P. et Sultana V. 2002. Biochemical studies of some seaweed species from Karachi coast. Rec. Zool. Surv. Pakistan. 14: 1-4.
- Alper G., Sözmen E.Y., Lütfiye K., Menten G., Ersöz B. et Kutay F.Z. 1998. Age-Related Alterations in Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Rat Brain. Tr. J. of Medical Sciences 28: 491-494.
- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I. et Özyurt D. 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Molecules.12: 1496-1547.
- Baker G.L., Corry R.J. et Autor A.P. 1985. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. Ann. Surg. 202 (5):628-641.
- Barouki R. 2006. Stress oxydant et vieillissement. Médecine/Sciences. 22 : 266-72.
- Balasundram N., Sundram K. et Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99: 191-203.
- Balsanti L. et Gualtieri P. 2006. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. Edition CRC Press, Taylor and Francis Group. Pp. 2-3.
- Barros L., Correia D.M., Ferreira I.C.F.R., Baptista P. et Santos-Buelga C. 2008. Optimization of the determination of tocopherols in *Agaricus* sp. Edible mushrooms by a normal phase liquid chromatographic method. Food Chemistry. 110 : 1046-1050.
- Baudin B. 2006. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. Revue Mt cardio. 2 (1) : 43-52.

- Beaudeau J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. et Peynet J. 2006. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée*. 21 : 144–150.
- Benkabilia N. 2005. Free-Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Properties of Some Selected Onions (*Allium cepa* L.) and Garlic (*Allium sativum* L.) Extracts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48 (5):753-759.
- Berkè B., Vauzour D., Castagnino C., Arnaudinaud V., Nay B., Chèze C. et Vercauteren J. 2003. Vin et santé: Découvertes récentes. *Journal de Pharmacie de Belgique*. 58 (3) : 57-74.
- Bézanger B., Pinkas M., Totck M. et Trotin F. 1980. Les plantes médicinales des régions tempérées. Edition Maloine. Pp 12-13.
- Blázovics A., Lugasi A., Szentmihályi K. et Kéry A. 2003. Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum tectorum* in vitro and in vivo. *Acta Biologica Szegediensis*. 47(1-4):99-102.
- Boisnic S. et Branchet M.C. 2005. Vieillesse cutané chronologique Cutaneous chronologic aging. *EMC-Dermatologie Cosmétologie*. 2 : 232–241.
- Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudeau J.L., Thérond P., Legrand A. et Delattre J. 2002. Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme* 16 : 260–267.
- Burtin P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem*. 2 (4): 498-503.
- Cardozo K.H.M., Guaratini T., Barros M.P., Falcão V.R., Tonon A.P., Lopes N.P., Campos S., Torres M.A., Souza A.O., Colepicolo P. et Pinto E. 2007. Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 146: 60–78.
- Carvalho A.M., Neto A.M.P., Tonon A.P., Pinto E., Cardozo K.H.M., Brigagão M.R.P.L., Barros M.P., Torres M.A., Magalhães P., Campos S.C.G., Guaratini T., Sigaud-Kutner T.C.S., Falcão V.R. et Colepicolo P. 2004. Circadian protection against oxidative stress in marine algae. *Hypnos*. 1 (1): 142-157.
- Cemeli E., Baumgartner A. et Anderson D. 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research*. 681: 51–67.
- Chandini S.C., Ganesan P. et Bhaskar N. 2008. *In vitro* antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*. 107:707–713.
- Chew Y.L., Lim Y.Y., Omar M. et Khoo K.S. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*. 41: 1067–1072.
- Chira K., Suh J.H., Saucier C. et Teissède P.L. 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6: 75-82.

- Cho S.H., Kang S.E., Cho J.Y., Kim A.R., Park S.M., Hong Y.K. et Ahn D.H. 2007. The Antioxidant Properties of Brown Seaweed (*Sargassum siliquastrum*) Extracts. *J Med Food*. 10 (3): 479–485.
- Chow C.K. 1979. Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 32:1066-1081.
- Cormaci M. et Furnari G. 2005. Guida alle alghe dell'Area Marina Protetta'' Isole Ciclopi''. Area Marina Protetta Isole Ciclopi. P. 10.
- Cubas C., Lobo M.G. et González M. 2008. Optimization of the extraction of chlorophylls in green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by N, N-dimethylformamide using response surface methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21: 125–133.
- Da Silva V.M., Silva L.A., De Andrade J.B., Da Cunha Veloso M.C. et Gislaine Vieira Santos G.V. 2008. Determination of moisture content and water activity in algae and fish by thermoanalytical techniques. *Quim. Nov.* 31 (4): 901-905.
- Dejean-Arrecgros J. et Pierre J.F. 1977. Je découvre les algues marines et d'eaux douces. Edition André Leson. Pp 32-33.
- De moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J. et Lekeux P. 2005. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd. Vét.* 149 :1-9.
- De Reviers B. 2002. Biologie et phylogénie des algues, Tome 1. Edition Belin. Pp 48-49.
- Derbel S. et Ghedira K. 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 1: 28-34.
- Dere ş., Günes T. et Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Tr. J. of Botany*. 22:13-17.
- Desmettre T. et Lecerf J.M. 2005. Nutrition et dégénérescences maculaires liées à l'âge. *EMC-Ophtalmologie*. 2: 202–217.
- Desport J.C. et Couratier P. 2002. Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16 :253–259.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654–660.
- Donadieu Y. et Basire J. 1985. Les algues : thérapeutiques naturelles. Edition Maloine. Pp. 36-40.
- Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M. et Wang B.G. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*. 95:37–43.

- Dummermuth A.L., Karsten U., Fisch K.M., König G.M. et C. Wiencke C. 2003. Responses of marine macroalgae to hydrogen-peroxide stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 289 :103– 121.
- Di Mascio P., Murphy E. M. et Sies H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*. 53:194-200.
- El-Agamey A., Lowe G.M., McGarvey D.J., Alan Mortensen A., Phillip D.M., Truscott T.G. et Young A.J. 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 430:37–48.
- Eryaman E., Işiksaçan V., Şaroğlu M., Gülanber G. et Işiksaçan N. 1999. Free Oxygen Radicals and Flap Survival. *Turk Arch ORL*. 37(3-4): 79-83.
- Es-Safi N., Kollmann A., Khlifi S. et Ducrot P.H. 2007. Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L., structure–activity relationship. *LWT*. 40:1246–1252.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche: méditerranée et mer noire zone de pêche 37. CEE; FAO. Pp. 5-22.
- Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.108-115.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K, Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372-379.
- Fernandes T.M., Gomes B.B. et Lanfer-Marquez U.M. 2007. Apparent absorption of chlorophyll from spinach in an assay with dogs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8 : 426–432.
- Ferruzzi M.G. et Blakeslee J. 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*.27 : 1– 12.
- Ganesan P., Kumar C.S. et Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*. 99:2717–2723.
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D. 2003. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. 91-96.
- Gayral P. 1975. Les algues : morphologie, cytologie, reproduction et écologie. Edition Doin. Pp 7,55.
- Genestra M., Guedes-Silva D., Souza W.J.S., Cysne-Finkelstein L., Soares-Bezerra R.J., Monteiro F.P. et Leon L.L. 2006. Nitric Oxide Synthase (NOS) Characterization in *Leishmania amazonensis* Axenic Amastigotes. *Archives of Medical Research* .37 :328-333.

- Glavind J. et Holmer G. 1967. Thin-Layer Chromatographic Determination of Antioxidants by the Stable Free Radical α,α' -Diphenyl- β -picrylhydrazyl. The journal of the American Oil Chemists' Society. 44: 539-542.
- Godber B.L.J., Doel J.J., Durgan J., Eisenthal R. et Harrison R. 2000. A new route to peroxynitrite: a role for xanthine oxidoreductase. FEBS Letters. 475 : 93-96.
- Gros L., Saparbaev M.K. et Laval J. 2002. Enzymology of the repair of free radicals-induced DNA damage. Oncogene. 21 : 8905-8925.
- Guignard J.-L. 1979. Abrégé de biochimie végétale. Edition Masson. Pp.19-21.
- Halliwell B. 1989. Tell me about free radicals, doctor: a review. Journal of the Royal Society of Medicine. 82:747-752.
- Hames B.D., Hooper N.M. et Houghton J.D. 2000. L'essentiel en biochimie. Edition BERTI. Pp. 379-380.
- Harrison D., Griendling K.K., Landmesser U., Hornig B. et Drexler H. 2003. Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. Am J Cardiol. 91:7-11.
- Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry. 105: 1126-1134.
- Heim K.E., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. Journal of Nutritional Biochemistry. 13 : 572-584.
- Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 1: 3-6.
- Heo S.J., Park E.J., Lee K.W. et Jeon Y.J. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. Bioresource Technology. 96:1613-1623.
- Huang S.C., Hung C.F., Wu W.B. et Chen B.H. 2008. Determination of chlorophylls and their derivatives in *Gynostemma pentaphyllum* Makino by liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 48: 105-112.
- Iqbal K., Khan A. et Khan Khattak M.M.A. 2004. Biological Significance of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Human Health – A Review. Pakistan Journal of Nutrition. 3 (1): 5-13.
- Ferreira I.C.F.R., Baptista P., Vilas-Boas M. et Barros L. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. Food Chemistry. 100:1511-1516.

- Ismail A. et Hong T.S. 2002. Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal J Nutr.* 8 (2): 167-177.
- Ivanov I. 2008. Free radicals and cares for aging pets. *Trakia Journal of Sciences.* 6 (1): 152-154.
- Januel C. 2003. Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète : Etude de glutathion et de la glutathion peroxydase 4 (Thèse de doctorat). Pp. 44-50.
- Jayaraj J., Wan A., Rahman M. et Punja Z.K. 2008. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Protection.* 27: 1360-1366.
- Johnson F. et Giulivi C. 2005. Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Molecular Aspects of Medicine.* 26: 340-352.
- Jubert C. et Bailey G. 2007. Isolation of chlorophylls *a* and *b* from spinach by counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A.* 1140 : 95–100.
- Kalpakcioglu B. et Şenel K. 2008. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 27:141–145.
- Kamenarska Z., Gasic M.J., Zlatovic M., Rasovic A., Sladic D., Kljajic Z., Stefanov K., Seizova K., Najdenski H., Kujumgiev A., Tsvetkov I. et Popov S. 2002. Chemical Composition of the Brown Alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea. *Botanica Marina.* 45 : 339–345.
- Knoepffler-peguy M. 1973. Croissance et développement de *Cystoseira* (Phaeophyceae-Fucales) méditerranéens : Essais de cultures en mer. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* 24 : 476-489.
- Koehlin-Ramonatxo C. 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20: 165–177.
- Koivikko R. 2008. Brown algal phlorotannins improving and applying chemical methods. *Annales Universitatis Turkuensis.* P 2.
- Kopsell D.A. et Kopsell D.E. 2006. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. *TRENDS in Plant Science.* 11 (10): 499-507.
- Kuda T., Tsunekawa M., Goto H. et Araki Y. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis.* 18 : 625–633.
- Kuljarachanan T., Devahastin S. et Chiewchan N. 2009. Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. *Food Chemistry.* 113 : 944–949.

- Kumar K.S., Ganesan K. et Subba Rao P.V. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. *Food Chemistry*. 107 : 289–295.
- Lanfer-Marquez U.M., Barros R.M.C. et Sinnecker P. 2005. Antioxydante activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*. 38: 885-891.
- Liu X., Wang C.Y., Shao C.L., Wei Y.X., Wang B.Y., Sun L.L., Zheng C.J. et Guan H.S. 2009. Chemical constituents from *Sargassum pallidum* (Turn.) C. Agardh. *Biochemical Systematics and Ecology* 37 (2009) 127-129
- Liu X., Lin W.M., Yan X.H., Chen X.H., Hoidal J.R. et Xu P. 2003. Improved method for measurement of human plasma xanthine oxidoreductase activity. *Journal of Chromatography B*. 785: 101-114.
- Machlin L.J. et Bendich A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEBJ*. 1: 441- 445.
- Marfaing H. et Lerat Y. 2007. Les algues ont-elles une place en nutrition ?. *Phytothérapie*. 2-5.
- Margaill I., Michel Plotkine M. et Lerouet D. 2005. Antioxidant strategies in the treatment of stroke. *Free Radical Biology and Medicine*. 39 : 429 – 443.
- Martin H.M., Moore K.P., Bosmans E., Davies S., Burroughs A.K., Dhillon A.P., Tosh D. et Harrison R. 2004. Xanthine oxidoreductase is present in bile ducts of normal and cirrhotic liver. *Free Radical Biology and Medicine*. 37 (8): 1214–1223.
- Martin S. et Andriantsitohaina R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51 : 304–315.
- Marxen K., Vanselow K.H., Lippemeier S., Hintze R., Ruser A. et Hansen U.P. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*. 7: 2080-2095.
- Mattila P. et Hellström J. 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 152–160.
- Mau J.L., Chang C.N., Huang S.J. et Chen C.C. 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chemistry*. 87: 111-118.
- Mau J.L., Tsai S.Y., Tseng Y.H. et Huang S.J. 2005. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*. 93 : 641–649.
- Menvielle-Bourg F.J. 2005. La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*. 3: 118-121.

- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2) : 211-219.
- Morelle-Lauzanne E. 2006. L'alimentation, le stress oxydatif : sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger. *Phytothérapie.* 4 (5): 234-240.
- Muchuweti M., Kativu E., Mupure C.H., Chidewe C., Ndhlala A.R. et Benhura M.A.N. 2007. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology.* 2 (5): 414-420.
- Muntean E., Bercea V., Dragos N. et Muntean N. 2008. Light induced changes on provitamin a carotenoids from *Mougeotia* sp. *Algae. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies.* 14:163-165.
- Naczki M. et Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41: 1523-1542.
- Naegelé E. et Naegelé A. 1967. Les algues. Edition Presses Universitaires de France. Pp 65-67.
- Nagai T. et Yukimoto T. 2003. Preparation and functional properties of beverages made from sea algae. *Food Chemistry.* 81: 327-332.
- Nahas R., Abatis D., Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Vagias C. et Roussis V. 2007. Radical-scavenging activity of Aegean Sea marine algae. *Food Chemistry.* 102 : 577-581.
- Ozenda P. 2000. Les végétaux : organisation et diversité biologique. Edition Dunod. Pp. 65-69.
- Pádua M., Fontoura P.S.G. et Mathias A.L. 2004. Chemical Composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 47(1): 49-55.
- Parent C., Capelli N. et Dat J. 2008. Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *C. R. Biologies.* 331: 255-261.
- Paris M. et Hurabielle M. 1981. Abrégé de matière médicale (Pharmacognosie). Edition Masson. P.14.
- Pastre J. et Priymenko N. 2007. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* 158 (4) : 180-189.
- Patra J.K., Raths K. et Jena K. 2008. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. *Turk J Biol.* 32:119-125.
- Pellegrin M., Mazzolai L., Berthelot A. et Laurant P. 2009. Dysfonction endothéliale et risque cardiovasculaire. L'exercice protège la fonction endothéliale et prévient la maladie cardiovasculaire. *Science et Sports.* 24: 63-73.

- Pereira D.M., Valentão P., Pereira J.A. et Andrade P.B. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*. 14: 2202-2211.
- Pflugmacher S., Olin M. et Kankaanpää H. 2007. Nodularin induces oxidative stress in the Baltic Sea brown alga *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae). *Marine Environmental Research*. 64: 149-159.
- Pham-Huy L.A., Hua H. et Pham-Huy C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*. 4 (2) : 89-96.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J.O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.
- Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne J.O. 2007. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*. 21 : 66-75.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne JO. 1999. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*. 4 (5).
- Plaza M., Cifuentes A. et Ibáñez E. 2008. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science and Technology*. 19: 31-39.
- Polla L.L., Pouillot A., Polla B.S. et Polla Tray A.S. 2007. Présent et futur des antioxydant dans la prévention du vieillissement cutané. *J.Méd.Est. et Chir.Derm.*135 : 173-178.
- Pons-Rejraji H., Sion B., Saez F., Brugnon F., Janny L. et Grizard G. 2009. Rôles des dérivés actifs de l'oxygène (DAO) sur les spermatozoïdes humains et infertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*. 37 : 529-535.
- Poulsen H.E., Weimann A. et Loft S. 1999. Methods to detect DNA damage by free radicals: relation to exercise. *Proceedings of the Nutrition Society*. 58 : 1007–1014.
- Poyton R.O., Ball K.A. et Castello P.R. 2009. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signalling. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 20 (7) : 332-340.
- Qujeq D. et Rezvani T. 2007. Catalase (antioxidant enzyme) activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes and Metabolism*. 15: 22-24.
- Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L. et Had-Aissouni L. 2005. Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 24 : 502–509.
- Ribeiro S.M .R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knödler M. et Schieber A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*. 110: 620–626.
- Rios A.O., Antunes L.M.G. et Bianchi M.L.P. 2009. Bixin and lycopene modulation of free radical generation induced by cisplatin–DNA interaction. *Food Chemistry*. 113 : 1113–1118.

- Rivot J.P. 1999. Monoxyde d'azote (NO) et nociception: détection électro-chimique *in vivo* dans la corne dorsale de la moelle épinière. *Doul. et Analg.* 2: 115-120.
- Rodriguez-Amaya D.B. 1997. Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods. John Snow, Inc/OMNI Project.1-93.
- Rolland Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux. *OCL VOL.* 11 (6) : 419-424.
- Roussel A. et Ferry M. 2002. Stress oxydant et vieillissement. *Nutrition clinique et métabolisme.* 16 : 285–291.
- Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M. et Toth-Markus M. 2005. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International.* 38: 1023–1029.
- Scandalios J.G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 38: 995-1014.
- Schoefs B. 2002. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology.* 13: 361–371.
- Sennequier N. et Goff V.L. 1998. Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) : mécanisme, régulation et contrôle. *Médecine/sciences.* 14 : 1185-95.
- Sharififar F., Dehghn-Nudeh G. et Mirtajaldini M. 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry.* 112:885–888.
- Sies H. 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 215 : 213-219.
- Silanikove N. et Shapiro F. 2007. Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: Physiological and technological implications. *International Dairy Journal.* 17: 1188–1194.
- Singh R., Singh S., Kumar S. et Arora S. 2007. Studies on antioxidant potential of methanol extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. *Food Chemistry.* 103 : 505–511.
- Soobrattee M.A., Neergheen V.S., Luximon-Ramma A., Aruomab O.I. et Bahorun T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research.* 579: 200-213.
- Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. et Sahin F. 2004. The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control.* 15: 627–634.
- Stahl W. et Sies H. 2005. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1740: 101– 107.

- Sultana B., Anwar F. et Przybylski R. 2007. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. Trees. Food Chemistry. 104: 1106-1114.
- Szymonik-Lesiuk S., Czechowska G., Stryjecka-Zimmer M., Słomka M., Mądro A., Celiński K. et Wielosz M. 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 10: 309–315.
- Turkmen N., Sari F. et Velioglu Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. Food Chemistry. 99: 835- 841.
- Tüney I., Çadirci B.H., Ünal D. et Sukatar A. 2006. Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Üzmir, Turkey). Turk J Biol. 30 : 171-175.
- Van Dijk C., Boeriu C., Peter F., Stolle-Smits T. et Tijsskens L.M.M. 2006. The firmness of stored tomatoes (cv. Tradiro). 1. Kinetic and near infrared models to describe firmness and moisture loss. Journal of Food Engineering. 77: 575-584.
- Wang B.G., Zhang W.W., Duan X.J. et Li X.M. 2009. *In vitro* antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). Food Chemistry. 113 : 1101-1105.
- Wu D. et Cederbaum A.I. 2003. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. Alcohol Research and Health. 27 (4): 277-284.
- Yuan Y.V., Bone D.E. et Carrington M.F. 2005. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. Food Chemistry. 91 : 485- 494.
- Zahra R., Mehrnaz M., Farzaneh V. et Kohzad S. 2008. Antioxidant activity of extract from a brown alga, *Sargassum boveanum*. African Journal of Biotechnology. 6 (24): 2740-2745.
- Zeb A. et Mehmood S. 2004. Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Applications. Pakistan Journal of Nutrition. 3 (3): 199-204.
- Zubia M., Robledo D. et Freile-Pelegrin Y. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. J Appl Phycol. 19: 449–458.
- Zümreoglu-Karan B. 2006. The coordination chemistry of Vitamin C: An overview. Coordination Chemistry Reviews. 250: 2295–2307.
- Zweier J.L., Rayburn B.K., Flaherty J.T. et Weisfeldt M.L. 1987. Recombinant Superoxide Dismutase Reduces Oxygen Free Radical Concentrations in Reperfused Myocardium. The Journal of Clinical Investigation, Inc. 80: 1728-1734.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages

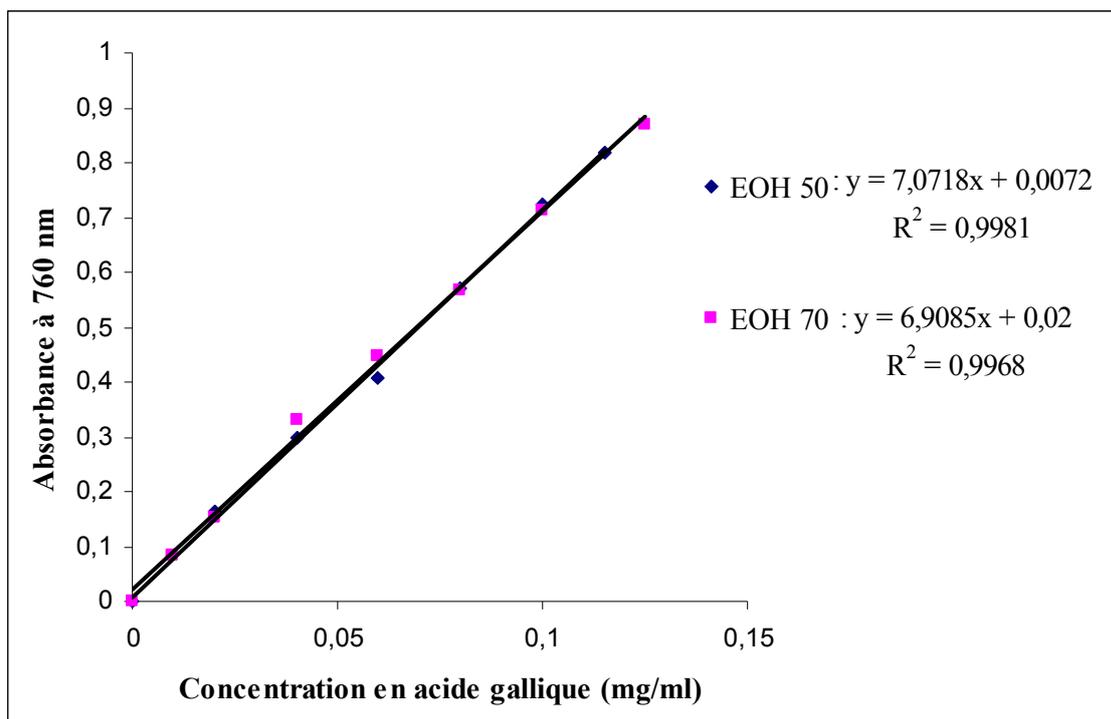


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

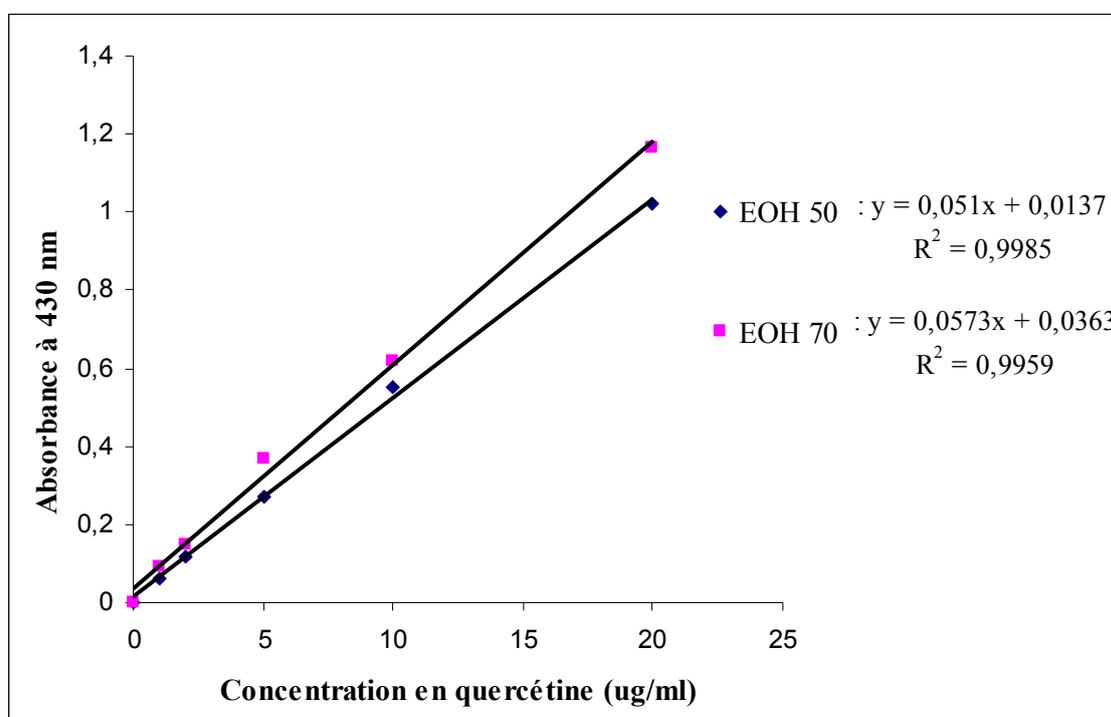


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Annexe 2 : Protocoles d'extraction des antioxydants algaux.

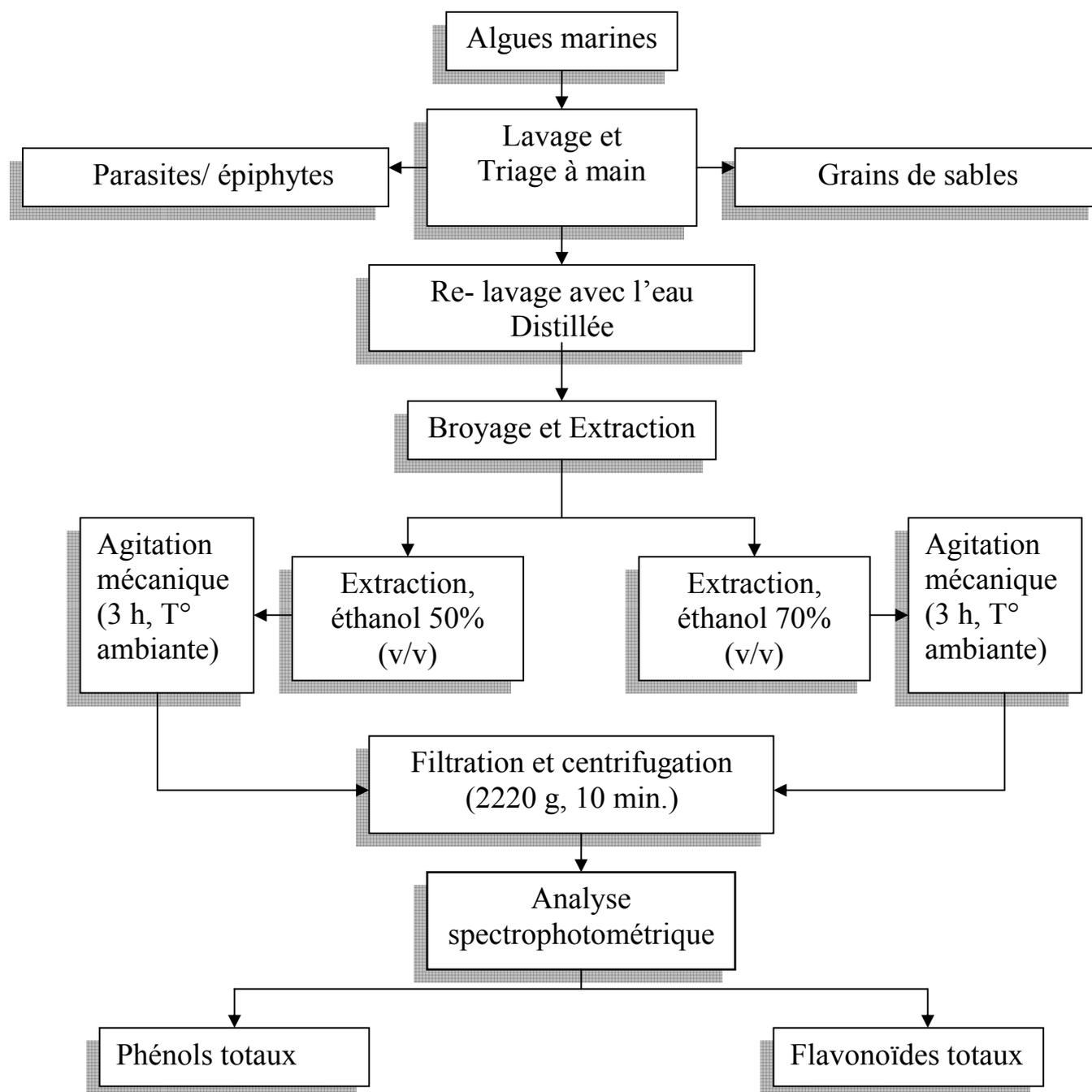


Figure 3: Schéma récapitulatif des étapes de la procédure d'extraction des composés phénoliques (Kuda et al. 2005).

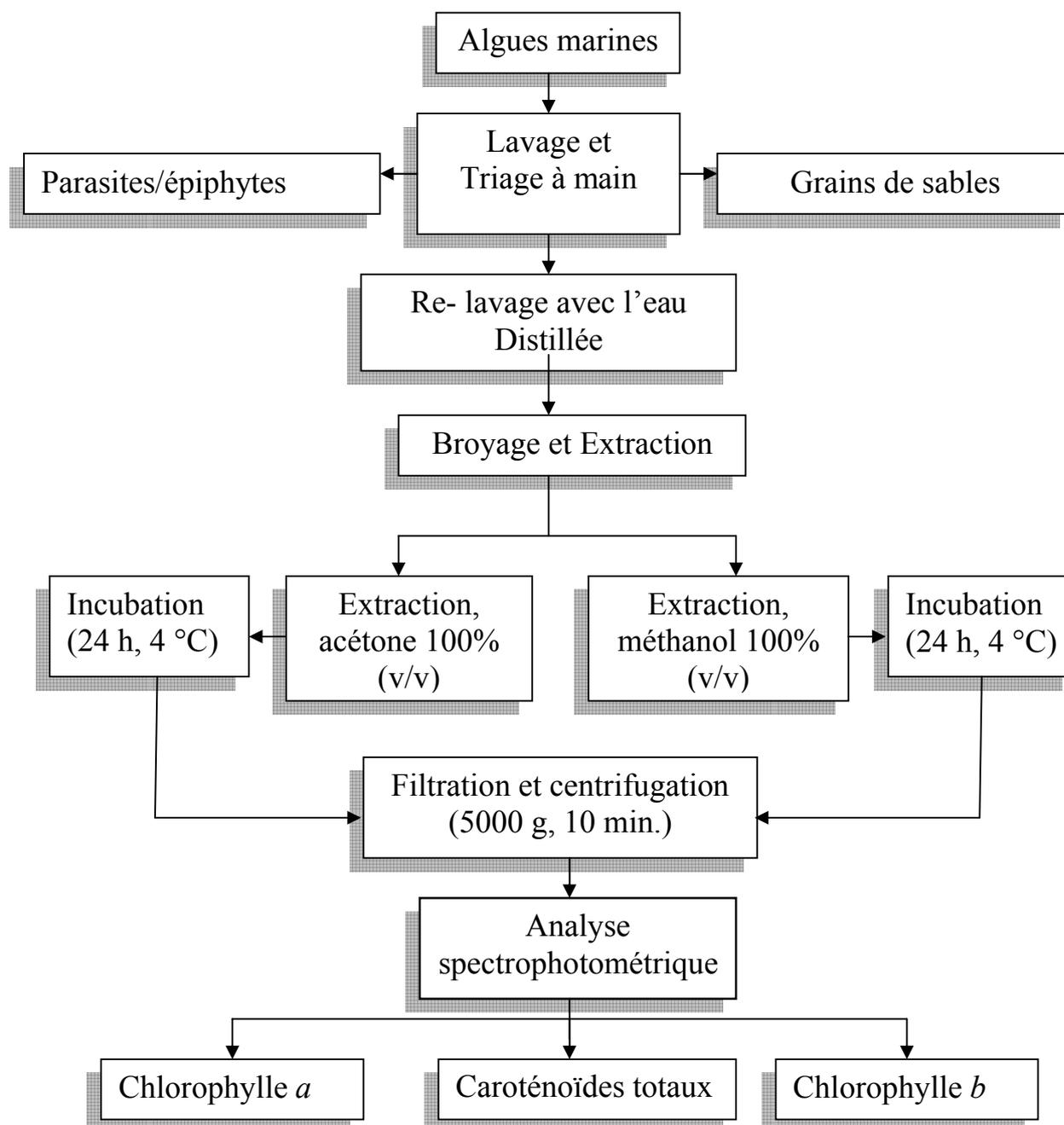


Figure 4 : Schéma récapitulatif des étapes de la procédure d'extraction des chlorophylles et des caroténoïdes totaux (Dere *et al.* 1998 ; Abd El Baky *et al.* 2008).

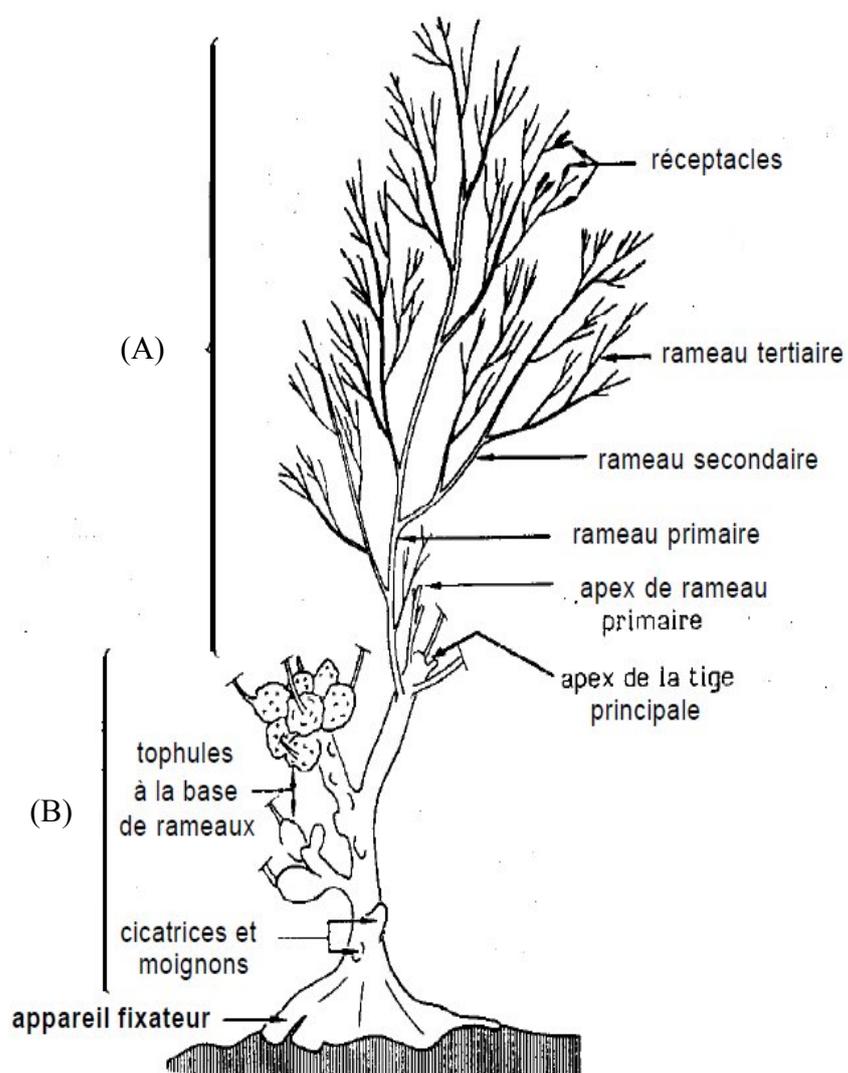
Annexe 3 : Architecture type du genre *Cystoseira*.

Figure 5 : Schéma d'un thalle du genre *Cystoseira* illustrant la terminologie employée (FAO, 1987).
(A) : Système caduque, (B) : Système pérennant

Annexe 3 : Structure de la glutathion

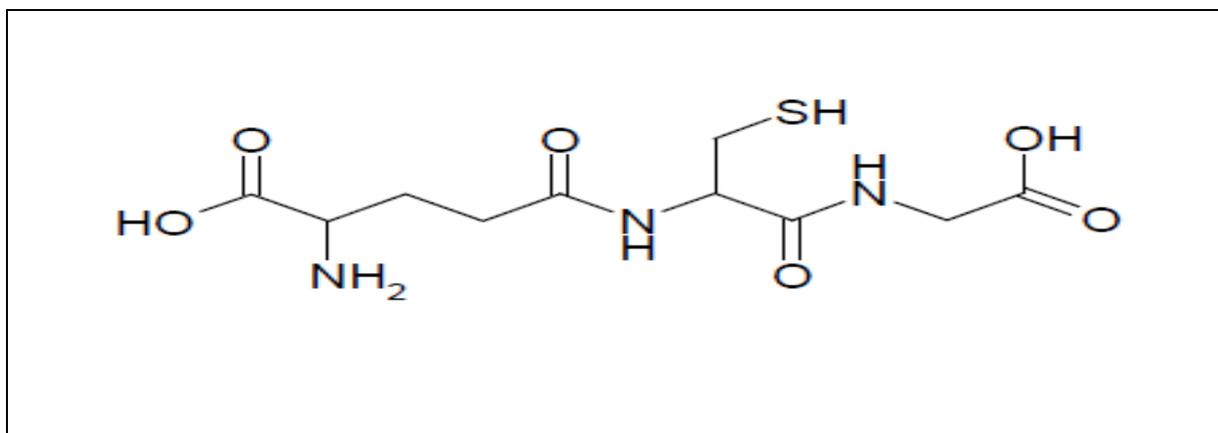


Figure 6: Structure moléculaire du glutathion (Carvalho *et al.*, 2004).

Résumé

L'intérêt grandissant porté pour les plantes provient du fait de la présence de substances actives présentant de nombreuses activités biologiques. Dans la présente étude, une comparaison entre la teneur en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes et chlorophylles) de quatre espèces d'algues marines (*C.fimbriata*, *C.mediterranea*, *E.intestinalis* et *U.lactuca*) et leurs activités antioxydantes a été réalisée. Les résultats des dosages polyphénols et des flavonoïdes totaux indiquent la richesse de l'espèce *C.fimbriata* en polyphénols totaux (610,64 mg/100g) et de *C.mediterranea* en flavonoïdes totaux (25,56 mg/100g). Les espèces *C.mediterranea*, *C.fimbriata* et *E.intestinalis* possèdent des taux appréciables en caroténoïdes totaux avec des teneurs respectives de 2886,97, 2714,92 et 2578,34 mg/100g dans des extraits d'acétone. La quantification de la chlorophylle *a* et *b* révèle la richesse de l'espèce *C.mediterranea* en chlorophylles *a* avec une teneur de 32 mg/100g, l'espèce *E.intestinalis* étant la plus riches en chlorophylles *b* (13,35 mg/100g). La mesure de l'activité antiradicalaire, du pouvoir réducteur et de l'inhibition du H₂O₂ ont révélé que la meilleure activité antioxydante est celle de l'espèce *C.fimbriata* comparé aux autres espèces. De fortes corrélations ont été établies entre les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes avec les différentes activités antioxydantes testées.

Mots clés : Algues marines, polyphénols, flavonoïdes, chlorophylles, caroténoïdes, réduction du radical DPPH, pouvoir réducteur, inhibition de H₂O₂.

Abstract

The growing interest for plants comes from the fact of the presence of active substances with many biological activities. In this study, a comparison between the amounts of antioxidants (polyphenols, flavonoids, carotenoids and chlorophylls) of four species of marine algae (*C.fimbriata*, *C.mediterranea*, *E.intestinalis* and *U.lactuca*) and their respective antioxidant activities has also been studied. The results of the determination of total polyphenols and flavonoids contents indicate the richness of *C.fimbriata* in total polyphenols (610,64 mg/100g) and *C.mediterranea* in total flavonoids (25,56 mg/100g). Species *C.mediterranea*, *C.fimbriata* and *E.intestinalis* rates have significant total carotenoids with respective levels of 2886.97, 2714.92 and 2578.34 mg/100g in extracts of acetone. Quantification of chlorophyll *a* and *b* reveals the richness of species *C.mediterranea* with chlorophyll *a* content of 32 mg/100g, species *E.intestinalis* being richer in chlorophyll *b* (13.35 mg/100g). Measurement of antiradical activity, reducing power and the inhibition of H₂O₂ showed that the best antioxidant activity is that of the species *C.fimbriata* compared to other species. Strong correlations were established between the levels of polyphenols and flavonoids with different antioxidant activities tested.

Keys words: Seaweed, polyphenols, flavonoids, chlorophylls, carotenoids, reducing the DPPH radical, reducing power, inhibition of H₂O₂.

ملخص

الاهتمام المتزايد بالنباتات في الآونة الأخيرة ظهر نتيجة تواجد عناصر جد فعالة تملك العديد من الخصائص البيولوجية المفيدة. في هذه الدراسة، تمت المقارنة بين محتوى المواد المضادة للأكسدة (البوليفينولات، الفلافونويدات، الجزرين واليخضور) لأربعة أنواع من الطحالب البحرية (*C.fimbriata*, *C.mediterranea*, *E.intestinalis* و *U.lactuca*) ومفعولها المضاد للأكسدة. بينت الدراسة الفيزيوكيميائية للبوليفينولات و الفلافونويدات ثراء *C.fimbriata* من حيث البوليفينولات الكلية (610.64 ملغ/100غ) أما *C.mediterranea* فهي غنية بالفلافونويدات الكلية (25.56 ملغ/100غ). الأنواع *C.fimbriata*, *C.mediterranea* و *E.intestinalis* فيها نسب معتبرة من الجزرين الكلي 2886.97، 2714.92 و 2578.34 ملغ/100غ على الترتيب في مستخلصات الأسيتون. القياس الكمي لمادة اليخضور (أ) و (ب) يكشف عن ثراء *C.fimbriata* من حيث اليخضور (أ) بنسبة 32 ملغ/100غ، النوع *E.intestinalis* أبدى غنى من حيث كمية اليخضور (ب) (13.35 ملغ/100غ). بتقييم المفعول المضاد للأكسدة، المفعول المرجع وقوة تثبيط H₂O₂ أظهرت أن أفضل نشاط ضد الأكسدة هو المتواجد لدى *C.fimbriata* بالمقارنة مع الأنواع الأخرى. كما أنه تم إظهار تناسق قوي بين محتوى المكونات الفينولية والفلافونويدات مع مختلف الأنشطة المضادة للأكسدة التي تم اختبارها.

كلمات المفتاح: الطحالب البحرية، الفينولات، الفلافونويدات، الجزرين، اليخضور، المفعول المضاد للأكسدة، قوة الإرجاع، تثبيط H₂O₂.