

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT



كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Option : Biochimie des Produits Naturels

Présenté Par :

M^{lle}. Djeddaoui Zineb Nour El-iman
M^{lle}. Zakhrouf Kelthoum

THÈME

Etude de la composition biochimique et du pouvoir antioxydant d'algue *Spirogyra* sp.

Soutenu publiquement le Juin 2014

devant le jury composé de:

M. Ben chattouh ahmed

Président

M. Leboukh Mourad

Examineur

Dr. Gouzi Hicham

Rapporteur

Dr. Chaibi Rachid

Rapporteur

Année Universitaire 2013/2014

Dédicace

Nour el iman



∞ DÉDICACES ∞

kelthom



Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biochimie de l'Université Amar Téliidji de Laghouat. Je remercie profondément Monsieur Mustapha Hadjouja, responsable des laboratoires, d'en avoir autorisé la réalisation.

Je désire alors exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Youcef Boubrima qui m'a honoré en acceptant d'être président de ce jury.

Nous remercions tout particulièrement Messieurs les Docteurs Rachid Chaïbi et Hicham Gouzi de nous avoir encadrés durant notre stage en étant toujours disponibles et encourageants, pour leurs aides et leurs conseils et pour leurs grandes valeurs humaines.

Nous remercions également Monsieur Mourad Leboukh d'avoir accepté d'examiner ce mémoire ainsi que d'avoir bien voulu être membre de notre jury de Master. Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude.

Nous souhaitons aussi saluer et remercier nos collègues étudiants(es), avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant ces cinq dernières années.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe administrative et enseignante de l'Université Amar Téliidji.

Un grand merci à nos parents et à toutes nos familles pour leur amour et leur soutien. Pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

Enfin, merci à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin durant ces années d'études.

ملخص

تشمل هذه الدراسة التكوين البيوكيميائي والنشاط المضاد للأكسدة لدى الطحالب الخضراء (الأشنة اللولبية) في المياه العذبة. تمت دراسة تركيزات البروتين، الدهون والكربوهيدرات في الطحالب وهي على التوالي 7 و 50 و 8.42%. استخراج العائد يعتمد على قطبية المذيبات. للميثانول أعلى عائد يبلغ 9.6%، في حين تم الحصول على عائد أقل باستخدام الهكسان. تحديد النشاط المضاد للأكسدة ونقص الطاقة من مستخلص الطحالب البحرية يقاس بطريقتين: FRAP و DPPH و قد دل ذلك على أن مستخلص الأسيتون لديه أعلى قدرة مضادة للأكسدة و مضادة للجذور الحرة مع وجود تركيز عال للمركبات الفينولية بلغ 72.28 ملغ / EAG والكاروتينات 1164.62 ملغ / مل. علاوة على ذلك فإن معاملات الارتباط بين القدرة المضادة للاكسدة و محتوى الفينولات و الكاروتينات عالية (R²=0,91-0,97) الأعشاب البحرية (*Spirogyra sp*) يمكن اعتبارها مصدر ممتاز للغذاء بسبب غناها بمضادات الأكسدة و المركبات الغذائية.

الكلمات المفتاح: الطحلب النهري اللولبي الأخضر، النشاط المضاد للاكسدة، المذيبات، التركيبة الكيميائية FRAP , DPPH.

Résumé

Dans ce travail la composition biochimique et l'activité antioxydante d'algue verte d'eau douce *Spirogyra sp.* ont été étudiés. Les teneurs d'algue en protéine, en glucide et en lipide sont respectivement 7, 8.42 et 50%.

Le rendement d'extraction dépend de la polarité du solvant. Le méthanol a le rendement le plus élevé (9.6%) tandis qu'un rendement plus faible a été obtenu avec l'hexane.

La mesure de l'activité antioxydante et du pouvoir réducteur de l'extrait acétonique d'algue par les méthodes DPPH et FRAP respectivement, montre qu'il possède un pouvoir antioxydant et réducteur les plus élevés avec une forte teneur en composés phénoliques (72.28 mg EAG/g) et en caroténoïdes (1164.62 mg/mL). De plus, les coefficients de corrélation entre les capacités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques et en caroténoïdes sont plus élevés (R² = 0.91-0.97).

L'algue *Spirogyra sp* peut être considérée comme un bon aliment vue sa richesse en antioxydants et en composés nutritifs.

Mots clés : Algue, *Spirogyra sp*, composition biochimique, Solvant, Antioxydant, DPPH, FRAP.

Abstract

In this study the biochemical composition and antioxidant activity of the green alga *Spirogyra sp* freshwater have been studied. The content of proteins, lipids and carbohydrates algal were respectively: 7, 8.42 and 50%.

The extraction yield depends on the solvent polarity. Methanol shows the highest yield (9.6%), while a lower yield was obtained with hexane.

The determination of antioxidant activity and reducing power of algae extract measured by FRAP and DPPH method respectively, shows that the acetone extract has the most higher antioxidant and antiradical capacities with a high content of phenolic compounds (72.28 mg EAG/g) and carotenoids (1164.62 mg/mL). In addition, the correlation coefficients between the antioxidant capacities and the phenolic and carotenoids contents were very high (R² = 0.91-0.97).

Spirogyra sp. algae can be considered as an excellent food due to its richness with antioxidants and nutritional compounds.

Keywords: Algae, *Spirogyra sp*, biochemical composition, Solvent, Antioxidant, DPPH, FRAP.

Table de matière

	Page
dédicace.....	I
Remerciements.....	III
Résumé.....	IV
Liste des abréviations.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des tableaux.....	IX
Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Synthèse bibliographique.....	2
1.1 Définition et position dans le règne végétal.....	2
1.2 Taxonomie des algues.....	2
1.2.1 Les algues vertes (chlorophycophytes).....	2
1.2.2 Les algues rouges (rhodophycophytes).....	3
1.2.3 Les algues brunes (phéophycophytes).....	3
1.2.4 Les algues bleues (Cyanobactéries).....	3
1.3 Caractéristiques générales de l'espèce d'algue étudiée.....	3
1.3.1 Origine.....	3
1.3.2 Biologie.....	4
1.3.2.1 Description.....	4
1.3.2.2 Classification.....	4
1.3.2.3 Alimentation.....	4
1.3.2.4 Vie associée.....	4
1.3.2.5 Reproduction et propagation.....	5
1.3.2.6 Cycle biologique.....	5
1.3.2.7 Cycle saisonnier et croissance.....	6
1.3.2.8 Biomasse.....	6
1.3.3 Distribution actuelle.....	7
1.3.4 Biotopes.....	7
1.3.4.1 Paramètres physiques.....	7
1.3.4.2 Paramètres chimiques.....	8
1.3.5 Particularité de ces Algues.....	8
1.4 Écologies des algues.....	9
1.5 Composition et valeur nutritive des algues.....	10
1.6 Principaux producteurs d'algues dans le monde.....	11
1.7 Principales utilisations.....	11
1.7.1 Utilisation alimentaire.....	11
1.7.2 Utilisation industrielle.....	12
1.7.3 Utilisation agricole.....	12
1.7.4 Utilisations médicale et pharmaceutique.....	12
1.7.5 Production de biocarburants.....	13
1.8 Effet anti-inflammatoire des algues.....	13
1.9 Le stress oxydatif et les antioxydants.....	13
1.9.1 Les antioxydants.....	13
1.9.1.1 Définition.....	13
1.9.1.2 Les types des antioxydants.....	14
1.9.1.3 Les sources d'antioxydants.....	14
1.9.1.4 Mécanisme d'action des antioxydants.....	15
1.9.2 Le Stress Oxydant.....	15
1.9.2.1 Définition.....	15
1.9.2.2 Les radicaux libres.....	15
1.9.2.3 Les conséquences du stress oxydatif.....	17

Table de matière

1.10 Les composés phénoliques.....	18
1.10.1 Généralités.....	18
1.10.2 Classification des composés phénoliques.....	18
1.10.2.1 Les acides phénols.....	18
1.10.2.2 Les flavonoïdes.....	19
Chapitre 2. Matériel et méthodes.....	23
2.1 Matériel.....	23
2.1.1 Matériel végétal.....	23
2.1.2 Produits chimiques.....	23
2.2 Méthodes.....	24
2.2.1 Préparation de l'extrait d'algue <i>Spirogyra</i> sp.....	24
2.2.3 Détermination quantitative des métabolites primaires d'algue <i>spirogyra</i> sp.....	24
2.2.3.1 Dosage des sucres totaux.....	24
2.2.3.2 Dosage des lipides.....	26
2.2.3.3 Dosage des protéines brutes.....	26
2.2.4 Dosage quantitatif des métabolites secondaires d'algue verte <i>Spirogyra</i> sp.....	28
2.2.4.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	28
2.2.4.2 Dosage des caroténoïdes.....	29
2.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d'algue <i>Spirogyra</i> <i>sp</i>	30
2.2.5.1 La méthode du radical DPPH.....	30
2.2.5.2 Capacités réductrices ferriques d'antioxydants : Méthode FRAP.....	31
2.2.6 Analyses des données.....	32
Chapitre 3. Résultats et discussion.....	33
3.1 Détermination quantitative des métabolites primaires.....	33
3.1.1 Teneur en lipides.....	33
3.1.2 Teneur en glucides.....	33
3.1.3 Teneur en protéines.....	33
3.2 Détermination quantitative des métabolites secondaires et de l'activité antioxydante d'algue <i>Spirogyra</i> spp.....	34
3.2.1 Effet du solvant sur le rendement d'extraction et les teneurs en caroténoïdes et les composés phénoliques.....	34
3.2.2 Effet du solvant sur l'activité antioxydante et antiradicalaire d'algue <i>Spirogyra</i> sp.....	36
3.2.2.1 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	36
3.2.2.2 Détermination du pouvoir réducteur.....	40
Chapitre 4. Conclusion générale.....	42
Références bibliographiques.....	43

Liste des abréviations

Abs: absorbance.

ADN : acide désoxy ribo nucléique.

ARP : Puissance anti radicalaire

C : c'est la concentration ($\mu\text{g/ml}$)

DPPH : 1.1.diphenyl-2 picrylhydrazyl

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

EAG : équivalente acide gallique

F : Facteur de correction.

FC : Le Folin-Ciocalteu

FRAP: Ferric Reducing/Antioxidant Power

FeCl₃ : trichlorure du fer

HCl : acide chlorhydrique.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

H₂SO₄: acide sulfurique.

IC₅₀ : Concentration 50 % d'inhibition.

K₃Fe(CN)₆ : Ferrocianine de potassium

MeOH : méthanol

mg/l : milligramme par litre.

Mg²⁺ : magnésium

MVS : Matière végétale sèche.

M : masse

nm : nanomètre

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

O₂ : oxygène.

pH : potentiel hydrogène

SOD : superoxyde dismutase

TCA : Trichloroacétique

trs/min : tours par minute.

UV: Ultraviolet.

V : Volume

VIH : Virus de l'Immunodéficienc e Humaine.

AA : Ascorbique acide

BHA : Hydroxyanisole butylé

EAG : Equivalent acide gallique

DPPH : 1,1-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

FRAP : Ferric reducing/antioxidant power

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1. Analyse globale moyenne des algues en générale (Donadieu, 1985).....	
Tableau 2. Analyse moyenne des matières sèches (Donadieu, 1985).....	
Table 3. La teneur en caroténoïdes et en phénols totaux et le d'algue et le rendement d'extraction de l'extrait d'algue d'eau douce <i>Spirogyra</i> sp pour les différents solvants d'extraction.....	
Tableau 4. Résultats de l'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH de l'extrait d'algue d'eau douce pour les différents solvants d'extraction et des antioxydants standards.....	

Liste des figures

	Page
Figure 1. Reproduction sexuée chez <i>Spirogyra</i> : (A-B) formation de ponts de conjugaison entre cellules de filaments, (C) le contenu des cellules du filament mal passe par ces ponts pour entrer dans le filament femelle, (D) la fécondation s'effectue dans ces cellules (Raven et al., 2003).....	
Figure 2. Le cycle biologique de <i>Spirogyra</i> (à lire de gauche à droite sur la ligne horizontale) (Wikipedia, 2014).....	
Figure 3. Cycle haplobiontique du <i>Spirogyra</i> (Roland et Vian, 1985).....	
Figure 4. Zonation verticale des macroalgues (Cormaci et Furnari, 2005)...	
Figure 5. Structure chimique de l'acide gallique (Baliga et al., 2011).....	
Figure 6. Structure de base des flavonoïdes (Kanoun, 2011).....	
Figure 7. Structure nucléaire des flavonoïdes (Rania, 2007).....	
Figure 8. Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	
Figure 9. Structure chimique de β -carotène (Baliga et al., 2011).....	
Figure 10. Algue <i>Spirogyra</i> sp. (2014).....	
Figure 11. Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.....	
Figure 12. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	
Figure 13. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Kouamé., et al. 2009).....	
Figure 14. Représentations graphiques des pourcentages de DPPH résiduels en fonction de la concentration des extraits (A) hexanique, (B) éthanolique, (C) chloroformique, (D) acétonique et (E) méthanolique d'algue <i>Spirogyra</i> spp. et (F) des antioxydants standards.....	
Figure 15. La corrélation entre la teneur en composés phénoliques et les caroténoïdes totaux et la puissance antiradicalaire des extraits d'algue <i>Spirogyra</i> spp. des différents solvants.....	
Figure 16. Le pouvoir réducteur des (A) extraits d'algue <i>Spirogyra</i> sp et (B) d'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreur standards de deux essais.....	

Introduction générale

Les algues aquatiques sont riches en métabolites primaires et secondaires nouveaux biologiquement actifs. Ses métabolites peuvent être des composés potentiellement actifs d'un grand intérêt dans les industries agro-alimentaire et pharmaceutique (Prakash et *al.*, 2011 ; Patil et *al.*, 2011).

Spirogyra sp. est un genre d'algue aquatique verte filamenteuse appartenant à l'ordre des zygnemtales, nommée pour l'arrangement hélicoïdal ou spiral des chloroplastes. Elle est communément trouvée dans les zones d'eau douce et il existe plus de 400 espèces *Spirogyra* sp. Dans le monde. *Spirogyra* est relativement rencontrée en surface de l'eau eutrophique développant ainsi une masse verte filamenteuse gluante et produit de l'oxygène en présence de la lumière solaire (Ansari et *al.*, 2012 ; Sharma et *al.*, 2013). L'algue *Spirogyra* est une source de nutriments tels que les carbohydrates (33-64%), les lipides (11-21%) et les protéines (6-20%) (Patil et *al.*, 2011 ; Jani Jagat et *al.*, 2011). Récemment, plusieurs travaux de recherche ont montré que l'algue d'eau douce *Spirogyra* sp. est une source naturelle d'agents antimicrobiens (Ansari et *al.*, 2012 ; Patil et *al.*, 2011) et de biocarburants (Sharma et *al.*, 2013 ; Sawarkar et Nandkar, 2013 ; Jani Jagat et *al.*, 2011).

D'après nos connaissances peu de travaux ont été réalisés sur la composition biochimique d'algue verte *Spirogyra* sp. et ses propriétés antioxydantes (Jani Jagat et *al.*, 2011 ; Sawarkar et Nandkar, 2013 ; Nailwal et *al.*, 2013 ; Sharma et *al.*, 2013).

Par conséquent, l'objectif principal de cette étude est tout d'abord d'estimer les teneurs de quelques métabolites primaires et les métabolites secondaires d'algue *Spirogyra* sp. Ensuite, d'étudier l'effet du solvant d'extraction sur le pouvoir antioxydant et antiradicalaire de l'algue *Spirogyra* sp.

Ce mémoire présenté en quatre chapitres est séquencé comme suit. Le premier chapitre concerne un rappel bibliographique sur les algues aquatiques, le stress oxydatif et les antioxydants. Dans le deuxième chapitre, nous mettrons en évidence les procédures expérimentales utilisées dans cette étude. Le troisième chapitre est consacré à une discussion des résultats obtenus. Une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures sur l'algue verte *Spirogyra* sp., seront regroupées dans le dernier chapitre.

Synthèse bibliographique

1.1 Définition et position dans le règne végétal

Les algues sont des êtres vivants appartenant au règne végétal. Elles constituent un ensemble hétérogène, souvent défini d'une manière négative (Naegelé et Naegelé, 1967; Gayral, 1975), c'est-à-dire absence de racines, de tiges et de feuilles (Gayral, 1975). Leur organisation rudimentaire les fait classer à la base de la série végétale parmi les Cryptogames, et plus précisément dans le vaste groupe des Thallophytes. L'ensemble du groupe algal est caractérisé par la présence d'un pigment vert: la chlorophylle (Naegelé et Naegelé, 1967).

L'eau est le milieu normal pour la vie des algues. Ce sont donc des: « Thallophytes eucaryotes, chlorophylliens (Naegelé et Naegelé, 1967; Gayral, 1975) et aquatiques (Naegelé et Naegelé, 1967) »

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.

1.2 Taxonomie des algues

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 :

1.2.1 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).

1.2.2 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).

1.2.3 Les algues brunes (phéophycophytes)

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

1.2.4 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 ultra structure, 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'œil 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).

1.3 Caractéristiques générales de l'espèce d'algue étudiée

1.3.1 Origine

C'est une espèce cosmopolite dont aucune prolifération n'a été signalée dans le bassin Artois-Picardie jusqu'à présent (Saint-Maxent, 2002).

L'origine du nom scientifique en français d'algue *Spirogyra* proviens du latin [spira] = spirale, tour, enroulement et du grec [gira] = spirale, tour, enroulement ; en référence à la forme particulière des plastes pariétaux qui sont tordus en hélice (plastés rubanés) (Corolla et al., 2009).

Le genre *Spirogyra* comporte 300 espèces, que l'on peut différencier selon différents critères végétatifs (nombre de plastés, cloisons) et de reproduction, notamment morphologie très variable et ornementée du zygote (Collectif, 1997).

1.3.2 Biologie**1.3.2.1 Description**

Les spirogyres ont l'aspect de masses « floconneuses » d'une couleur vert vif à sombre et au toucher visqueux, se développant à la surface de l'eau. Elles apparaissent à la surface en période de reproduction, en prenant une couleur brun jaunâtre (Collectif, 1997). Ces algues se présentent comme de fins filaments simples, non ramifiés. Leur caractéristique essentielle réside en la forme particulière des plastes pariétaux qui sont tordus en hélice (plastés rubanés) et possèdent plusieurs pyrénoides. Le nombre de plastés varie de 1 à 16 selon les espèces (Collectif, 1997). Les parois cellulaires sont recouvertes d'une substance visqueuse qui leur confère un toucher gluant (Collectif, 1997).

Certains auteurs ont identifié deux formes de filaments pour une même espèce en relation avec des exigences différentes en températures et en éclairément pour leur croissance (Collectif, 1997). Elles sont rarement fixées par leur base, mais dans le cas contraire peuvent posséder des rhizoïdes (Collectif, 1997).

1.3.2.2 Classification

La classification de l'algue *Spirogyra sp* dans le règne végétal est comme suit (Corolla J.P., Kupfer M et al 2012) :

Embranchement : Chlorophyta

Classe : Zygnematophyceae

Ordre : Zygnematales

Famille : Zygnemataceae

Genre : *Spirogyra*

Espèce : *Spirogyra sp.* (Corolla et al., 2009).

1.3.2.3 Alimentation

Ces algues sont autotrophes grâce à la photosynthèse. Grâce à l'eau, au CO₂ dissous et à l'énergie lumineuse, elles fabriquent leur propre matière organique (Corolla et al., 2009).

1.3.2.4 Vie associée

Du fait de leur surface visqueuse, elles ne servent pas de nourriture aux organismes brouteurs.

1.3.2.5 Reproduction et propagation

La reproduction sexuée est une conjugaison (mode de reproduction où les contenus des cellules jouent le rôle de gamètes, sans être émis dans le milieu extérieur, après rapprochements de filaments, modifications des contenus cellulaires et formation de tubes de conjugaisons entre eux) (Figure 1) (Collectif, 1997).

Un facteur influençant la reproduction, serait le manque d'azote : la consommation de nutriments pour la croissance des algues pourrait créer une limitation en azote qui induirait une accumulation des lipides et la production de spores (Collectif, 1997).

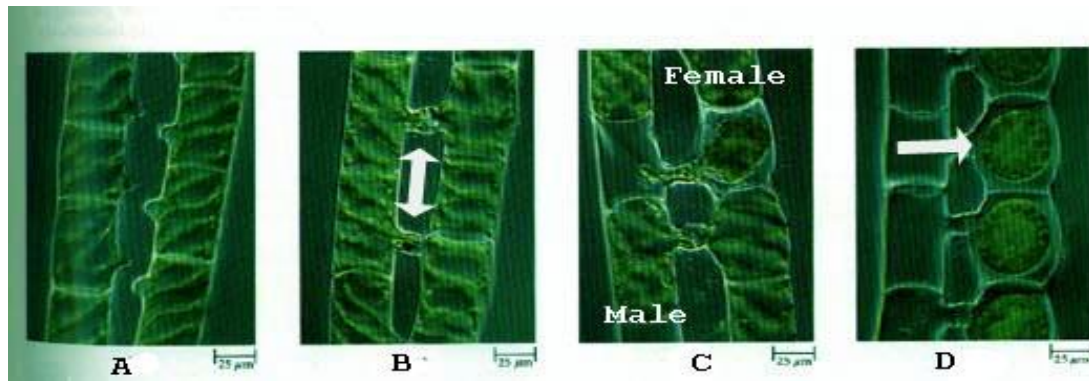


Figure 1. Reproduction sexuée chez *Spirogyra* : (A-B) formation de ponts de conjugaison entre cellules de filaments, (C) le contenu des cellules du filament mal passe par ces ponts pour entrer dans le filament femelle, (D) la fécondation s'effectue dans ces cellules (Raven et al., 2003).

1.3.2.6 Cycle biologique

- Concernant l'alternance cytologique de phase, la méiose intervient juste après la fécondation. L'haplophase est donc plus importante que la diplophase, réduite au zygote. Il s'agit d'un cycle haplophasique.
- Elle possède un archéthalle coloniale filamenteux et ne possède que un ou deux chloroplastes disposées en hélice pariétale dans un filament unique formé d'une succession de cellules toutes semblables dans lesquelles elle accumule de l'amidon stocké autour d'un pyrénôïde.
- Concernant l'alternance morphologique de générations, ce cycle ne comporte qu'une génération : de la méiospore à la fécondation (pas de génération entre le zygote et la formation des spores). Il s'agit d'un cycle monogénétique (Figure 2).

Le recouvrement maximal observé dans le bassin Rhin-Meuse peut atteindre 70 % (Collectif, 1997).

Les biomasses de spirogyres restent relativement faibles, comparées à celles de cladophores. Leurs herbiers présentent en effet une structure très aérée avec un encombrement en volume non négligeable (Collectif, 1997).

1.3.3 Distribution actuelle

La répartition géographique des spirogyres reste encore peu connue. Il existe quelques références de développement de ces algues : dans les bassins Rhône-Méditerranée-Corse, Loire-Bretagne, Adour-Garonne, Rhin-Meuse et Seine-Normandie (Collectif, 1997).

Aucune prolifération de spirogyres n'a été signalée dans le bassin Artois-Picardie, soit cette espèce en est absente, soit elle est présente mais n'y prolifère pas. Dans le premier cas, il faut être vigilant car cette espèce est signalée dans les bassins Rhin-Meuse et Seine-Normandie limitrophes au nôtre.

1.3.4 Biotopes

Les spirogyres se développent au printemps, généralement dans les fossés, étangs et anses des eaux douces claires et calmes (Collectif, 1997).

Elles résident généralement sans fixation dans la tranche d'eau ou au niveau des sédiments. Quelques espèces présentant des rhizoïdes sont fixées dans le courant (*Spirogyra fluviatilis*) (Collectif, 1997).

1.3.4.1 Paramètres physiques

Les spirogyres montrent une affinité ou une tolérance pour les fortes radiations et les eaux fraîches, conditions réunies au printemps. Elles semblent achever le développement de leur biomasse en conditions d'éclairement et de températures élevées. Par contre elles ne peuvent maintenir une activité photosynthétique à des températures élevées combinées à un faible éclairement. Ainsi les spirogyres paraissent ne pas supporter les effets indirects de l'auto ombrage (exposition prolongée à l'ombre), ceci entraînant des mortalités de sub-surface à la fin du printemps (Collectif, 1997).

Les espèces non fixées sont caractéristiques des eaux lentes et stagnantes. L'espèce fixée, *Spirogyra fluviatilis*, supporte mieux le courant (Collectif, 1997).

Les spirogyres se développent généralement à des profondeurs allant jusqu'à 50 cm, et parfois même jusqu'à 7 m comme sur la Durance (Khalanski et al., 1987).

Ces algues sont relativement indépendantes du type de substrat dans la mesure où elles n'y sont généralement pas fixées (sauf *Spirogyra fluviatilis*) (Khalanski et al., 1987). Certains auteurs les situent sur vases, graviers, pierres et galets (Rodriguez & Vergon, 1996).

1.3.4.2 Paramètres chimiques

Les spirogyres sont rencontrées principalement dans des eaux assez faiblement minéralisées (Collectif, 1997).

Aux Pays-Bas elles ne sont jamais rencontrées dans des eaux dont le pH est inférieur à 5 (Collectif, 1997).

La présence de spirogyres n'a pas été relevée dans des eaux très douces et oligotrophes. Contrairement à d'autres types d'algues, elles ne supportent pas des teneurs en magnésium élevées (inférieures à 70 mg/l de Mg²⁺). Par contre on les rencontre pour des teneurs élevées en sodium et potassium (Collectif, 1997).

En conditions mésotrophes ou modérément eutrophes, les spirogyres constituent des communautés diversifiées avec notamment de nombreuses espèces. La coexistence d'algues et de macrophytes s'opère avec une croissance optimale des spirogyres au printemps et des macrophytes en été (Collectif, 1997).

Les spirogyres sont souvent des espèces d'eaux calmes probablement parce que physiologiquement, ce manque de courant leur est bénéfique par rapport à l'absorption de nutriments. D'ailleurs, on ne remarque pas de relation particulière entre les teneurs en phosphate et la présence de ces algues. Par contre il y a une corrélation entre le recouvrement de ces algues et la présence d'**azote** pour des teneurs allant jusque 0,5 mg/l d'ammoniac (Collectif, 1997).

La présence massive de ces algues indique souvent une pollution organique ou minérale.

1.3.5 Particularité de ces Algues

Il n'y a pas de broutage reconnu sur les filaments des spirogyres, étant donné la structure visqueuse des parois cellulaires de ce genre (Collectif, 1997).

1.4 Écologies des algues

La flore algale peut être scindée 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 4). 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).

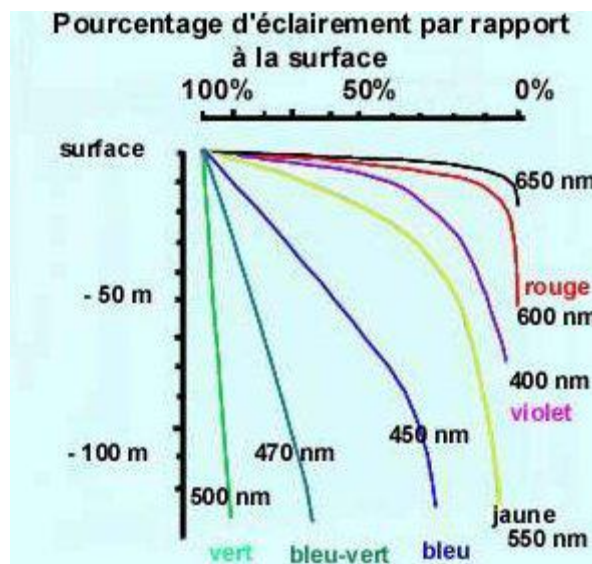


Figure 4. Zonation verticale des macroalgues (Cormaci et Furnari, 2005).

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).

1.5 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, oligoéléments et en pigments (chlorophylles, caroténoïdes, xanthophylles et phycobilines) (Tableaux 1-2) (Ismail et Hong, 2002 ; Duan *et al.*, 2006 ; Donadieu, 1985 ; Ganesan *et al.*, 2008).

Tableau 1. Analyse globale moyenne des algues en générale (Donadieu, 1985).

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

Tableau 2. Analyse moyenne des matières sèches (Donadieu, 1985).

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

1.6 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).

1.7 Principales utilisations

Les algues sont exploitées industriellement tant dans l'alimentation que dans l'agriculture, la médecine et toutes les formes d'industrie (Naegelé et Naegelé, 1967). La quantité d'algues produites annuellement par culture ou récoltées dans le monde est de l'ordre de neuf millions de tonnes d'algues fraîches. Les producteurs principaux sont la Chine, la Corée et le Japon (Marfaing et Lerat, 2007; Dhargalkat et Verlecar, 2009) qui, à eux seuls, totalisent les quatre cinquièmes de la production (Marfaing et Lerat, 2007).

1.7.1 Utilisation alimentaire

Les algues sont consommées en Asie depuis l'aube de l'humanité (Burtin, 2003; Marfaing et Lerat, 2007). En Occident, cette consommation directe d'algues est plus récente. Des études épidémiologiques menées en Asie mettent en évidence une incidence plus faible des cancers du sein, du côlon et de la prostate liée à la consommation régulière d'algues. Ces résultats seraient en faveur du rôle possible de facteurs nutritionnels multiples, en particulier liés à la présence simultanée dans les algues de différents nutriments comme les protéines, polysaccharides plus ou moins sulfatés, minéraux et oligoéléments mais également métabolites secondaires tels que les polyphénols, caroténoïdes, stérols et bêtaïnes (Marfaing et Lerat, 2007).

La France est le premier pays européen à établir une réglementation spécifique concernant l'utilisation des algues pour la consommation humaine en tant que substances alimentaires non traditionnelles (Burtin, 2003).

1.7.2 Utilisation industrielle

Si les algues sont utilisées à l'état naturel comme produit final pour l'alimentation et l'agriculture, c'est surtout leurs dérivés qui ont pris un immense intérêt industriel: ce sont les alginates, l'agar-agar et les carraghénanes (Naegelé et Naegelé, 1967). La forte affinité de ces polysaccharides à l'eau, les a qualifiés d'hydrocolloïdes (Venugopal, 2009). Ils sont extraits de différentes macroalgues rouges et brunes (Naegelé et Naegelé, 1967; Barsanti et Gualtieri, 2006; Venugopal, 2009). Ces hydrocolloïdes jouent un rôle important comme agents gélifiants, épaississants, texturants, stabilisants et émulsifiants (Venugopal, 2009).

1.7.3 Utilisation agricole

Une autre utilisation intéressante des algues, pratiquée de longue date et fort répandue est celle du goémon, comme engrais formé principalement d'algues brunes: les Fucus et les Laminaires (Naegelé et Naegelé, 1967). La biodisponibilité de quantités adéquates de potassium, d'azote, d'hormones végétales et de micronutriments, la teneur élevée en matière organique, notamment en fibre, ainsi que la forme soluble dans l'eau des éléments minéraux et oligo-éléments dans les algues font d'elles un excellent engrais (Venugopal, 2009). La pulvérisation d'engrais liquide sur les plantes, technique récemment adoptée, a augmenté l'efficacité d'absorption des nutriments par les plantes (par les feuilles) dans les 10 à 15 minutes de son application (Dhargalkar et Pereira, 2005). Cette méthode montre des résultats positifs en termes de santé des plantes, l'augmentation des taux de croissance, la résistance aux ravageurs et des rendements plus élevés de 25 à 30% (Dhargalkar et Pereira, 2005; Venugopal, 2009).

1.7.4 Utilisations médicale et pharmaceutique

Les pays maritimes ont eu recours aux algues comme vermifuge, anesthésique et pommade pour le traitement de la toux, des blessures, la goutte et le goitre (Dhargalkar et Pereira, 2005). Sur le marché pharmaceutique environ 40 médicaments sont déjà fabriqués à partir de matières chimiques d'algues. En ce qui concerne l'agar-agar son usage est répandu dans la préparation de milieux de cultures nécessaires pour la microbiologie. Il est aussi employé avec succès dans le traitement de la constipation. Le carraghénane est administré contre les irritations du tube digestif et dans le cas d'une dysenterie.

En pharmacologie, il est employé comme agent émulsionnant dans l'homogénéisation des huiles et comme l'agar, c'est un hémostatique efficace. L'alginate comme le carraghénane, joue un rôle dans la prévention des ulcères. Un médicament appelé communément « mousse de corse » est connu pour son usage comme excellent vermifuge contre les oxyures et les ascaris (Naegelé et Naegelé, 1967).

1.7.5 Production de biocarburants

C'est probablement à partir d'algues que les biocarburants pourront être produits avec le meilleur rendement rendant ainsi envisageable une production en quantité significative sans déforestation massive. Des cultures d'algues unicellulaires à forte teneur en lipides (50 % à 80 % en masse) et à temps de doublement rapide (de l'ordre de 24 h) permettent en effet une production de biodiesel moins polluante et incomparablement plus efficace que l'agriculture intensive de végétaux terrestres : les superficies nécessaires sont 30 fois moindres (Sheehan et *al.*, 1998).

1.8 Effet anti-inflammatoire des algues

Les principales familles de molécules anti-inflammatoires présentes chez les macroalgues sont les polysaccharides sulfatés, les acides gras polyinsaturés, le vidadol A et B, les caroténoïdes (fucoxantine, astaxanthine), les alcaloïdes (caulerpine), les terpenoïdes, et la phéophytine (Jaswir et Monsur, 2011).

1.9 Le stress oxydatif et les antioxydants

1.9.1 Les antioxydants

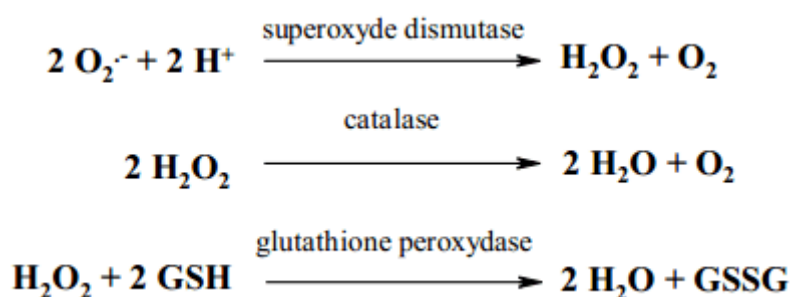
1.9.1.1 Définition

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'espèces oxygénées réactives (ROS). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

1.9.1.2 Les types des antioxydants

Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. (Kohen et Nyska, 2002)

1.9.1.3 Les sources d'antioxydants

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants.

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires.

1.9.2 Le Stress Oxydant

1.9.2.1 Définition

Dans l'organisme, la production des radicaux libres est contrôlée par les systèmes de défenses. En conditions normales, on assiste à un équilibre de la balance antioxydants/prooxydants (Favier, 2003 ; Boyad et al, 2003 ; Morel et Barouki, 1999). Une fois cet équilibre est affecté par une augmentation de la production d'oxydants ou par une altération dans la défense antioxydant, on assiste à ce qu'on appelle « stresse oxydatif » (Boutabet 2007, Lahoual 2004).

1.9.2.2 Les radicaux libres

Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (Lesgards, 2000).

Les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atomes, contenant un électron non apparié. Les radicaux libres sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une «réaction en chaîne» débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui «volant» son électron, et «la molécule attaquée» devient alors elle-même un radical libre. Leur principal danger vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN ou la membrane cellulaire (Gutteridge, 1993 ; Kristiina P et al. 2003)

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces Réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Origine des radicaux libres

Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres :

Sources endogènes

Les réactions enzymatiques, dont plusieurs d'entre elles sont considérées comme source principale des espèces réactives oxygénées (ERO) ex : NADPH oxydase, lipoxygénase, xanthine oxydase (enzyme dans le foie).

La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, dans le quel s'effectue la respiration cellulaire. La consommation de l'oxygène et les différentes réactions du transfert des électrons produisent en performance les ERO.

Les ions métalliques présents dans l'organisme ex : fer, cuivre, peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour produire des radicaux hydroxyles (Boutabet 2007, Servais 2002).

Sources exogènes

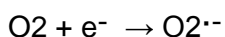
Les ERO sont également générées sous l'effet de stress environnementaux comme la pollution, la consommation d'alcool ou médicaments (dont leurs structures peuvent jouer le rôle des accepteur et donneurs d'électron), l'exposition prolongée au soleil, l'effort intense et prolongé ainsi que le tabagisme ; les facteurs interagissant lors des inflammations. Toutes ces situations provoquent une surproduction des ERO dans l'organisme (Fuorocci 2006).

L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (Hosein et Lytle, 2001).

Principaux radicaux libres*Les ERO (espèces réactives d'oxygène)*

Ces espèces constituent l'ensemble des dérivés des radicaux de l'oxygène. Il existe plusieurs formes de ces espèces dont les plus importantes sont les suivantes :

L'anion superoxyde: La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



Le radical hydroxyle (OH \cdot) : Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

Le radical peroxyde (ROO')

L'oxygène singulet (O₂) : forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Hadi, 2004., Mohammedi, 2006 ; Fuorocci 2006., Boutabet 2007).

1.9.2.3 Les conséquences du stress oxydatif

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques: oxydation d'ADN, des protéines, des lipides et des glucides.

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyde, réaction appelée peroxydation lipidique. Les conséquences seront différentes: l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidiques de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier 2003).

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des ruptures de brins (Hadi, 2004), ils inhibent la sécrétion d'insuline (Krippeit-Drews et *al.*, 1994).

Par ailleurs, le glucose peut s'oxyde dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH qui entraineront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (Marfak, 2003, Bouabet, 2007). Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (Favier, 2003).

Le stress oxydatif, principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes (Favier, 2003), maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinale, ulcères (Atawodi, 2005), les oedèmes et vieillissement prématuré de la peau (Georgetti *al.*, 2003).

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants, pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants (Halliwell et Gutteridge, 1999).

1.10 Les composés phénoliques

1.10.1 Généralités

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (Lugasi et al. ,2003).

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets antioxydant. Leur toxicité est faible et considéré non toxique. L'acide- caféique et acide -férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris. L'acide galliques inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats (Hale, 2003).

Les acides polyphénols sont contenus dans certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová et al., 2003).comme exemple d'acide phénolique, on cite : acidechlorogénique, acideprotocatechique acide vanillique, acideferulique, acide sinapique et acide gallique (Hale, 2003).

1.10.2 Classification des composés phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols ,notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins (Bessas, 2008., SFA, 2005).

1.10.2.1 Les acides phénols

Les acides polyphénols sont contenus dans certain nombre de plantes agricoles et médicinales (psotová et al., 2003). Ils constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires et ces dernières années ont fait l'objet d'études approfondies. Elle contient un noyau benzénique hydroxylée avec un ou plusieurs groupes carboxyle fixés directement ou indirectement à elle (Baliga, M.S et al., 2011).

Comme exemple d'acide phénolique, on cite : acide chlorogénique, acide protocatechique, acide vanillique, acide ferulique, acide sinapique et acide gallique (Hale, 2003). L'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats (Hale, 2003).

Les acides polyphénols sont anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti-radicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Bruneton, 1999).

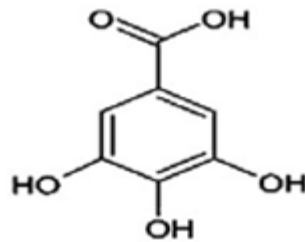


Figure 5. Structure chimique de l'acide gallique (Baliga et *al.*, 2011).

1.10.2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base, à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) (figure 6 Bruneton, 1999).

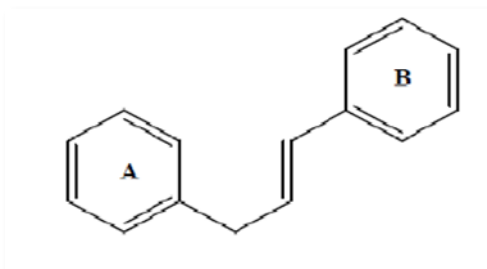


Figure 6. Structure de base des flavonoïdes (Kanoun, 2011).

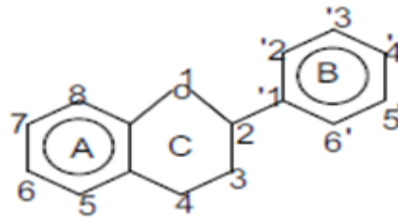


Figure 7. Structure nucléaire des flavonoïdes (Rania, 2007).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses (Middleton et Kardasnam, 1993).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure 8) (Medic Sanic et al, 2004).

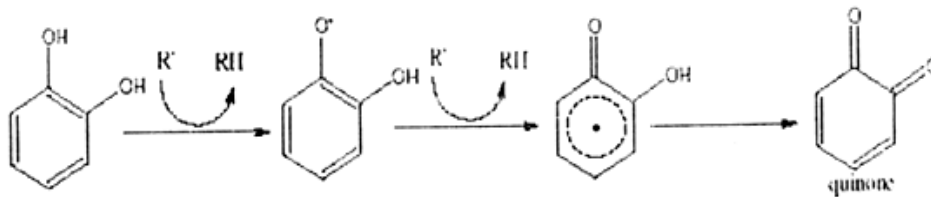


Figure 8. Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes

Parmi les nombreux pigments dérivants de cette structure, il convient de citer notamment:

Les anthocyanes

Ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques.

En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (Bessas et al, 2007).

L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux. Les anthocyanes inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), ce qui explique leurs propriétés vasculoprotectrices et anti-oedémateuse (Bruneton, 1999).

Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Cavin, 1999). Ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds, et favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole, 2009).

Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une classe de pigments solubles dans les graisses naturelles, et donnent une coloration vive pour les plantes. Ils sont une source importante de vitamine A et protègent la cellule contre les effets délétères des radicaux libres en agissant comme antioxydants (Di Mascio et al., 1991). Les caroténoïdes forment une famille de plus de 600 molécules notamment le lycopène et le 2-carotène, précurseurs de la vitamine A (Figure 10). Ils sont présents dans les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates (Marc et al., 2004).

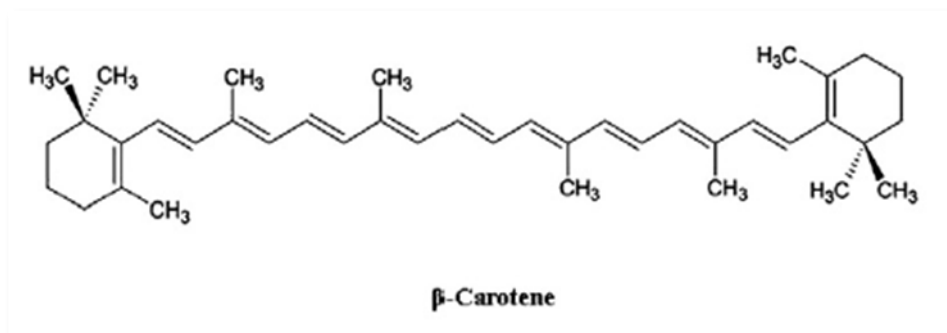


Figure 9. Structure chimique de β-carotene (Baliga et al., 2011).

Le rôle biologique des caroténoïdes est, entre autres, complémentaire de celui de la vitamine E, elle-même régénérée par la vitamine C, d'où l'intérêt de consommer une alimentation équilibrée, riche en fruits et légumes variés pour bénéficier des nombreux effets de synergie entre micronutriments (Miller et al., 1996).

Les propriétés antioxydantes des fruits varient en fonction de leur contenu d'éléments phénolique, vitamines C, vitamines E, caroténoïdes, et flavonoïdes (Saura-Calixto et Goni, 2006).

Matériel et Méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel végétal

L'algue d'eau douce *Spirogyra* sp. est récoltée à une profondeur de 10 à 20 cm dans le courant d'eau douce de l'Oued El Mellah de la commune de Tadjrouna (Wilaya de Laghouat) (Figure 10). L'échantillonnage a été effectué pendant le mois de février 2014.

L'algue verte *Spirogyra* sp. lavée, et séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière puis broyée à l'aide d'un mixeur en poudre fine qui est stockée dans un flacon en verre.



Figure 10. Photo originale Algue *Spirogyra* sp. (2014)

2.1.2 Produits chimiques

Le Folin-Ciocalteu (FC), l'acide gallique, l'acide sulfurique, 1,1-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchromane-2-carboxylique acid (Trolox), le chlorure ferrique hexahydraté ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), l'acide trichloroacétique (TCA), le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), carbonate de sodium (Na_2CO_3), l'hydroxyanisole butylé (BHA) sont fournis par Sigma-Aldrich-Aldrich Inc. (St Louis, Missouri, États-Unis). Le glucose, le phénol, le sulfate de cuivre, l'hydroxyde de sodium, le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'hexane et le chloroforme ont été fournis par Fluka (Deisenhofen, Suisse). Tous les autres produits chimiques sont d'un grade analytique.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation de l'extrait d'algue *Spirogyra* sp.

Dans des flacons en verre contenant 50 mL de solvant (acétone, chloroforme, méthanol, hexane et éthanol) en introduit 2.5 g de poudre de l'algue *Spirogyra* sp. Les flacons sont agités et sont incubé à température ambiante pendant 24 heures. Le macéra obtenu est ensuite filtré sur papier filtre. Le résidu obtenu est macéré encore une fois. Les filtrats récupérés sont regroupé puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse) à 55°C. Le résidu sec est dissout dans un volume de solvant appropriée pour avoir une concentration de (50 g/l) et stocké au réfrigérateur à + 4 °C pour une utilisation ultérieure. Le rendement d'extraction exprimé en gramme de résidu sec par 100 gramme de la matière sèche est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Le rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait après évaporation du solvant}}{\text{masse de matière végétale utilisée pour l'extraction}} \times 100.$$

2.2.3 Détermination quantitative des métabolites primaires d'algue *Spirogyra* sp.

2.2.3.1 Dosage des sucres totaux

La teneur des glucides totaux d'algue verte *Spirogyra* a été déterminée par la méthode de Dubois et al (1956).

Principe

En présence d'acide sulfurique concentré, les produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orange, l'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490 nm.

Mode opératoire

1^{ère} étape :

Il permet l'hydrolyse acide de la liaison ou glucosidique dans les polyoses. Dans un bécher, peser 0.5 g d'échantillon, et ajouter 20 ml d'acide sulfurique à 0.5 M, puis incubé l'ensemble dans une étuve réglée à 105°C pendant 3 heures.

2^{ème} étape :

Nous avons transvasé quantitativement le contenu du bécher dans une fiole de 500 ml (on ajuste le volume par l'eau distillée) puis on filtre la solution.

3^{ème} étape

Dans un tube en pyrex (\varnothing 2 cm), introduire à l'aide d'une micropipette avec précaution 1 ml de filtrat de l'échantillon convenablement dilué, puis ajouter 1ml d'une solution de phénol à 10% et 5 ml d'acide sulfurique (96 %) à l'aide. agitation les tubes sont maintenus pendant 5 minutes à 100 °C. Après,

Une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 490 nm. La coloration des échantillons reste stable pendant 3 à 4 heures. Pour chaque série de détermination, une gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de glucose à 100 $\mu\text{g/ml}$. Nous avons tracé la courbe d'étalonnage :

$$DO = C \times \alpha$$

Dont :

C : c'est la concentration ($\mu\text{g/ml}$)

α : pente de la courbe d'étalonnage

Nous avons exprimé les résultats par la teneur en sucres totaux d'échantillon en fonction de la courbe d'étalonnage et les densités optiques de ces derniers (Figure 11).

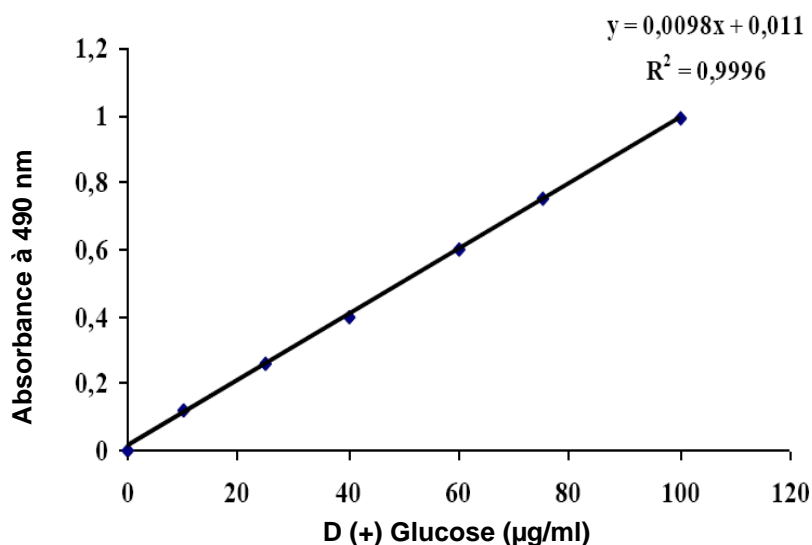


Figure 11. Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.

2.2.3.2 Dosage des lipides

Principe

Selon Lecoq (1965), l'extraction est faite à l'aide d'un appareil de Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction (méthode indirecte ou méthode des résidus) (Adrian et *al.*, 1998).

Mode opératoire

Nous avons placé une cartouche pleine de 10 grammes d'échantillon dans l'appareil de soxhlet. Le ballon de soxhlet est préalablement pesée vide.

On introduit 150 ml d'hexane dans le ballon, et on place ce dernier dans une chauffe ballon. L'extraction est réalisée pendant 3 heures.

Une fois l'opération terminée, on enlève le ballon de l'appareil qu'on sèche à l'étuve à 40°, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. L'expérience est répétée 2 fois. Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante:

$$\text{Taux de la matière grasse (\%)} = \left(\frac{P_1 - P_2}{E} \right) \times 100$$

P_1 : Poids de la cartouche pleine (avant l'extraction)

P_2 : Poids de la cartouche sèche (après l'extraction)

E : Masse de l'échantillon analyse.

2.2.3.3 Dosage des protéines brutes

Principe

Pour déterminer la quantité des protéines contenues dans un échantillon, on procède à un dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl qui a été développée en 1883 par un chimiste danois « Johan KJELDAHL ». Cette dernière s'effectue en trois phases : digestion (minéralisation), distillation et la titration.

Mode opératoire

Minéralisation

Dans un matras de Kjeldahl, on introduit 1 g du matériel biologique broyé et 2 g de catalyseur (sulfate de potassium et le sulfate de cuivre). 25 ml d'acide sulfurique concentré à 97 % est ajouté soigneusement. En fin 2 ml d'eau oxygénée) à 10 V sont ajoutés.

Le matras est chauffé jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide (bleu-verdâtre), à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral. Ensuite, on laisse refroidir et on transpose l'échantillon minéralisé dans une fiole, on lave le matras avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.

Distillation

Elle se fait dans une unité de distillation BÜCHI Distillation Unit B-324. Dans un matras, on introduit 10 ml du contenu de la fiole auquel on additionne 20 ml d'eau distillée et 30 ml de la soude à 35 %.

En parallèle, on prépare une solution d'acide borique à 2% avec quelques gouttes d'indicateur de Tashiro (de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin). La distillation s'effectue dans un appareil spécifique, elle est arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition.

Titration

Puisqu'on utilise l'acide borique comme solution de récupération, on va alors titrer l'excès des anions de borate avec la solution de HCl à 2% jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de Tashiro.

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci- dessous :

$$\text{Azote total (N)(\%)} = \left(\frac{V_B - V_E}{M} \times F \times 0.0014 \times 10 \right) \times 100$$

Dont :

V_B : Volume de NaOH 0.1N utilisé pour un essai blanc (ml).

V_E : Volume de NaOH 0.1N utilisé pour la titration de la solution à doser (ml).

F : Facteur de correction (F = 2).

100 : coefficient du pourcentage

10 : coefficient du volume total de la solution à doser

M : masse de la prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante

$$\text{Taux de protéines brutes (\%)} = \text{N total (\%)} \times 6,25$$

D'où 6,25 est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

2.2.4 Dosage quantitatif des métabolites secondaires d'algue verte *Spirogyra* sp.

2.2.4.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Principe

La méthode adoptée pour le dosage des polyphénols totaux est celle décrite par Waterhouse (2001). Les polyphénols ont été quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est une solution de couleur jaune constituée d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Ce réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968).

La coloration bleu produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006). La quantification des polyphénols a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 12).

Mode opératoire

Un volume de 20 μ l de l'échantillon convenablement dilué ou de solution de standard, est introduit dans un tube à essai contenant initialement 3.16 ml d'eau distillée et 20 μ l de méthanol. On ajoute ensuite 200 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu et on l'agite. Après 3 minutes, une solution de Na_2CO_3 d'une concentration de 200g/l (600 μ l) est ajoutée tout en agitant.

Après une incubation de 30 min à 40° C, l'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, contre un blanc (le même mélange excepté l'échantillon qui est remplacé par le méthanol). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par g du poids du résidu sec de l'algue (mg EAG/g). Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

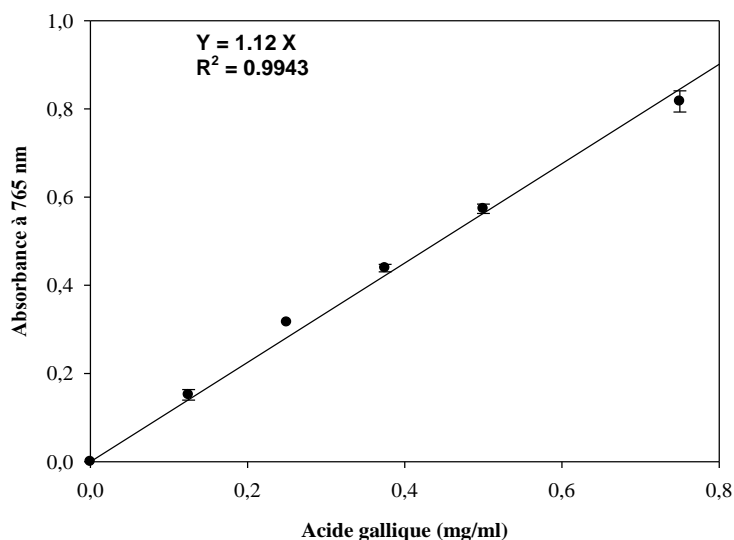


Figure 12. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

2.2.4.2 Dosage des caroténoïdes

La teneur des extraits de différent solvant de l'algue *Spirogyra* sp. en caroténoïdes a été déterminée par la méthode de Lichtenthaler et *al.* (1985). L'absorbance des extraits convenablement dilué dans du méthanol est mesurée à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis à différentes longueurs d'ondes (470, 653 et 666 nm). Les concentrations des chlorophylles a et b étaient déterminées à l'aide des équations suivantes :

$$\text{Chlorophyll } \alpha \text{ (mg/ml)} = 15.65 \text{ Abs}_{666} - 7.340 \text{ Abs}_{653}$$

$$\text{Chlorophyll } b \text{ (mg/ml)} = 27.05 \text{ Abs}_{653} - 11.21 \text{ Abs}_{666}$$

$$\text{Caroténoïdes totaux (mg/ml)} = 1000 \text{ Abs}_{470} - 2.860C_A - \frac{129.2 \times C_B}{245}$$

Les caroténoïdes totaux ont été exprimés en milligrammes de caroténoïdes par millilitre d'extrait.

2.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d'algue *Spirogyra sp.*

2.2.5.1 La méthode du radical DPPH

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire, des extraits de différent solvant de *Spirogyra sp.*, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2 picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Blois (1958) avec quelques modifications.

Principe

La méthode de test DPPH est basée sur la réduction de DPPH (un radical libre stable). Le radical libre DPPH avec un électron impair donne une absorption maximum de 517 nm (couleur pourpre). En présence d'un donneur d'hydrogène (antioxydant), le DPPH est réduit à la forme non radicalaire DPPH-H de couleur jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième (Figure 13), résulte d'une diminution de l'absorbance de DPPH (Mohammad et al., 2009). Plus la décoloration est importants, plus les capacités réductrices est élevée (Sanchez-Moreno, 2002, Ganie, 2012).

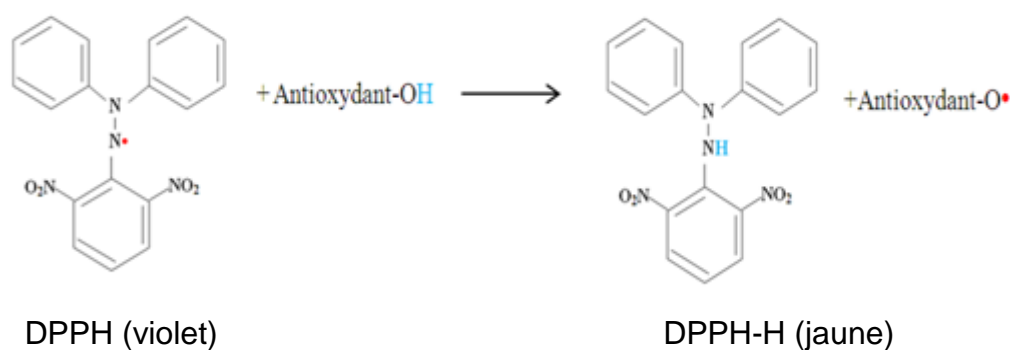


Figure 13. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Kouamé., et al. 2009).

Mode opératoire

Des diverses concentrations des extraits d'algue *spirogyra* 0.1 mL ont été ajoutées à 2.9 ml de solution méthanolique contenant le radical de DPPH. L'absorbance a été mesurée à 517 nm après que le mélange ait été secoué et incubé à la température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. Le méthanol a été employé en tant que blanc. Le Vita C, le Trolox, et le BHA, ont été employés comme des standards. Ils ont été mesurés dans les mêmes conditions que les échantillons. Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de deux mesures obtenues.

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC_{50} qui est la concentration des extrait algales responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits (Bidie, et al, 2011). Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Laib et Barkat, 2011).

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance antiradicalaire (Brandwilliams et *al.*, 1995).

$$ARP = 1 / IC_{50}$$

ARP : Puissance anti radicalaire

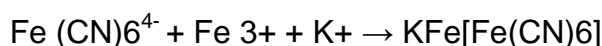
IC_{50} : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

2.2.5.2 Capacités réductrices ferriques d'antioxydants : Méthode FRAP

Principe

Ce test est basé sur l'étude de pouvoir antioxydant des extraits algales de différent solvant en utilisant la méthode de pouvoir oxydo-réducteur (Li et *al.*, 2008).

La présence des réductants dans les extraits d'algue *spirogyra* provoque la réduction de complexe ferricyanide- Fe^{3+} à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et *al.*, 2002).



Protocole expérimentale

Le pouvoir réducteur des extraits d'algue *Spirogyra* spp. a été déterminé par la méthode de Oyaizu (1986.) modifiée. Dans des tubes en verre, 50 μ l d'extrait de différentes concentrations ont été ajoutés dans un mélange de 1 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1% et 1 ml d'une solution tampon phosphate à 1 M (pH= 6). Après incubation des tubes à 50°C pendant 20 min, 1ml d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés afin d'arrêter la réaction. 1 ml de cette solution a été ajouté à 1 ml d'eau distillée et 0.2 ml d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0.1%.

L'absorbance des différents échantillons est lue à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 700 nm contre un blanc. L'acide ascorbique est utilisé comme standard.

2.2.6 Analyses des données

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=2). Les courbes d'étalonnages et des activités antiradicalaire et antioxydante des extraits d'algue *Spirogyra* sp. et des standards sont effectuées à l'aide du logiciel SigmaPlot (SigmaPlot for Windows Version 11.0, Copyright2008 Systat Software, Inc.).

Résultats et discussion

3.1 Détermination quantitative des métabolites primaires

3.1.1 Teneur en lipides

Les lipides sont des constituants biologiques nutritionnellement importants du point de vue calorique et de l'apport en acide gras essentiels ainsi qu'en vitamines liposolubles, ce sont des matières organiques insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. De multiples paramètres influent sur le taux de matière grasse comme la granulométrie, l'humidité, la nature du solvant et la méthode d'extraction utilisée.

D'après les résultats obtenus l'algue *Spirogyra* spp. contient une quantité appréciable en matière grasse (50%). Par conséquent, cette algue peut être utilisée pour la production des biocarburants et pour la nutrition animale.

3.1.2 Teneur en glucides

Le dosage des sucres totaux montre que l'algue *Spirogyra* est riche également en glucides (8.42%). Nos résultats sont relativement différents par rapport à ceux trouvés par d'autres chercheurs.

Sawarkar et Nandkar (2013) ont trouvé que le taux des lipides d'algue *Spirogyra* spp. est compris entre 4-7.2%. Nailwal et al. (2013) et Sharma et al. (2013) ont constaté respectivement que les algues *Spirogyra orientalis* et *Spirogyra singularis* contiennent environ 20.34 et 7.7-20% de lipides.

La teneur d'algue *Spirogyra* spp. en glucides totaux (8.42%) est relativement faible par rapport à ceux trouvés précédemment (33-65.72%) (Jagat et al., 2011 ; Sharma et al., 2013).

Ces différences peuvent être expliquées par l'effet du solvant d'extraction, l'espèce étudiée, les variations environnementales, les conditions expérimentales.

3.1.3 Teneur en protéines

Les protéines tiennent une place importante dans notre alimentation. En effet, pour l'Homme et l'animal, le besoin en protéines est d'environ 12 à 15% de la matière sèche du régime alimentaire, suivant l'espèce et l'état physiologique. Elles sont fournies essentiellement par les graines de céréales et des légumineuses.

La teneur en protéines brutes est l'un des critères utilisés pour évaluer la valeur nutritive d'un aliment. La teneur en protéines dépend sans aucun doute des conditions pédoclimatiques ainsi que du stade de développement de la plante.

L'évaluation du taux de protéines brutes d'algue *Spirogyra* spp. par la méthode de Kjeldhal (1883) révèle qu'elle contient environ 7% de protéines.

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés dans la littérature. Sharma et al. (2013) et Jagat et al. (2011) ont trouvé respectivement que la teneur en protéines des algues *Spirogyra singularis* et *Spirogyra* sp. sont 9-12% et 6-20%.

L'analyse de la composition biochimique d'algue *Spirogyra* spp. en métabolites primaires, montre que cette algue est riche en glucides, en lipides et en protéines.

En ce qui concerne les métabolites secondaires l'algue *Spirogyra* spp. est une source d'antioxydants naturels en particulier les caroténoïdes et les polyphénols.

3.2 Détermination quantitative des métabolites secondaires et de l'activité antioxydante d'algue *Spirogyra* spp.

3.2.1 Effet du solvant sur le rendement d'extraction et les teneurs en caroténoïdes et les composés phénoliques

Il est bien connu que le rendement d'extraction chimique dépend du type de solvant qui varie avec la polarité, le pH, le temps et la température d'extraction ainsi que de la composition chimique de l'échantillon (López et al., 2011).

Le solvant d'extraction a un effet important sur l'extraction des produits naturels. Différents solvants sont capables de modifier le profil d'extraction des composés phénoliques et finalement leur propriétés antioxydante (Li et al., 2012). Lorsque la polarité sur solvant change, elle peu provoqué l'extraction d'impuretés et réduit les activités antioxydantes (Huang et al., 2009; Safari et al., 2014 ; Salamatullah, 2014). Par conséquent, dans cette étude, les effets de cinq solvants (méthanol, acétone, éthanol, chloroforme et l'hexane) sur le rendement d'extraction et les teneurs en composés phénoliques et les caroténoïdes ont été évalués. Ces solvants ont été choisis à partir de la littérature qui montre leurs applications intéressantes pour de nombreux systèmes naturels (López et al., 2011).

Les rendements d'extraction des différents extraits d'algue *Spirogyra* sp. sont indiqués dans le Tableau (3).

Table 3. La teneur en caroténoïdes et en phénols totaux et le rendement d'extraction de l'extrait d'algue d'eau douce *Spirogyra* sp pour les différents solvants d'extraction.

Solvant d'extraction	Caroténoïdes totaux (mg/mL)	Phénols totaux (mg EAG/g extrait sec)	Rendement d'extraction (%)
Méthanol	428.04±7.65 ^a	20.55±0.025	9.60±0.00
Hexane	98.11±3.58	3.73±0.025	2.95±0.07
Acétone	1164.62±84.23	72.28±2.22	4.53±0.18
Ethanol	860.27±2.60	30.21±0.40	6.50±1.72
Chloroforme	566.89±23.03	17.25±0.05	6.31±0.74

^aChaque valeur est exprimée en Moyenne ± Erreur Standard (n = 2).

L'extrait méthanolique de *Spirogyra* sp. a le rendement d'extraction le plus élevée par rapport aux autres solvants. Le méthanol est un solvant très efficace pour l'extraction des composés phénoliques relativement polaires et des polyphénols des plantes (Zeng et al., 2012 ; Junthip et al., 2013).

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux trouvés par Junthip et al. (2013). Ces auteurs ont reporté que l'extrait méthanolique d'Algue *Spirogyra* spp. que le rendement d'extraction et la teneur en composés phénoliques sont respectivement 49.4% et 589.77 (mg EAG/g extrait). Ces différences peuvent être expliquées par l'influence de l'espèce d'algue étudiée, les conditions expérimentales d'extraction, la saison de la récolte et le climat de la région.

Nos résultats montrent que l'acétone est capable d'extraire à partir d'algue *Spirogyra* sp. des taux élevés en composés phénoliques (72.28 mg EAG/g extrait sec) et en caroténoïdes (1164.62 mg/mL) suggérant que la plus part de ces composés sont apolaires ou sont dépourvues d'une forme conjuguée polaire (Salamatullah, 2014). Ce même auteur a trouvé que l'acétone est le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques d'algue bleu-verte *Spirulina*.

L'algue *Spirogyra* spp. est plus riche en composés phénoliques par rapport aux extraits méthanoliques d'algues vertes *Microspora floccosa* (6.3 mg EAG/mg résidu sec) et *Cladophora glomerata* (12.6 mg EAG/g résidu sec) (Laungsuwon et Warawut Chulalaksananukul, 2013). Nailwal et Naiwal (2013) ont trouvé également que l'extrait méthanolique d'algue verte *Spirogyra orientalis* est de 8.6 mg EAG/g extrait sec.

Les extraits éthanoliques des microalgues verts *Chlorella* spp. ont presque la même teneur en composés phénoliques totaux (29.1-35.5 mg/EAG résidu sec) par rapport à l'extrait éthanolique de *Spirogyra* spp. (Choochote et al., 2014).

3.2.2 Effet du solvant sur l'activité antioxydante et antiradicalaire d'algue *Spirogyra* sp.

3.2.2.1 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le piégeage du radical DPPH a été utilisé pour étudier l'effet du solvant de macération sur l'activité antiradicalaire et antioxydante de l'extrait d'algue *Spirogyra* spp. La méthode DPPH^{*} n'est pas quantitative, elle permet de comparer entre les différents extraits selon leur capacité à piéger le DPPH^{*} (Popovici et al., 2009). Elle consiste à suivre à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm la réduction du radical DPPH qui s'accompagne par son passage d'une couleur violette à une couleur jaune.

La diminution de l'absorbance du milieu est causée par la réaction entre les molécules antioxydantes présentes dans les extraits d'algue *Spirogyra* spp. et le radical DPPH. Le résultat est le piégeage du radical par un donneur d'un atome d'hydrogène ou d'un électron libre pour former un radical intermédiaire stable (Manivannan et al., 2012).

Les Figures (14_{A-E}) montrent que les différents extraits d'algue *Spirogyra* spp. sont capables de piéger les radicaux libres DPPH de manière concentration-dépendante.

La capacité de piégeage du radical DPPH des extraits d'algue *Spirogyra* spp. peut être due la présence des composés donneurs d'hydrogène ou aux composés phénoliques non polaires comme les caroténoïdes et les tocophérols (Barros et al., 2008 ; Mui et al., 1998). Chidambara Murthy et al. (2005) ont montré que les caroténoïdes des microalgues vertes ont une activité antioxydante.

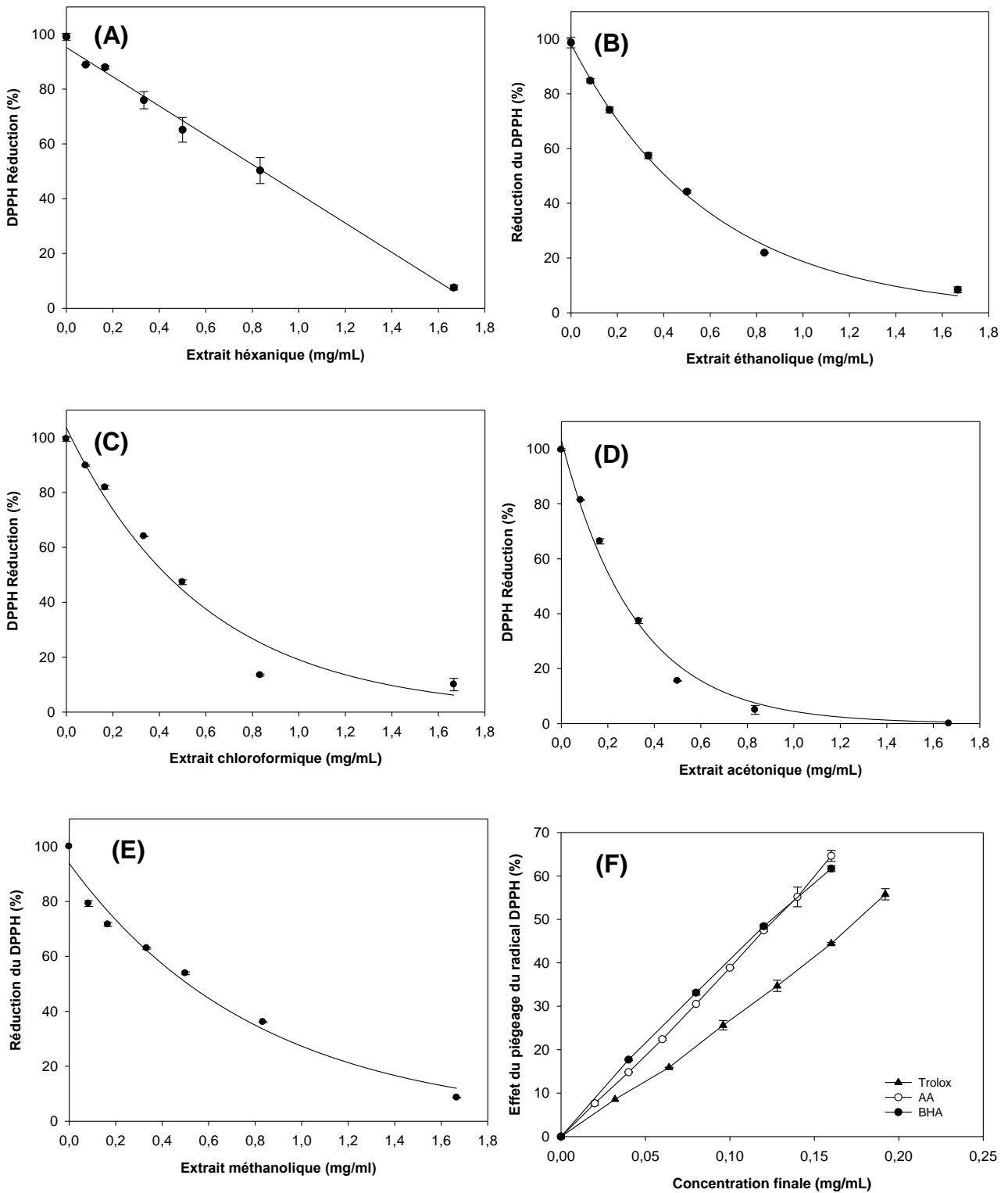


Figure 14. Représentations graphiques des pourcentages de DPPH résiduels en fonction de la concentration des extraits (A) hexanique, (B) éthanolique, (C) chloroformique, (D) acétonique et (E) méthanolique d’algue *Spirogyra* spp. et (F) des antioxydants standards.

Après analyse de nos résultats nous déduisons à partir de ces courbes la concentration EC_{50} (Tableau 4). En effet, la faible valeur EC_{50} signifie une forte activité antioxydante. Dans ce cas, la concentration EC_{50} d'extrait acétonique présente l'activité du piégeage du radical DPPH[•] la plus élevée qui est de l'ordre de 0.25 mg/mL. Cette valeur reste plus au moins comparable à celle du Trolox (0.17 mg/mL) mais inférieure à celles d'acide ascorbique (0.12 mg/mL) et du BHA (0.12 mg/mL). L'extrait d'algue préparé à l'aide d'hexane comme solvant d'extraction possède l'activité antioxydante la plus faible ($EC_{50} = 0.79$ mg/mL).

Il semble que les activités de piégeage du radical DPPH par les extraits sont plus élevées par rapport à celles trouvées pour les algues marines vertes *Caulerpa racemosa*, *Ulva lactuca*, *Gracilaria tenuistipitata*, et *Sargassum* sp. (EC_{50} : 1.08-103.73 mg/mL) (Yangthong et al., 2009).

L'extrait éthanolique de *Chlorella* sp. a un pouvoir antioxydant faible ($IC_{50} = 0.81$ mg/mL) (Choochote et al., 2014) par rapport à celui de l'extrait éthanolique de *Spirogyra* sp. ($EC_{50} = 0.406$ mg/mL).

Junthip et al. (2013) et Thumvijit et al. (2013) ont montré que les extraits aqueux et méthanolique d'algue *Spirogyra* spp. contiennent des composés phénoliques, des tanins, des vitamines (E et C), des glycosides et des saponines qui seront responsables de leur activité antiradicalaire évaluée par la méthode DPPH. Par conséquent, ces composés peuvent être donc responsables de l'activité antioxydante et antiradicalaire des extraits d'algue *Spirogira* spp.

Nous avons utilisé le paramètre pouvoir antiradicalaire (APR) pour classer les extraits d'algue *Spirogyra* spp. préparés par les différents solvants et les antioxydants synthétiques. Notant que, la faible concentration EC_{50} donne une valeur APR élevée. L'ordre de classification selon l'ordre décroissant d'activité antioxydante est comme suit: BHT, AA > Trolox > extrait acétonique > extrait éthanolique > extrait chloroformique > extrait méthanolique > extrait hexanique.

L'algue *Sirogyra* spp. représente donc une source naturelle d'antioxydants qui pouvant être utilisés dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Tableau 4. Résultats de l'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH de l'extrait d'algue d'eau douce pour les différents solvants d'extraction et des antioxydants standards.

	IC ₅₀ mg/mL	APR
<i>Extrait d'algue Spirogyra spp.</i>		
Hexane	0.799±0.0306	1.25
Chloroforme	0.471±0.006	2.12
Ethanol	0.4062±0.0109	2.46
Méthanol	0.558±0.003	1.79
<i>Antioxydants standards</i>		
Acétone	0.2519±0.001	3.96
AA	0.12±0.00	8.33
BHA	0.12±0.00	8.33
Trolox	0.17±0.00	5.88

L'extrait acétonique d'algue *Spirogyra* spp. a un pouvoir antioxydant beaucoup plus intéressant que celui des autres extraits. En effet, cet extrait possède les teneurs en phénols totaux et en caroténoïdes les plus élevées.

Nous avons voulu établir une corrélation entre le pouvoir antiradicalire et les teneurs en phénols totaux et en caroténoïdes. Le résultat obtenu nous montre la présence d'une forte corrélation linéaire entre le paramètre APR et la teneur en phénols totaux et en caroténoïde (Figure 15).

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Cha et *al.* (2010) et Choochote et *al.* (2014) qui ont montré une corrélation positive apparente entre l'activité antioxydante et la présence des composés phénoliques, les caroténoïdes et les chlorophylles dans l'extrait d'algue verte *Chlorella vulgaris*.

Il a été reporté également que l'activité antioxydante des extraits de végétaux est parfaitement corrélée avec leur teneur en composés phénoliques (Velioglu et *al.*, 1998).

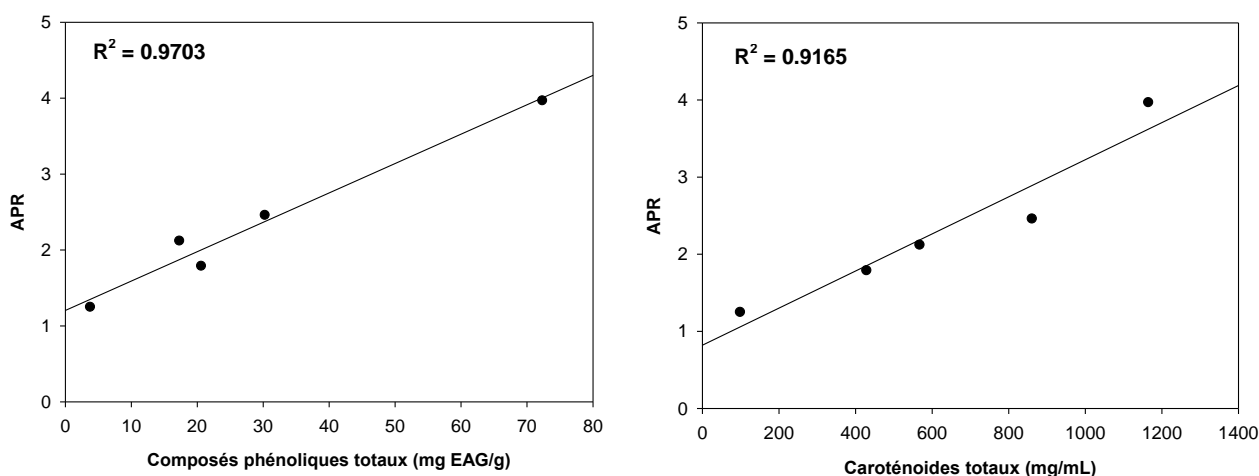


Figure 15. La corrélation entre la teneur en composés phénoliques et les caroténoïdes totaux et la puissance antiradicalaire des extraits d'algue *Spirogyra* spp. des différents solvants.

3.2.2.2 Détermination du pouvoir réducteur

Dans le test du pouvoir réducteur, les phénols ou autres composés donneurs d'électron dans l'extrait peut réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} . La quantité du complexe Fe^{2+} peut être mesurée par la formation de bleu de Prusse à 700 nm (Shon et al., 2003). L'augmentation de l'absorbance à 700 nm indique une augmentation de la capacité réductrice (Yen et Chen, 1995).

Les résultats de l'activité réductrice des extraits d'algue *Spirogyra* spp. et de l'acide ascorbique sont représentés dans la Figure 16. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration.

Le pouvoir réducteur des extraits chloroformique, éthanolique et acétonique à 20 mg/mL s'élèvent respectivement à 0.098 (± 0.00), 0.196 (± 0.012) et 0.259 (± 0.014). L'extrait acétonique a une forte activité antioxydante par rapport aux autres extraits et qui est faible par rapport à l'acide ascorbique. Ceci peut être due à sa richesse en composés phénoliques, en caroténoïdes et en d'autres agents réducteurs comme l'acide ascorbique qui agissent tant que donneurs d'électron.

Nabavi et al. (2013) ont trouvé que le pouvoir réducteur de l'extrait d'algue *Spirogyra singularis* à 0.8 mg/mL est de 1.625.

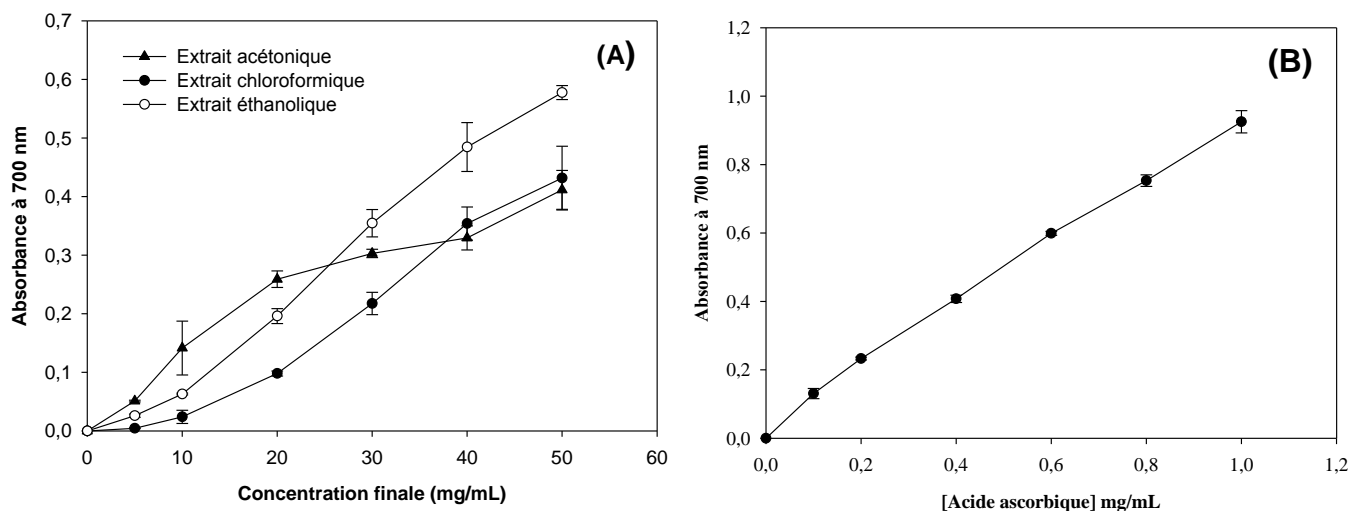


Figure 16. Le pouvoir réducteur des (A) extraits d'algue *Spirogyra* sp et (B) d'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreur standards de deux essais.

Conclusion générale

Dans cette étude la composition biochimique et l'activité antioxydante d'algue *Spirogyra* ont été étudiées.

Vue sa richesse en lipides, en protéines et en glucides, l'algue *Spirogyra* peut être utilisée pour la production des biocarburants ainsi que pour la nutrition animale.

L'activité antioxydante d'algue *Spirogyra* sp. a été déterminée pour la première fois en utilisant la méthode du radical DPPH et le test FRAP.

La nature du solvant influe de manière significative sur le rendement d'extraction et sur les teneurs en composés phénoliques et en caroténoïdes. L'extrait acétonique a le pouvoir antioxydant le plus élevé. Les composés phénoliques et les caroténoïdes sont responsables de cette activité vue la richesse de cet extrait en ses composés par rapport aux extraits préparés par les autres solvants.

L'algue *Spirogyra* sp. peut être considérée donc comme une source d'antioxydants naturels qui peuvent être utilisés dans les industries alimentaire et pharmaceutique et elle constitue aussi une source nutritionnelle.

Pour compléter cette étude, il serait envisageable d'une part de mesurer l'activité antioxydante d'algue *Spirogyra* par d'autres méthodes et d'isoler, d'identifier et de caractériser la molécule responsable de cette activité, et d'autre part d'effectuer des analyses qualitatives des protéines et des lipides de cette algue.

Références bibliographiques

Références bibliographique

- Ansari Naik.A, Hemavani. C and Thippeswamy B. 2012. Evaluation of antimicrobial property Spirogyra species. *International Multidisciplinary Research Journal* 2012, 2(2):13-15.
- Baliga, M.S. et al. 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L). *Food Research International*. 44. 1812–1822.
- Besançon. Barsanti L. Gualtieri P. 2006. *Algae: Anatomy, biochemistry and biotechnology*. Ed. CRC press Taylor & Francis group. Boca Raton, London and New York, P: 320.
- Bessas Ahmed. 2008. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien., Pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie, option contrôle de qualité et analyses, Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbès.
- Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. (2007). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.
- Bézanger B., Pinkas M., Totck M. et Trotin F. 1980. Les plantes médicinales des régions tempérées. Edition Maloine. Pp 12-13.
- Boutabet k., 2007. Etude pharmacochimique de l'extraît de propolis au cours d'un stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. Thèse de magistère de l'université de Jijel.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michel C., Gary K., Horn E., McAnalley S et McAnalley B., 2003. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience Nutrition*, 4(6), 7p.
- Bruneton, J. 1993. *Pharmognosie et phytochimie, plantes médicinales*, Tec et Doc Lavoisier. Paris, p 278-279.
- Bruneton, J. 1999. *Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 2ème édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 1120.
- Burtin P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, 2: 498-503.
- Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p 241 .
- Chidambara Murthy, K.N., Vanitha, A., Rajesha, J., Mahadeva Swamy, M., Sowmya, P.R., Ravishankar, GA. In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* — a green microalga. *Life Sciences* 76 (2005) 1381–1390.
- Choochote, W., Suklampoo, L., Ochaikul, D. 2014. Evaluation of antioxidant capacities of green microalgae. *J Appl Phycol*, 26:43–48.
- Collectif. 1997. Biologie et écologie des espèces végétales proliférant en France. Synthèse bibliographique. In *Les études de l'Agence de l'eau n°68*, pp. 199 pp.
- Cormaci M. et Furnari G. 2005. Guida alle alghe dell'Area Marina Protetta" Isole Ciclopi". Area Marina Protetta Isole Ciclopi. P. 10.
- Corolla Jean-Pierre et Michel Kupfer. 2009. in Engelhardt W., 1998, LA VIE DANS LES ETANGS, LES RUISSEAUX ET LES MARES, ed. Vigot, 316p.

Références bibliographique

- Dacosta, Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317
- Dejean-Arrecgros J. et Pierre J.F. 1977. Je découvre les algues marines et d'eaux douces. Edition André Leson. Pp 32-33.
- Dhargalkar V. K. and Pereira N. 2005. Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and culture*, 71: 60-66.
- Dhargalkat V.K. and Verlecar X.N. 2009. Southern ocean seaweeds: A resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture*, 287: 229-242.
- Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 194S-200S.
- 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.
- Favier, A. 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. 108-117.
- Favier, A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.
- 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.
- Fuorucci, S. 2006. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat de l'université de Nice Sophia Antipolis.
- 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.
- Gayral P. 1975. Les algues: Morphologie cytologie reproduction écologie. Ed. *Doin*. Paris, P: 166.
- Georgetti S. Rafael J. A., Jabor R. J., Casagrande R., R. Borin M., Fonseca Gerard-Monnier, D et Chaudière J., 1996. Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *PathBiol.*, 44, 77-85.
- Gutteridge J.M. 1993. Free radicals in disease processes : a compilation of cause and consequence, *Free radic Res Commun* ., 19, 141-158.
- Hadi, M. 2004. laquercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'université Louis Pasteur Domaine, pharmacochimie, 155p.
- Hale, A. L. 2003. Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds. And Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate Studies of Texas A M University. *Genetics*, 260.
- Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C. 1999. Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK. 617-783.
- Hemingway, R.W. 1992. Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: Lpant polyphenols: synthesis, propriétés, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New York.

Références bibliographique

- Hosein S.R et Lytle M. 2001. Les antioxydant. Traducteur : Alain Boutilier .*Catie Feuillet*
- Ismail A. et Hong T.S. 2002. Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal J Nutr.* 8 (2): 167-177.
- Ismail et Hong, 2002 ; Duan et al., 2006 ; Donadieu, 1985 ; Ganesan et al., 2008)
- Jagat, JM., Alva, JS., Kumar, D., Tiwari, B., and Ranganath, D. 2011. 19. Studies on biofuel from algae-cultivation of algae using sewage water as source of nutrient and water and development of innovative process on extraction of crude from algae. *Motorola Scholar Programme.* 129-135.
- Jaswir et Monsur, 2011 A review Anti-inflammatory compounds of macroalgae origin
- Junthip, R, Amornlerdpison, D and Chimsook, T. 2013. Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Spirogyra spp.* *Advanced Materials Research.* 699: 693-697.
- Kanoun, K. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine), En vue de l'obtention du Diplôme de Magister En Biologie, université ABOUBEKR BELKAID TLEMCCEN.
- Kansole, M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth.* Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- Khalanski, M., Bonnet, M. & Gregoire, A. 1987. Evaluation quantitative de la biomasse végétale en Durance à l'aval de Serre-Ponçon. In *Hydroécologie appliquée*, vol. 1-2, pp. 55-89.
- Kohen, R. and Nyska A. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 2002; 30: 620-650..
- Krinstiina, P., Marika L., 2003. Lesantioxydant dans l'alimentation .VTT biotechnology Finlande.,17p.
- Krippeit-Drews p., Lang F., Haussinger D et Drews G., 1994. H2O2 induced hyperpolarisation of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch.*, 426, 552-554.
- Laungsuwon, R., and Chulalaksananukul, W. 2013. Antioxidant and anticancer activities of freshwater green algae, *Cladophora glomerata* and *Microspora floccosa*, from Nan River in northern Thailand. *Maejo Int. J. Sci. Technol.* 7 : 181-188.
- Lebham. 2005. Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- López, A., Rico, M., Rivero, A., Suárez de Tangil, M. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry* 125 : 1104–1109.
- Lugasi, A ; Hovari, J ; Sagi, K.V ; et Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegediensis* 1-4: 119-125.
- Marfaing H. et Lerat Y. 2007. Les algues ont-elles une place en nutrition ?. *Phytothérapie.* 2-5.
- Marfak A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de dépsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.p30-40.

Références bibliographique

- Meddleton, E; Kardasami, J.C. (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London,p 617-652 .
- Medic Sanic, M; Jasprica, I; Smolcic Bubalo, A; et Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, p 361-366 .
- Miller, N.J ; Sampson, J ; Candeias, L.P., et al. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Lett*, 384 : 240-2.
- Mohammedi, Z.,2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydants huiles essentiels et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.,155p.
- Morel Y et Barouki R.,1999.Repression of gene expression by Oxidative stress. *Biochem J.*,342(3),481-496.
- Nabavi, SF., Nabavi, SM., Ebrahimzadeh, MA., Jafari, N., & Yazdanpanah, S. 2013. Biological Activities of Freshwater Algae, *Spirogyra singularis* Nordstedt, Journal of Aquatic Food Product Technology, 22:1, 58-65.
- Naegelé E. et Naegelé A. 1967. Les algues. Ed. *Presses universitaire de France*. Paris, P: 127.
- Naik Ansari, A., Hemavani, C., and Thippeswamy, B. 2012. Evaluation of antimicrobial property of *Spirogyra* species. *International Multidisciplinary Research Journal*. 2:13-15.
- Nailwal, S and Kumar Nailwal, T. 2013. Evaluation of antioxidant capacity and total
- Nailwal, S., Nailwal TK., Sharma, M and Garg, S. 2013. Physico-chemical characterization of algal oil (oilgae) of kumaun himalayan origin for potential biofuel application. *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation*, 2: 91-98.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* 44, 307–315.
- Ozenda P. 2000. Les végétaux : organisation et diversité biologique. Edition Dunod. Pp. 65-69.
- Patil K. J., Patil, VA., Mahajan, S.R., and Mahajan, R.T. 2011. Bio-activity of Algae Belonging to Bhusawal region, Maharashtra. *Curr. Bot.* 2:29-31.
- phenolic content of selected microalgae of kumaun himalayan region. *Int J Pharm Bio Sci*, 4: (B) 349 – 355.
- Prakash, JW., Antonisamy, JM., Jeeva, S. 2011. Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S170-S173.
- Psotová, J., Lasovsky, J; Vicar, J. 2003. Metal –chelating Propertys, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprotoective Activities of six Natural phenolic. *Biomed. Papers* 147(2), 147 153.
- Ravn H., Andary C., Kovacs G. et Molgaard P. 1984. Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plants pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Syst. Ecol.* 17, 175-184.
- Rodriguez, S. & Vergon, J. P. 1996. *Guide pratique de détermination générique des algues macroscopiques d'eau douce. Rapport d'étude pour le compte du Ministère de l'Environnement*. DIREN Franche-Comté,

Références bibliographique

- Roland J.-C. et B.Vian - Atlas de Biologie Végétale, 1985, Ed MASSON - fig. 1.70).
- Safari, P., Rezaei, M., Shaviklo, A R. 2014. The optimum conditions for the extraction of antioxidant compounds from the Persian gulf green algae (*Chaetomorpha* sp.) using response surface methodology. *J Food Sci Technol*. DOI 10.1007/s13197-014-1355-1.
- Saint-Maxent Th. 2002. Jeu de fiches descriptives des espèces végétales exotiques et indigènes susceptibles de proliférer dans le bassin Artois-Picardie, Agence de l'Eau Artois-Picardie, 167p.
- Salamatullah, A. 2014. characterization of extraction methods to recover phenolic-rich antioxidants from blue green algae (*spirulina*) using response surface approaches. A thesis presented to the Faculty of The Graduate College at the University of Nebraska In Partial Fulfillment of Requirements For the Degree of Master of Science. 94pages.
- Sawarkar, L L. and Nandkar, P.B. 2013. Lipid content of some green algae for biodiesel. *Journal Of Harmonized Research in Applied Sciences*, 1 : 77-79
- Servais S. 2002. Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. *Thèse de doctorat de l'Université de Claude Bernard*.
- SFA. (Société Française des Antioxydants) 2005. Compte rendu de la conférence polyphenols (23/24 NOV2005). Institut des corps gras. ITERG. Thèse de doctorat de l'université de Nice Sophia Antipolis.
- Sharma, P., Tandon, GD., and Khetmalas, MB. 2013. Total biomass utilization of *Spirogyra singularis* for renewable biofuel production. *IJBPAS*. 2: 138-148.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae. 296pages.
- Shon, M. Y., Kim, T. H., Sung, N. J. 2003. Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chem*. 82: 593–597.
- Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C. 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med*. 33: 575-586.
- Thumvijit, T., Inboot, W., Peerapornpisal, Y., Amornlerdpison, D and Wongpoomchai, R. 2013. The antimutagenic and antioxidant properties of *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 7(34), pp. 2494-2500.
- Venugopal V. 2009. Marine products for healthcare functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. Ed. *CRC press Taylor & Francis group*. Boca Raton, London and New York, P: 552.
- Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., Phromkunthong, W. 2009. Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds from the Southern Coast of Thailand. *Plant Foods Hum Nutr*, 64:218–223.
- Yen, G. C. and Chen, H. Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem*. 43(1): 27–32.