

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

Étude de l'activité antioxydante de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*

Présenté par :

M^{lle}. KAABOUCHE Kaltoum

M^{lle}. KOUIDRI Ahlem

Devant le jury :

Président M. GHERAOUI Mohmmmed

Université Amar Télidji-Laghouat

Rapporteur M. GOUZI Hicham

Université Amar Télidji-Laghouat

Examineur M. LEBOUKH Mourad

Université Kasdi Merbah-Ouargla

Soutenu publiquement le : 15 Mai 2018

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous remercions DIEU, tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

*Tout d'abord nous tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur **Mr. Gouzi Hicham**, Maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous tenons également à exprimer nos remerciements à tous les membres du jury pour accepté de présider et d'examiner ce travail: **M. Ghermaoui Mohammed** et **M. Leboukh Mourad**, désignés parmi les enseignants du département de Biologie, université de Laghouat, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous remercions encore tous les enseignants qui nous accompagnent durant notre cycle d'étude et les travailleurs de la bibliothèque, et aussi les ingénieurs de laboratoire, pour son patience et son l'aide.

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

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe administrative et enseignante du département de Biologie de l'Université Amar Telidji.

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.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour l'éducation et le soutien durant tout mon étude.

A mon fiancé Mohamed.

A tous les membres de la famille Kouidri

A mon binôme Kaltoum pour sa patience avec moi et à sa famille.

A tous mes amis

A mes collègues de la promotion de biochimie 2017

A tous qui me connaissent de près et de loin.

Ahlem

Dédicace

*Je dédie ce travail à ma famille **Kaabouche** et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents*

A ma grand-mère Hania Allah yerhamha

A ma très chère mère Mira ; tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père Ahmed ; rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes oncles : Saouli et Mebarek

A mes tantes : Tourkia et Kaira

A mes sœurs : Senia, Nousaiba, Hania, Fatna

A mes frères : Madani, Boumediene, Mouiza, Lamine, ahmed, Abdelbaset, Aymen

A mon Binôme « Ahlem » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

Sans oublier mes amies et a tous ceux qui ont connus et aussi mes brave amies de la promotion de Biochimie.

Kaltoum

Sommaire

Introduction	01
Synthèse bibliographique.....	03
Chapitre I. Généralités sur les algues marines	03
I. Définition.....	03
I. 1. Classification des algues.....	03
I.1.1. Les algues vertes (Chlorophycées)	03
I.1.2. Les algues brunes (Phéophycées)	04
I.1.3. Les algues rouges (Rhodophycées)	04
I.2 .Reproduction des algues.....	04
I.3. Rôle économique des algues.....	05
I.4. Cas particulier de l'algue rouge <i>Asparagopsis armata</i>	05
I.4.1. Caractéristiques d'identification	05
I.4.2. Habitat et éléments d'identification sur le terrain.....	06
I.4.3. Taxonomie	06
I.4.4. Reproduction.....	07
I.4.5. Cytologie.....	07
I.4.6. Espèces similaires.....	09
I.4.7. Impacts écologiques	09
I.4.8. Impacts économiques.....	09
I.4.9. Options en matière de gestion.....	10
Chapitre II. Généralités sur les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif.....	11
II. Généralités.....	11
II.1. Les radicaux libres.....	11
II.1.1 Définition	11
II.1.2 Les types des radicaux libres.....	12
II.2 Les antioxydants.....	13
II.1. Définition.....	13
II.2. Antioxydants naturels.....	13
II.2.1. Antioxydants enzymatiques.....	13
II.2.2. Antioxydants non enzymatiques	14
III. Le Stress oxydatif.....	21
Matériel et Méthodes.....	22
I. Matériels.....	22
I.1 Présentation du site d'échantillonnage de l'algue marine rouge.....	22
I.2 Produits chimiques.....	23
II. Méthodes.....	23
II.2. Dosage des polyphénols totaux.....	23
II.2.1. Principe de la méthode.....	24
II.2.2. Protocole expérimentale.....	24
II.2.3.Dosage flavonoïdes	24
II.2.3.1 .Principe de la méthode.....	24

II.2.3.2. Protocole expérimentale.....	24
II.3 .Dosage des caroténoïdes	25
II.4 Evaluation de l'activité d'antioxydante et antiradicalaire	26
II.4.1 Test DPPH.....	26
II.4.1.1 Principe de la méthode.....	26
II.5. Méthode de la réduction de fer (FRAP).....	26
II.5.1 Le principe.....	26
II.5.2. Le protocole expérimental.....	27
II.6 Analyses des données.....	27
Résultats et discussion	28
I Rendement d'extraction.....	29
II. Teneur totale en caroténoïdes, en composés phénoliques et en flavonoïdes	29
III. Evaluation de l'activité antioxydante...	30
III.1. Test du radical DPPH [•]	30
III.2 Evaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	33
Conclusion	33
Références bibliographiques	34

Liste des abréviations

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

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'Immunodéficiency Humaine.

AA : Ascorbique acide

BHA : Hydroxyanisole butylé

Liste des figures

N de figure	Titre	Page
01	<i>Asparagopsis armata</i>	06
02	Cycle de reproduction <i>Asparagopsis armata</i>	08
03	Ramification du thalle chez <i>Asparagopsis armata</i>	09
04	Structure de l'acide ascorbique.....	15
05	La structure de base des tocophérols et tocotriénols.....	16
06	L'algue marine rouge <i>Asparagopsi armata</i> raiche.....	22
07	La côte marine Salamandre de la région de Mostaganem où l'algue marine rouge a été récoltée.....	22
08	Courbes d'étalonnage pour le dosage des (A) polyphénols totaux et (B) des flavonoïdes.....	25
09	Courbes représentant la variation du pourcentage de la réduction de DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (A) et de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine <i>Asparagopsis armata</i> (B)	30
10	Courbes représentant la variation des absorbance à 593 nm en fonction des concentrations de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> (A) et de l'acide ascorbique (B) obtenues par le test de FRAP.	32

Liste des tableaux

N de tableau	Titre	Page
01	Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique	12
02	Les principales classes de composés phénoliques	17
03	Les principaux groupes de composés antioxydants dans les macroalgues	19
04	Structures de quelques antioxydants synthétiques	20
05	Les valeurs d'EC₅₀ de l'acide ascorbique et de l'extrait DCM de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i>.	31

Introduction générale

La biodiversité des macroalgues, rouges (rhodophycées), brunes (phéophycées) et vertes (chlorophycées) offre la possibilité de trouver diverses variétés de composés naturels ayant des propriétés biologiques intéressantes (**Andrade et al., 2013**).

Récemment, une des préoccupations majeures des industriels du domaines agro-alimentaire et pharmaceutique concerne la substitution des antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) par les antioxydants naturels vue que ces composés ce sont avérés toxiques provoquant des dommages hépatique, du cancer, des altérations des activités enzymatiques, et des réactions allergiques (**El-Bay et al., 2009 ; Zhang et al., 2007**).

Dans le corps humain, les produits chimiques exogènes et les processus métaboliques pourraient produire fortement des radicaux libres, particulièrement l'espèce réactive d'oxygène (ERO), capable d'oxyder les biomolécules, ayant pour résultat la mort des cellules et la destruction des tissus (**Halliwell et Gutteridge, 2003**). D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqué dans le début de beaucoup de maladies telles que le cancer, arthrite rhumatoïde et athérosclérose aussi bien que dans les processus dégénératives liés au vieillissement (**Halliwell et Gutteridge, 1984**). Pour cela, les antioxydants naturels représentent des outils prometteurs pour se protéger contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (**Roy et al., 2011**).

Les algues marines sont une excellente source de substances bioactives comme les caroténoïdes, les composés phénoliques, les fibres alimentaires, les vitamines, les acides gras essentiels, des protéines et des sels minéraux (**Chandini et Bhaskar, 2008**). Les métabolites trouvés au sein des algues marines ont des activités antioxydante, antimicrobienne, antivirale, anti-mutagéniques, anti-tumorale, antidiabétique et anti-hypertensive (**Andrade et al., 2013 ; Chew et al., 2008**).

Plusieurs travaux ont montré que les algues marines et en particulier les algues brunes et rouges ont des propriétés antioxydantes intéressantes vue leur richesse en composés phénoliques (phloroglucinol, phlorotannins et fucoxanthine), en caroténoïdes, en vitamines (A, C et B), en polysaccharides sulfatés, et en acide gras polyinsaturés (**Ye et al., 2009 ; Farvin et Jacobsen,**

2013 ; Balboa et al., 2013 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011; Andrade et al., 2013 ; Manivannan et al., 2012).

D'après nos connaissances seulement les propriétés antimicrobiennes des algues marines d'Algérie ont été étudiées (**Saidani et al., 2012**) tandis que leur activités antioxydantes n'ont pas reçues une attention similaire. Par conséquent, l'objectif principal de ce travail c'est tout d'abord estimer les teneurs en composés phénoliques en caroténoïdes totaux et en flavonoïdes de l'extrait dichlorométhanique (DCM) de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* récoltée de la cote marine de Salamandre de la région de Mostaganem. Ensuite, le pouvoir antioxydant et antiradicalaire de l'extrait DCM ont été évalué à l'aide de deux tests, le test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*}) et le test FRAP.

Ce mémoire présenté en trois grandes parties est séquencé comme suit. Le premier chapitre concerne un rappel bibliographique sur les algues marines. Le deuxième chapitre comprend quelques généralités sur les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif. Dans le troisième chapitre, nous mettrons en évidences les procédures expérimentales. Le quatrième chapitre est consacré à une discussion des résultats obtenus. Enfin, une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures, sont regroupées dans la conclusion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralités sur les algues marines

I. Définition

Les algues sont des organismes photosynthétiques que l'on trouve dans les milieux aquatiques d'eau douce ou marins, ainsi que dans de nombreux milieux terrestres. Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal (**Garon-Lardiere, 2004**).

I. 1. Classification des algues

Leur appareil végétatif ou thalle est extrêmement variable, aussi bien en forme qu'en dimension. Il peut ainsi être formé d'une seule cellule allant de quelques dizaines de microns à une dizaine de centimètres ; il peut au contraire comporter de très nombreuses cellules et atteindre plusieurs dizaines de mètres de longueur. Les algues se distinguent donc des autres végétaux par leur thalle, appareil végétatif uni- ou pluricellulaire, dépourvu de racines, de tiges et de feuilles. Les cellules des algues possèdent les mêmes éléments de structure que celles des plantes supérieures. Elles ont une paroi cellulaire partiellement cellulosique, des petits noyaux et des plastes pigmentés ou chromatophores (comportant de la chlorophylle souvent masquée par des pigments surnuméraires qui donnent aux thalles des couleurs rouge, brune, verte ou bleue). C'est ainsi qu'un des critères de classification des algues est leur pigmentation, qui permet de définir plusieurs grands groupes : les algues rouges (6 000 espèces), les algues brunes (2 000 espèces), les algues vertes (1 200 espèces) et les algues bleues (2 000 espèces). Ces dernières sont des organismes unicellulaires dépourvus de noyau différencié : il s'agit de procaryotes, également nommées cyanobactéries. Toutes les autres algues, uni- ou pluricellulaires, ont des cellules dont le noyau est différencié (noyau individualisé entouré d'une membrane). Ce sont des eucaryotes.

I.1.1. Les algues vertes (Chlorophycées)

Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures. La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre.

Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale.

I.1.2. Les algues brunes (Phéophycées)

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines.

I.1.3. Les algues rouges (Rhodophycées)

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles.

La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques unes vivent également en eau douce.

Les algues rouges sont divisées en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe.

I.2 .Reproduction des algues

Dans de très nombreux cas, la reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en la division d'une cellule isolée (cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées : les spores. Les algues eucaryotes réalisent en plus une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux cellules reproductrices, ou gamètes, produit un oeuf, ou zygote. La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes), et de phases de reproduction sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes). Aux cycles d'alternance de génération plus ou moins variés caractérisant leur reproduction, se superpose également une alternance de phases (de n à $2n$ chromosomes).

I.3. Rôle économique des algues

On estime que sur notre planète, l'activité photosynthétique est à plus de 90% le fait des algues marines, constituant ainsi notre principale source d'oxygène.

De nombreuses populations des régions côtières utilisent quotidiennement les algues marines pour leur alimentation. La propriété physiologique des algues qui consiste à concentrer dans leurs cellules des oligo-éléments contenus dans l'eau est désormais utilisée à des fins diététiques ou en thalassothérapie. Mais l'exploitation industrielle des algues est essentiellement liée à l'extraction de leurs phycocolloïdes, polysaccharides constituant la paroi des cellules, aux propriétés texturantes. On distingue ainsi les agars et les carraghénanes, extraits des algues rouges, des alginates, extraits des algues brunes. Les principales applications de ces phycocolloïdes sont dans le domaine de l'agro-alimentaire, mais également dans des domaines variés tels que celui de la cosmétologie ou encore de l'industrie des peintures.

I.4. Cas particulier de l'algue rouge *Asparagopsis armata*

Les algues sont des végétaux photosynthétique répartis dans tous les milieux aquatiques dont l'appareil végétatif simple (car ne comportant ni racines ni tige ni appareil vasculaire feuillé) est appelé thalle. Ce thalle peut être unicellulaire ou pluricellulaire. Au sein du règne végétal les algues représentent les plus anciens organismes vivants ; existant vraisemblablement depuis plus de trois milliard d'années (**painter ; 1982**) .elles ne peuvent cependant être assimilées à un ensemble homogène, et sont ainsi distribuées en quatre classes principales ; basées notamment sur leur pigmentation. Les cyanophycées(ou algues bleues) seraient apparues les premières il y a environ 3,7 milliards d'années, suivies des Rhodophycées (algues rouges, 1,7 milliard d'années), des phéophycées (algues brunes, 1,1milliard d'année) (**pérez, 1997**). L'algue sur laquelle nos recherches ont porté, *Asparagopsis armata*, appartient à la classe des algues rouges (Rhodophyta). Ont été reconnus depuis la fin des années 1800 pour être une riche source d'halogènes, en particulier le brome et l'iode.

I.4.1. Caractéristiques d'identification

L'algue rouge est caractérisée par deux stades morphologiquement différents au cours de son développement, à savoir un stade gamétophyte et un stade tétrasporophyte. Ses principaux stolons nus et cylindriques (mesurant 1 mm de large, 200 mm de long) sont ramifiés de manière

irrégulière et présentent des frondes touffues. Ses rameaux inférieurs sont longs et munis de crochets en forme de harpon.

I.4.2. Habitat et éléments d'identification sur le terrain

Au stade gamétophyte, elle est de couleur pâle rouge violacé et elle connaît une dégénération rapide hors de l'eau, devenant nettement orange. Elle se développe en tant qu'algue épiphyte fixée sur d'autres espèces d'algues, surtout la *Corallina sp.* Au stade tétrasporophyte, c'est une algue rouge brunâtre ramifiée et filamenteuse, formant des touffes cotonneuses denses de 15 mm de diamètre. Généralement, celle algue se développe sur les fonds rocheux au niveau de l'étage infralittoral, de la surface jusqu'à 40 m de profondeur.



Figure 1: *Asparagopsis armata* (Otero et al., 2013).

I.4.3. Taxonomie

Les algues rouges, ou Rhodophycées, sont très diversifiées et regroupent entre 5000 et 6000 espaces réparties dans environ 680 genres. Elles comprennent deux sous-divisions, les bangiophycées, et les floridéophycées dont l'organisation végétative (Van den hoek et al., 1995) est différente, les premières pouvant être qualifiées de « primitives ».

Asparagopsis armata Harvey (Harvey, 1855), est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est suivante :

Division : Rhodophyta
Classe : Rhodophyceae
Sous –classe : Florideophyceae
Ordre : Bonnemaisoniales
Famille : Bonnemaisoniaceae
Genre : *Asparagopsis*
Espèce : *Asparagopsis armata*

I.4.4. Reproduction

Elle est capable de reproduction sexuée et son cycle de vie est constitué de deux phases (hétéromorphe diplohaplontique) caractérisées par deux principaux stades morphologiquement différents au cours de son développement. Lors de la phase gamétophyte, correspondant à la forme nommée *Asparagopsis armata*, elle possède des organes mâles ou femelles ; cette phase est suivie d'un stade intermédiaire carposporophyte microscopique, puis de la phase tétrasporophyte, initialement nommée *Falkenbergia rufolanosa*. Les stades gamétophyte et sporophyte sont également capables de reproduction végétative. En dérivant, les gamétophytes s'accrochent facilement à d'autres algues grâce à des rameaux épineux et produisent de nouvelles pousses. La « *Falkenbergia* » se disperse également en flottant.

I.4.5. Cytologie

Asparagopsis armata, phase gamétophytique d'*Asparagopsis*, est une espèce annuelle. Cette algue photophile se développe au niveau d'infralittoral supérieur, entre la surface et dix mètres de profondeur, dans des zones modérément battues (zone abritée) (Cabioc'h et al., 1992). Elle est le plus souvent épiphyte d'autre algue, et colonise facilement les substrats artificiels. Son thalle se présente sous forme de touffes roses au contour pyramidal de 15 à 30 cm de long. Il est ramifié et est constitué par une alternance de rameaux longs à croissance indéfinie, de rameaux courts, encore appelés brachyblastes, et de rameaux épineux, en forme de « harpon », par l'intermédiaire desquels les frondes d'*Asparagopsis armata* s'accrochent aux algues environnantes. Ces deux derniers rameaux ont une croissance limitée (Figure 2).

Les rameaux longs naissent à partir d'une cellule initiale terminale (apicale) qui génère une file de cellule axiale très allongées constituant le filament axial. La structure du thalle uni axiale

est donc formée par un tube creux, constitué par ce filament axial et limité par un cortex cellulaire dense (Feldmann et Feldmann, 1939). La ramification des rameaux longs est générée par le cloisonnement oblique des cellules axiales, donnant naissance à deux cellules périaxiales opposées. Chacune va alors générer un filament axial latéral qui va se développer soit en rameaux courts pour l'un, soit en un nouveau rameau long à croissance indéterminée ou axe secondaire pour l'autre, ce dernier ressemblant à l'axe principal (Bonin et Hawkes, 1987 ; Feldmann et Feldmann, 1939 ; Womersley, 1996) (Figure 3).

Les rameaux courts (brachyblastes), quant à eux, ont une structure plus simple (Feldmann et Feldmann, 1942). Ils sont formés d'une seule file de cellules qui se divisent ensuite par des cloisons parallèles à l'axe du rameau pour donner naissance à une cellule centrale étroite (axe du brachyblaste) et à trois cellules plus large entourant le filament axial et constituant les cellules péricentrales. Ces dernières ne sont pas disposées toutes les trois au même niveau, Mais alternent régulièrement. Enfin, les rameaux épineux sont généralement disposés par paire à la base des axes secondaires, et sont produits par des cellules axiales successives. Leur structure est identique à celle des rameaux longs, mais ils sont assimilés à des rameaux à croissance définie.

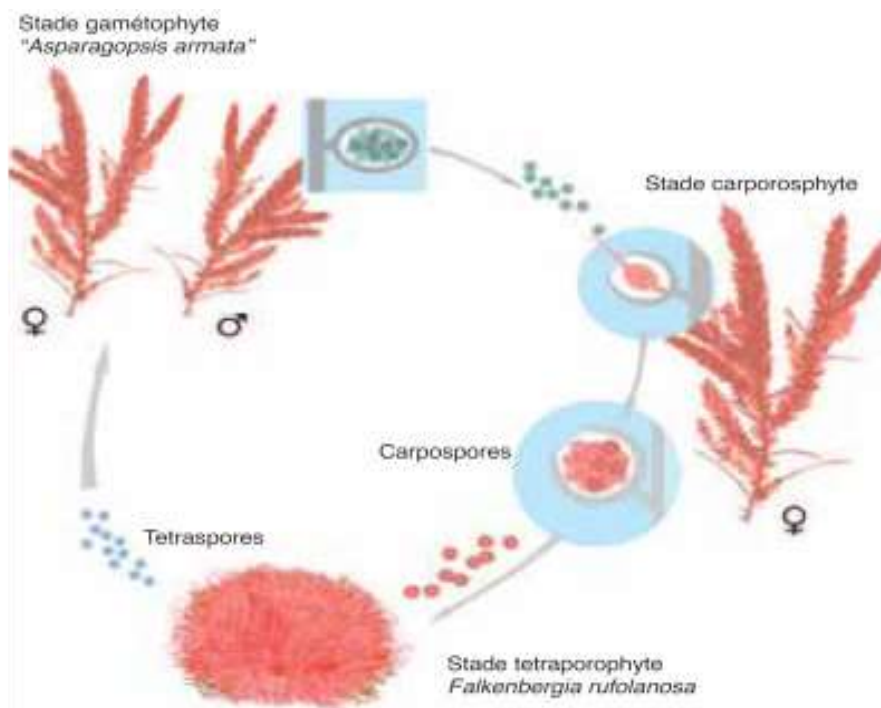


Figure 2 : Cycle de reproduction *Asparagopsis armata* (Otero et al., 2013).

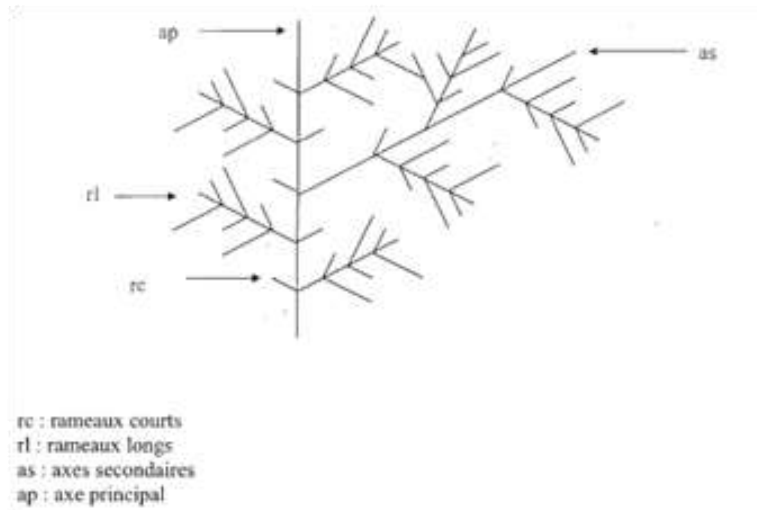


Figure 3 : Ramification du thalle chez *Asparagopsis armata* (Bonin et

I.4.6. Espèces similaires

Il est aisé de confondre les gamétophytes de *Asparagopsis armata* avec un autre envahisseur florissant, *Asparagopsis taxiformis*, mais *Asparagopsis armata* se distingue par la présence de crochets en forme de harpon. *Asparagopsis armata* est capable de survivre et de prospérer dans des milieux plus froids que ceux de *A. taxiformis* qui préfère les eaux beaucoup plus chaudes. L'ensemble du genre semble être doté d'un potentiel d'invasion élevé. Ces algues se dispersent avec les courants marins en s'accrochant à des objets flottants. Une autre espèce exotique d'algues rouges, la *Bonnemaisonia hamifera*, est présente dans des habitats similaires. Elle se distingue au stade gamétophyte par les ramifications modifiées qu'elle produit, ressemblant à des crochets recourbés en forme de crosse

I.4.7. Impacts écologiques

Ces impacts sont inconnus mais l'espèce domine probablement les espèces autochtones en termes d'espace et de lumière.

I.4.8. Impacts économiques

Des essais ont mis en lumière les composés pharmaceutiques potentiels de cette algue indiquant une activité antifongique et antibiotique.

I.4.9. Options en matière de gestion

Dès qu'elle devient envahissante, il est impossible de l'éradiquer ni même de la confiner. La manière la plus efficace et la moins coûteuse de contrôler éventuellement cette espèce consiste à agir dès le début du processus d'invasion.

Chapitre II. Généralités sur les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif

II. Généralités

L'oxydation est essentielle à beaucoup des organismes vivants pour la production de l'énergie pour alimenter les processus biologiques. Les radicaux libres sont produits durant le métabolisme cellulaire normal et/ou pathologique (**Wong et Chye, 2009**). Les cellules sont équipées avec plusieurs systèmes de défense contre les dommages du radical libre, incluant les enzymes oxydantes, telles que, le superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase et la catalase, ou des composés chimiques, tels que l' α -tocophérol, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les composés phénoliques (**¹Barros et al, 2008**). Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (**Favier, 2003**).

II.1. Les radicaux libres

II.1.1 Définition

Un radical libre est une molécule avec un ou plusieurs électrons non appariés dans l'orbitale externe. Cette propriété les rend très instable et très réactif, en essayant de capturer l'électron nécessaire à partir d'autres composés pour obtenir la stabilité. Lorsque la molécule attaquée perd son électron, elle devient elle-même un radical libre, commençant une réaction en chaîne. Plusieurs de ces radicaux libres sont sous forme des espèces réactives de l'oxygène telles que: le radical superoxyde (O_2^{\bullet}), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical pyroxyde (ROO^{\bullet}) et de l'azote: tels que le radical oxyde nitrique (NO^{\bullet}), ceux-ci peuvent se produire, en raison du stress oxydatif provoqué par un déséquilibre du système de défense antioxydant corporel. Les ERO attaquent les molécules biologiques telles que les lipides, les protéines, les enzymes, l'ADN et l'ARN menant

aux dommages de la cellule ou du tissus liés au vieillissement (Meenakshi *et al.*, 2009 ; Surh et Packer, 2005).

II.1.2 Les types des radicaux libres

Les principaux ERO et les ERN sont présentés dans le **Tableau (1)** suivant :

Tableau 1: Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique (Devasagayam *et al.*, 2004).

Espèces réactives	Symbole	Demi-vie (en sec)	Réactivité / Remarques
Espèces réactives de l'oxygène			
Superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	10^{-6}	Généré dans les mitochondries, dans le système cardio-vasculaire et d'autres
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	10^{-9}	Très réactif, générés pendant la surcharge en fer et les conditions de notre corps.
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Stable	Formé dans notre corps par un grand nombre des réactions et des rendements puissants des espèces comme OH^{\cdot}
Radical pyroxyde	ROO^{\cdot}	1	Réactif et formé à partir des lipides, protéines, ADN, sucres, etc. pendant le dommage oxydatif
Hydroperoxyde organique	$ROOH$	Stable	Réagit avec les ions métaux transitoires pour donner des espèces réactives
Oxygène singulet	O_2^{\cdot}	10^{-6}	Très réactif, formé au cours de la photosensibilisation et les réactions chimiques
Ozone	O_3	1	Présente comme un polluant atmosphérique, peut réagir avec différentes molécules, ce qui donne O_2^{\cdot}
Espèces réactives de l'azote			
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}	1	Neurotransmetteur et régulateur de la pression artérielle, peut produire des oxydants puissants pendant des états pathologiques.
Peroxynitrite	$ONOO^-$	10^{-3}	Fortement réactif, formé à partir de NO^{\cdot} et $O_2^{\cdot-}$
Acide Peroxynitrous	$ONOOH$	Assez stable	Forme protonée de $ONOO^-$
Bioxyde d'azote	NO_2	1	Formé au cours de la pollution atmosphérique.

II.2 Les antioxydants

II.1. Définition

Tous les organismes possèdent des systèmes de réparation et de défense antioxydant qui a évolués pour les protéger contre le dommage oxydatif, ces systèmes sont insuffisants pour empêcher le dommage entièrement. Cependant, les suppléments antioxydants, ou les aliments contenant les antioxydants, peuvent être employés pour aider le corps humain à réduire le dommage oxydatif (**Yang et al, 2002**).

Un antioxydant est n'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat de manière significative en donnant un électron et/ou un atome d'hydrogène. Les antioxydants peuvent agir de différentes manières: par chélation des métaux (empêchant la formation des radicaux libres), piégeage des radicaux libres, agissant comme une chaîne de rupture (arrêtant la propagation des radicaux libres), faisant partie du réseau antioxydant redox, et/ou de régulation de l'expression du gène (**Celep et al., 2012 ; Surh et Packer, 2005**).

Selon **Vijay et Vimukta (2014)** et **Birben et al. (2012)**, les antioxydants sont classés comme suit :

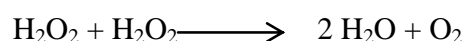
- Les antioxydants naturels : enzymatiques et non enzymatiques ;
- Les antioxydants synthétiques.

II.2. Antioxydants naturels

II.2.1. Antioxydants enzymatiques

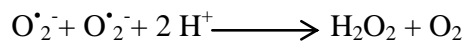
II.2.1.1. Catalase

C'est est une enzyme présente dans les cellules des plantes, des animaux et des bactéries aérobies. La catalase est située dans une organelle cellulaire appelée le peroxysome. Elle favorise très efficacement la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire, une molécule de catalase peut convertir environ 6 millions molécules du peroxyde d'hydrogène chaque minute (**Valko et al, 2006**) selon la formule suivante :



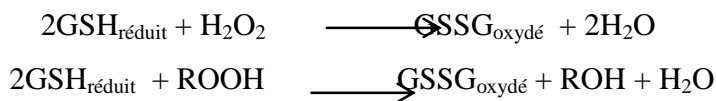
II.2.1.2. Superoxyde dismutase

L'activité SOD constitue un élément essentiel dans le système cellulaire antioxydant pour protéger la matrice extracellulaire ainsi que les cellules contre les effets délétères de l' $O_2^{\bullet -}$ et ses dérivés. Le SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet -}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la formule suivante (Afonso *et al.* 2007):



II.2.1.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSH-R)

Le GSH-Pxs sont une famille des enzymes tetramériques qui contiennent un acide aminé unique le sélénocystéine dans les sites actifs et utilisent les thiols de faible poids moléculaire, tels que le glutathion réduit (GSH) (Birben *et al.*, 2012) pour réduire le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques en eau (ou alcool) selon les formules (Valko *et al.*, 2006):



II.2.2. Antioxydants non enzymatiques

II.2.2.1. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments qui sont trouvés dans les plantes et les micro-organismes. Il y a plus de 600 caroténoïdes produits dans la nature (Valko *et al.*, 2006). Ils incluent les hydrocarbures, le lycopène, le β -carotène, et les xanthophylles (qui possèdent une substitution hydroxyle et/ou carbonyle sur une ou les deux groupes des extrémités de la molécule): astaxanthine, canthaxanthine, lutéine, et zéaxanthine (El-Agamey *et al.*, 2004). L'activité antioxydante des caroténoïdes provient principalement du fait de la capacité de la structure à double liaison conjuguée à délocaliser les électrons non appariés. Cela est principalement responsable de la capacité excellente de β -carotène pour protéger physiquement l'oxygène singulet sans dégradation, et pour la réactivité chimique de β -carotène avec les radicaux libres, tels que ROO^{\bullet} , OH^{\bullet} et $O_2^{\bullet -}$. À des concentrations suffisamment élevées, les caroténoïdes peuvent protéger les lipides contre les dommages de peroxydation.

Généralement, trois mécanismes sont proposés pour la réaction de radicaux libres avec les caroténoïdes: l'addition radicalaire, l'abstraction d'hydrogène du caroténoïde et la réaction de transfert des électrons (Valko *et al.*, 2006).

II.2.2.2. Vitamine C

La vitamine C (l'acide ascorbique ou, l'ascorbate) (**Figure 9**) est un composé organique hydrosoluble exigé pour la synthèse des globules rouges et du collagène, elle est obtenue principalement par l'alimentation (**Vélez-Alavez et al, 2014**). La vitamine C a des propriétés antioxydantes et des fonctions métaboliques importantes (Bourgeois, 2003) et agit comme un élément terminal dans la protection contre le dommage du tissu provoqué par les radicaux libres, mais quand les deux vitamines C et E sont présentes, la fonction majeure de la vitamine C est la restauration de la vitamine E (**Vélez-Alavez et al, 2014**).

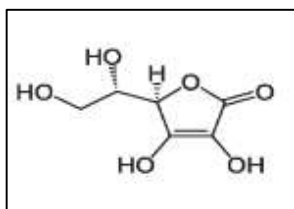


Figure 04: Structure de l'acide ascorbique (**Birben et al, 2012**).

II.2.2.3. Vitamine E

La vitamine E naturelle est constituée d'une série de composés appelés tocophérols et tocotriénols se représente sous forme de (α -, β -, γ -, δ -) (**Figure 10**). C'est dans la stéréochimie du RRR- α -tocophérol, que la vitamine E présente l'activité biologique la plus élevée (**Bourgeois, 2003**).

L' α -tocophérol, la forme principale de la vitamine E, est un antioxydant liposoluble, et il fonctionne comme un antioxydant de rupture de chaînes pour la peroxydation de lipide (LP) dans les membranes cellulaires et également comme un piègeur des ERO tel que l'oxygène singulet (**Barros et al, 2008**).

La vitamine E est impliquée dans la réponse immunitaire et peut-être un de ses fonctions physiologiques principales pour protéger les membranes contre le dommage oxydatif (peroxydation de lipide) en réduisant les peroxydes lipidiques en alcool (**Vélez-Alavez et al., 2014 ; Bourgeois, 2003**).

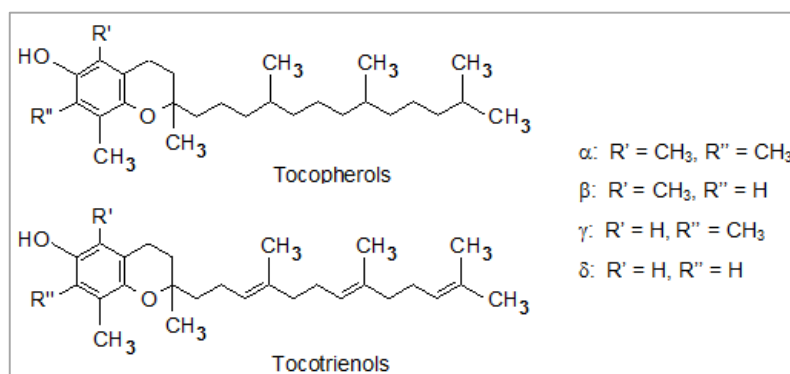


Figure 05: La structure de base des tocophérols et tocotriénols (Lampi, 2011).

II.2.2.4. Les polyphénols

Définition : Les composés phénoliques sont des composés aromatiques hydroxylés, possédant un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupements hydroxyle (Palacios et al, 2011). En nature, les composés phénoliques sont habituellement trouvés conjugués aux sucres et des acides organiques (Matthews et al, 1997). Ils incluent un grand nombre de sous classes, telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, y compris les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, les stilbènes, les lignanes, les tannins, et les polyphénols oxydés, montrant une grande diversité de structure (Palacios et al., 2011).

Classification des composés phénoliques : Les principales classes des composés phénoliques sont indiquées dans le Tableau (2).

Tableau 2 : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epice, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféïque, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Napthoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₃	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	Flavanols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légume, fleurs
	Anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges
	Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, Raisin
	Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

Rôle biologique des composés phénoliques

Les acides phénoliques : Les acides phénoliques ont des dérivés hydroxylés des acides carboxyliques aromatiques, qui résultent du groupe de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique. Ils ont une forte activité inhibitrice de l'oxydation induite par les radicaux pyroxyles (Neo *et al.*, 2010). Les acides phénoliques sont également connus pour leurs actions antibactériennes, antivirales, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, et vasodilatrices (Ravichandran *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes : La meilleure propriété décrite pour chaque groupe de flavonoïdes est leur capacité d'agir comme des antioxydants. Les flavones et les catéchines semblent d'être les

flavonoïdes les plus puissantes protégeant le corps contre les ERO. Les flavonoïdes et les esters des acides phénoliques ont été également étudiés pour leurs activités antibactériennes, antifongiques et antivirales, anti-inflammatoires, particulièrement le quercétine, possèdent une activité antidiabétique (**Jain et al., 2010**). Le kaempferol, le myricétine, et la quercétine sont des inhibiteurs forts de la xanthine oxydase, et indiqués dans le traitement de la goutte, du hyperuricemia, et des dommages de reperfusion (**Shohaib et al., 2011**).

Les anthocyanes : Les anthocyanes ont des valeurs thérapeutiques importantes, notamment des activités anti-tumorales, antiulcéreuses, antioxydantes, et anti-inflammatoires. En outre, la cyanidine, l'anthocyane aglycone, a montré une activité anti-inflammatoire plus efficace que l'aspirine (**Zhou et Singh, 2004 ; Blando et al., 2004**).

Les lignines : Les lignines sont des polymères phénoliques complexes qui peuvent exercer des propriétés antioxydantes. En raison de la teneur élevée des divers groupes fonctionnels (hydroxyles phénoliques et aliphatiques, carbonyles, carboxyles, etc.) et sa structure phenylpropanoïque, la lignine peut agir comme un neutraliseur ou inhibiteur des processus de l'oxydation, stabiliseurs des réactions induites par des radicaux de l'oxygène et leur espèce dérivée. Elles ayant un effet protecteur sur l'ADN et empêchent le processus de mutagénicité ayant pour résultat un agent antimutagénique et anticarcinogénique potentiel (**Pouteau et al., 2003 ; García et al., 2010**).

Les phlorotannins : Les phlorotannins constituent un sous-groupe de tanins (**Wijesinghe et Jeon, 2012**). Ils présentent des activités antivirales et antiallergiques et des effets anti-adipogéniques et neuroprotecteurs et ont une application potentielle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, et sont des inhibiteurs de la formation de mélanine (**Stengel et al., 2011**).

Les antioxydants non enzymatiques des macroalgues

Tableau 3: Les principaux groupes de composés antioxydants dans les macroalgues (Cornish et Garbary, 2010).

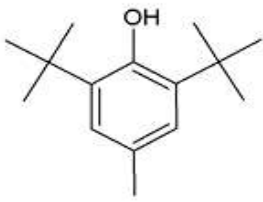
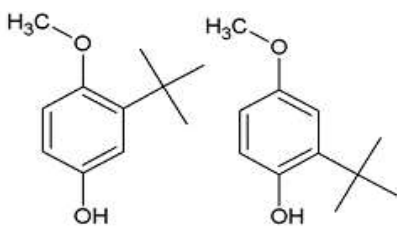
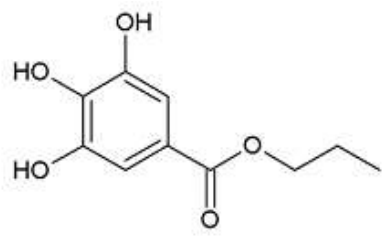
Catégorie générale	Exemple des composés	Source algale	Référence
Caroténoïdes	β-carotène	<i>Chondrus crispus</i>	Lohrmann et al, 2014
		<i>Mastocarpus stellatus</i>	
	Fucoxanthine	Algue brune	Sachindra et al, 2007
	Anthéroxanthine, Lutéine, Violaxanthine, Zeaxanthine	Algue rouge	Schubert et al, 2006
Composés phénoliques	Stypodiol, isoepitaondiol, taondiol	<i>Taonia atomaria</i>	Nahas et al, 2007
	Terpénoïdes	<i>Cystoseira sp.</i>	Foti et al, 1994
Pigments phycobilines	Phycoerythrine, phycocyanine	Algue rouge en général	Romay et al, 2003 ; Sekar et chandramohan, 2008 ; Soni et al, 2009 ; Yabuta et al, 2010
Polyphénols	Catéchine, épicatechine, gallate	<i>Halimeda sp.</i>	Devi et al, 2008
	Flavonoïdes	<i>Palmaria palmata</i>	Yuan et al, 2005
	Phlorotaninns	<i>Sargassum pallidum</i> <i>Fucus vesiculosus</i>	Ye et al, 2008 Díaz-Rubio et al, 2009
Polysaccharides sulphatés	Fucoïdane, acide alginique, laminarane	<i>Turbinaria conoïdes</i>	Chattopadhyay et al, 2010
	Fucoïdane	<i>Laminaria japonica</i>	Luo et al, 2009
	Galactane sulphatés (lambda carrageenane)	Certaine algue rouge marine	Rocha de souza et al, 2007 ; Barbona et al, 2011
	Galactanes	La plupart est algue rouge	Costa et al, 2010
	Glycosamino- glycane sulphaté	<i>Sargassum wightii</i>	Josephine et al, 2008
	Porphyrane	<i>Porphyra sp.</i>	Athukorala et al, 2006

Vitamines	Ascorbate	<i>Chondrus crispus</i>	Lohrmann et al, 2004
		<i>Mastocarpus stellatus</i>	
		<i>Sargassum sp.</i>	García-Casal et al, 2009
	Vitamine A	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Kumar et al, 2008

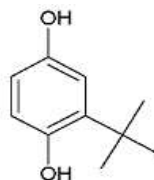
II.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des composés phénoliques synthétisés au laboratoire et ont été employés dans la stabilisation des aliments. Les plus largement utilisés sont l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyquinone butyltertiaire (TBHQ), et le gallate de propyle (PG) qui sont souvent ajoutés aux aliments pour préserver les graisses contre la détérioration oxydative (Tableau 4). Pendant les dernières décennies, il y a un intérêt croissant pour le remplacement des antioxydants synthétiques par des alternatives naturelles, à cause de leurs problèmes de sécurité et de toxicité (Cheung et al, 2003 ; Shalaby et al, 2013 ; Zhang et al, 2007).

Tableau 4: Structures de quelques antioxydants synthétiques (Schillaci et al, 2013).

Nom	Structure
BHT (E321)	
BHA (E320) (2 isomères)	
PG (E310)	

TBHQ (E319)



III. Le Stress oxydatif

Les cellules vivantes, y compris ceux de l'homme, les animaux, et les plantes, sont continuellement exposées à des variétés de défis qui exercent un stress oxydatif. Le stress oxydatif survient dans un système biologique après une augmentation de l'exposition des oxydants, et une diminution de la capacité antioxydante du système. Il est souvent associé avec ou mène à la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO), y compris les radicaux libres, qui sont fortement impliqués dans la pathophysiologie des maladies, telles que le cancer, l'arthrite rhumatoïde, la cirrhose et l'artériosclérose aussi bien que des processus dégénératifs liés au vieillissement (**Barros et al, 2008**). Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigue, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (**Favier, 2003**).

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1 Présentation du site d'échantillonnage de l'algue marine rouge

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* (**Figure 06**) est récoltée à une profondeur d'environ 50 cm de la surface d'eau de mère de la plage Salamandre de la Wilaya de Mostaganem. L'échantillonnage a été effectué pendant le mois de Mars 2017. Les échantillons d'algue sont séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière puis broyés en poudre fine à l'aide d'un mixeur qui sera stockée dans un flacon en verre.



Figure 06: L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* fraîche (Otero et al, 2013).



Figure 07: La côte marine Salamandre de la région de Mostaganem où l'algue marine rouge a été récoltée (Otero et al, 2013).

I.2 Produits chimiques

Le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH), le Folin-Ciocalteu (FC), le TPTZ (2,4,6-tris-2,4,6-tripyridyl-2-triazine), le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), le carbonate de sodium (Na_2CO_3), le chlorure ferrique hexahydraté ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), sont fournis par Sigma-Aldrich-Aldrich Inc. (St Louis, Missouri, Etats-Unis). L'acide L-ascorbique (AA), l'acide gallique (AG), le méthanol, la quercétine, le dichlorométhane (DCM), le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$ anhydre) et le nitrite de sodium ont été fournis par Fluka (Deisenhofen, Suisse). Tous les autres produits chimiques sont d'un grade analytique.

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait dichlorométhanique

85.5 g de poudre des algues marines sont introduites dans un flacon en verre contenant 100 ml de DCM absolu pour une macération de 24 heures à température ambiante. Le macérât obtenu est ensuite filtré sur papier filtre. Les filtrats sont ensuite centrifugés à 2000 tr/min pendant 10 min puis les surnagants sont regroupés puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse) à 45°C. L'extrait sec est dissout dans un volume approprié de méthanol (99.5%) pour avoir une concentration finale de 200 mg/ml. L'extrait dichlorométhanique est stocké au réfrigérateur à 4 °C dans un tube en verre fermé hermétiquement pour une utilisation ultérieure.

Le rendement d'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Le rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait après évaporation du solvant}}{\text{masse de la poudre d'algue utilisée pour l'extraction}} \times 100$$

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 100 grammes de la matière algale sèche.

II.2. Dosage des polyphénols totaux

II.2.1. Principe de la méthode

La méthode adoptée pour le dosage des polyphénols totaux de l'extrait dichlorométhanique des algues marines est celle décrite par **Waterhouse (2001)**. Cette méthode est basée sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Matériel et Méthodes

Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) est réduit, lors de l'oxydation (Ribéreau-Gayon, 1968) par les groupements hydroxyles des phénols (**vermerris et nicholson,2006**), en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.2.2. Protocole expérimentale

Le dosage des polyphénols totaux de l'extrait DCM de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est réalisé par la méthode décrite par **Waterhouse (2001)**. Un volume de 40 µl 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 40 µl de méthanol pur. On ajoute ensuite 200 µl du réactif de Folin-Ciocalteu et on l'agite. Après 3 minutes, une solution de Na₂CO₃ d'une concentration de 200g/l (600 µl) 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 MeOH). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par g du poids du résidu sec de l'algue (mg EAG/g) (**Figure7**). Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

II.3. Dosage flavonoïdes

II.3.1. Principe de la méthode

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait DCM de l'algue rouge est déterminé par la méthode de **Bahorun et al., (1996)**. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyl (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (**Boulekbache, 2005**). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.3.2. Protocole expérimentale

La teneur totale en flavonoïde de l'extrait DCM est mesurée selon la méthode spectrophotométrique décrite par (Kim et al, 2003). 500 µl de l'extrait sont ajoutés à 150 µl de la solution de nitrite de sodium (5%) suivie par l'addition de 300 µl de chlorure d'aluminium à

Matériel et Méthodes

10%. Les tubes à essai sont incubés à la température ambiante pendant 5 min, puis 1 ml d'hydroxyde de sodium (1M) est ajouté. L'absorbance du mélange est lue à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis. La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (**Figure 7**). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la plante.

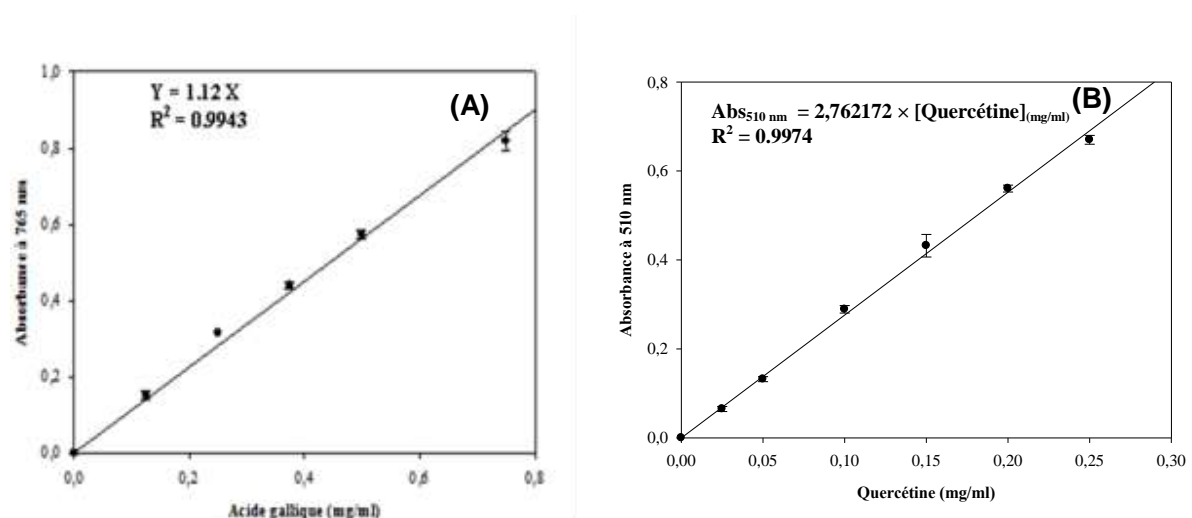


Figure 8 : Courbes d'étalonnage pour le dosage des (A) polyphénols totaux et (B) et des flavonoïdes.

II.4. Dosage des caroténoïdes

La teneur des caroténoïdes dans les extraits dichlorométhanoïques des algues marines en a été déterminée par la méthode de **Lichtenthaler et al. (1985)**.

L'absorbance des extraits dichlorométhanoïques convenablement dilués dans du méthanol pur est mesurée à différentes longueurs d'ondes (470, 653 et 666 nm) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Les concentrations des chlorophylles (a et b) et caroténoïdes totaux sont déterminées à l'aide des équations suivantes :

$$\text{Chlorophylle a (mg/ml)} = 15,65 A_{666} - 7,340 A_{653} ;$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/ml)} = 27,05 A_{653} - 11,21 A_{666} ;$$

Caroténoïde totaux (mg/ml) = 1000 A470 – 2,860 Ca – 129, 2 Cb/245.

II.5. Evaluation de l'activité d'antioxydante et antiradicalaire

II.5.1 Test DPPH

II.5.1.1. Principe de la méthode

Afin d'étudier les activités antiradicalaire et antioxydante des extraits dichlorométhanoïques d'algues marines nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable. Ce test consiste à mettre le radical DPPH de couleur violette intense, en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire.

La forme réduite diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (Sanchez-Moreno, 2002).

II.5.1.2. Protocole expérimentale

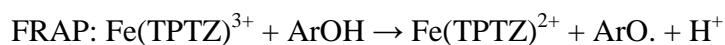
L'activité antiradicalaire de l'extrait dichlorométhanoïques de l'algues marine rouge *Asparagopsis armata* est déterminée par la méthode de Blois modifiée. Elle consiste à mélanger dans un tube en verre 100 µl de chaque extrait dichlorométhanoïque de l'algue rouge à différentes concentrations avec 2.9 ml de DPPH (Abs₅₁₇ nm 0.8-1.0). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance des échantillons est effectuée contre un contrôle à 517 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant standard.

Le pouvoir antiradicalaire est évalué par le pourcentage d'inhibition ou effet piègeur du radical DPPH par les antioxydants d'extrait d'algue par la formule suivante : le pourcentage d'inhibition = (Absorbance du contrôle – Absorbance d'essai/ Absorbance du contrôle) x100.

II.6.Méthode de la réduction de fer (FRAP)

II.6.1 Le principe

L'activité antioxydante des extraits dichlorométhanoïque de algue rouge étudiées a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie, 1996). La présence des réductants dans les extraits de truffes provoque la réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe(III)-TPTZ) en complexe ferreux-tripyridyltriazine (Fe(II)-TPTZ), les absorbances ont été mesurées à $\lambda = 593$ nm.



II.6.2 Le protocole expérimental

Le test FRAP a été réalisé selon la méthode de **Benzie et Strain (1996)** modifiée. Les solutions stockes comprennent le tampon d'acétate de 300 mM (3.1g acétate de sodium, 3H₂O et 16 ml d'une solution acide acétique à 300 mM) à pH 3.6, TPTZ à 10 mM préparé dans une solution d'acide chlorhydrique à 40 mM, et 20 mM de FeCl₃.6H₂O. La solution fraîche de travail a été préparée en mélangeant 100 ml de solution tampon d'acétate avec 10 ml de mélange TPTZ, et 10ml de FeCl₃.6H₂O en un rapport de volume (100:10:10). Cette solution finale est incubée à 37°C avant utilisation.

Dans des tubes à hémolyse, 0.1 mL d'extrait DCM de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* à différentes concentrations est mélangée avec 0.9 mL de la solution FRAP. Après agitation au vortex, les tubes sont incubés à l'abri de la lumière pendant 4 min et l'absorbance des échantillons (complexe ferrique tripyridyltriazine) est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 593 nm. Les résultats sont comparés avec ceux trouvés avec l'acide ascorbique comme antioxydant standard.

II.7 Analyses des données

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=2). Les courbes d'étalonnages et des activités antioxydante et antiradicalaire de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* et de l'acide ascorbique sont effectuées à l'aide des logiciels SigmaPlot (**SigmaPlot for Windows Version 11.0, Copyright 2008 Systat Software, Inc.**) et KaleidaGraph (**Version 4.0-2005**).

Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction

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).. Pour cela, nous avons utilisé le dichlorométhane comme solvant pour la préparation d'un extrait à partir de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*. Le rendement d'extraction ainsi obtenu égale à 0.3%.

Achour et Ben Tireche (2014) ont obtenus un rendement d'extraction de 20.1% lorsque le méthanol est utilisé comme solvant d'extraction des composés phénoliques à partir d l'algue marine rouge *Asapragopsis armata*.

D'aparès Balboa et al. (2013) la variation du rendement d'extraction peut être attribuée à l'effet de la nature du solvant, à la composition chimique des algues qui dépend de l'espèce et de son âge, aux facteurs environnementales, à la localisation géographique des algues, et aux conditions saisonnières.

II. Teneur totale en caroténoïdes, en composés phénoliques et en flavonoïdes

Les polyphénols, les flavonoïdes et les caroténoïdes sont parmi les principaux constituants responsables de l'activité antioxydante des algues marines. Pour cela, la teneur de ces constituants phytochimiques au niveau de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge étudiée a été déterminée.

Les caroténoïdes sont des antioxydants puissants et piègeurs des radicaux libres (Wong et al, 2009). Nos résultats montrent que l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est plus ou moins riche en caroténoïdes avec une concentration de 162.2 mg/mL (208.4 mg/g résidu sec).

Les composés phénoliques sont couramment trouvés dans les plantes et ont été rapportés d'avoir des plusieurs activités biologiques, y compris les propriétés antioxydantes qui sont dues à leurs groupements hydroxyles. La teneur en phénols totaux et en flavonoïdes au niveau de l'extrait DCM de l'algue rouge étudiée sont respectivement, 7.4 (± 0.1) EAG mg/g résidu sec et 24.00 (± 6.8) EQ mg/g résidu sec.

Selon Ben Tireche et **Ahour (2014)**, les teneurs des polyphénols totaux et des caroténoïdes au niveau de l'algue rouge *Asparagopsis armata* avec le méthanol comme solvant sont respectivement, 7.98 (mgEAG/g résidu sec) et 255.6 mg/mL.

L'extrait DCM de l'algue marine *Asparagopsis armata* est plus riche en composés phénoliques par rapport aux extraits des algues rouges *Euchema kappaphycus* (1.5 mg EAG/g résidu sec), *Gracilaria edulis* (4.1 mg EAG/g résidu sec), et *Acanthophora spicifera* (3.55 mg EAG/g résidu sec) (**Ganesan et al., 2008**).

Les variations observées entre les teneurs en composés phénoliques des différentes espèces étudiées peuvent être expliquées d'une part par les effets des facteurs environnementaux externes comme les herbivores, la lumière, la profondeur, la salinité, les nutriments et la saison et d'autre part par les facteurs intrinsèques comme l'âge, l'espèce, la longueur et le type des tissus. Tous ces facteurs peuvent agir sur la régulation spatio-temporelle de l'expression du métabolisme des composés phénoliques (**Farvin et Jacobsen, 2013**).

III. Evaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter); ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-*Asparagopsis armata* sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (**Popovici, 2009**). Parmi ces différentes méthodes, les tests DPPH et FRAP sont les deux méthodes qui ont été prises en considération pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des algues étudiées dans ce travail.

III.1. Test du radical DPPH•

L'activité antiradicalaire de l'extrait DCM de l'algue marine rouge vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Le test de DPPH est une méthode fréquemment employée pour évaluer le potentiel antioxydant de différents composés naturels vu sa rapidité, sa fiabilité et son faible coût (**Senthilkumar et al, 2012**).

L'effet des antioxydants sur le piégeage du radical DPPH est vraisemblablement dû à leur capacité de donneur d'hydrogène. Le DPPH est un radical libre stable capable d'accepter un électron ou un atome d'hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable.

Lorsque le DPPH est mélangé avec un substrat qui agit comme donneur d'atome d'hydrogène, une forme non-radicalaire stable de DPPH est obtenue, avec le changement simultané de la couleur de la solution du violet au jaune pâle. Par conséquent, le DPPH a été largement employé comme un radical libre pour évaluer la réduction des substances, et il est un réactif utile pour étudier les activités antiradicalaires des composés (Sathya *et al*, 2013).

Les résultats du pouvoir antiradicalaire, de l'acide ascorbique et de l'extrait DCM de l'algue rouge marine, exprimés en pourcentage du radical DPPH résiduel sont illustrés dans la Figure 9.

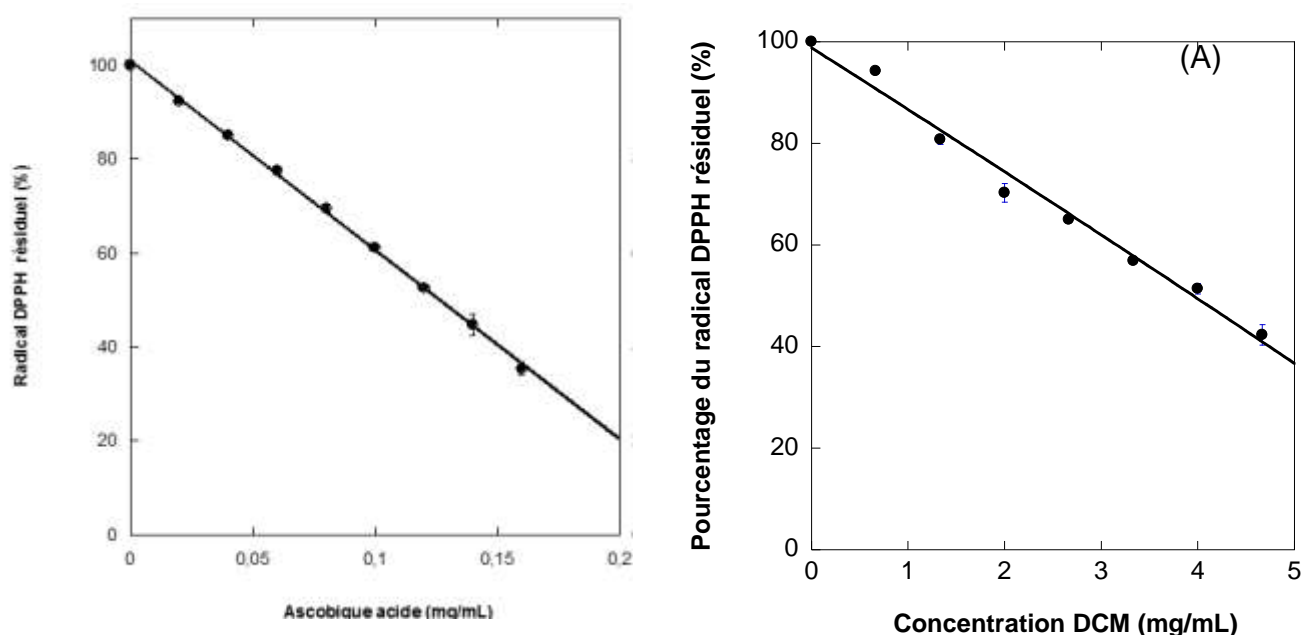


Figure 09: Courbes représentant la variation du pourcentage de la réduction de DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (A) et de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge marine *Asparagopsis armata* (B).

On remarque que l'extrait DCM brut d'*Asparagopsis aramata* est capable de piéger le radical libre DPPH[•] de manière concentration-dépendante.

On constate aussi que le taux de réduction du DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait DCM d'algue dans le milieu.

Les valeurs d'EC₅₀ ont été déterminées par extrapolation à partir des deux courbes de réduction du radical DPPH en fonction de la concentration pour l'extrait DCM de l'algue

marine et pour l'acide ascorbique comme antioxydant standard. Les valeurs ainsi calculées sont indiquées dans le **Tableau (5)**.

L' EC_{50} d'un composé est inversement lié à son capacité antioxydante, car elle exprime la quantité d'antioxydant exigée pour diminuer la concentration de DPPH de 50%. Une faible EC_{50} indique l'activité antioxydante la plus élevée (Do et al, 2013).

Tableau 5 : Les valeurs d' EC_{50} de l'acide ascorbique et de l'extrait DCM de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.

Antioxydant	DPPH (EC_{50} ; mg/ml) ^a	FRAP (EC_{50} ; mg/ml) ^b
<i>Asparagopsis armata</i>	4.00	2.00
Acide ascorbique	0.12	0.08

^aValeur EC_{50} : la concentration effective pour laquelle l'activité antioxydante est 50%;

^bl'absorbance est 0.5 pour le pouvoir réducteur. La valeur EC_{50} est obtenue par extrapolation à partir de l'analyse de la régression linéaire.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C) (Popovici, 2009). Dans notre étude nous avons utilisés l'acide ascorbique comme antioxydant standard qui a montré une activité antiradicalaire intéressante avec une EC_{50} de 0.12 mg/ml. En comparaison avec l'acide ascorbique, l'extrait DCM de l'algue marine rouge s'est avéré moins actif.

Selon Popovici (2009), plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH^{*}, type de solvant, pH) et le profil phénolique.

Rhimou et al. (2013) ont trouvé une EC_{50} de 0.862 mg/ml pour l'extrait méthanolique d'*A. armata*.

D'après les résultats trouvés par Ben Tireche et Achour (2014), l'extrait méthanolique a une activité antiradicalaire plus élevée ($EC_{50} = 2.74$ mg/mL) par rapport à l'extrait DCM.

L'activité antioxydante de l'extrait d'algue marine étudiée peut être due à la présence des composés phénoliques (phloroglucinol, phlorotannins et fucoxanthine), des vitamines (A, C et B), des polysaccharides sulfatés, des acide gras polyinsaturés, et des caroténoïdes (Cardozo et al., 2007 ; Ganesan et al., 2008 ; Farvin et Jacobsen, 2013 ; Lopez et al., 2011 ; Balboa et al., 2013 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011; Andrade et al., 2013 ; Manivannan et al., 2012).

III.2 Evaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode de FRAP permet de mesurer l'habilité d'une molécule antioxydante à réduire l'ion ferrique à pH faible, formant un complexe bleu de Tripyridyltriazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) qui est réduit en ion ferreux (Fe^{2+}) (Singleton et al., 1999).

D'après les résultats indiqués sur la Figure (10), on remarque que l'extrait DCM de l'algue marine rouge (*Asparagopsis armata*) a un pouvoir antioxydant donc il est capable de réduire l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} . La capacité réductrice de l'extrait algal indique son potentiel antioxydant.

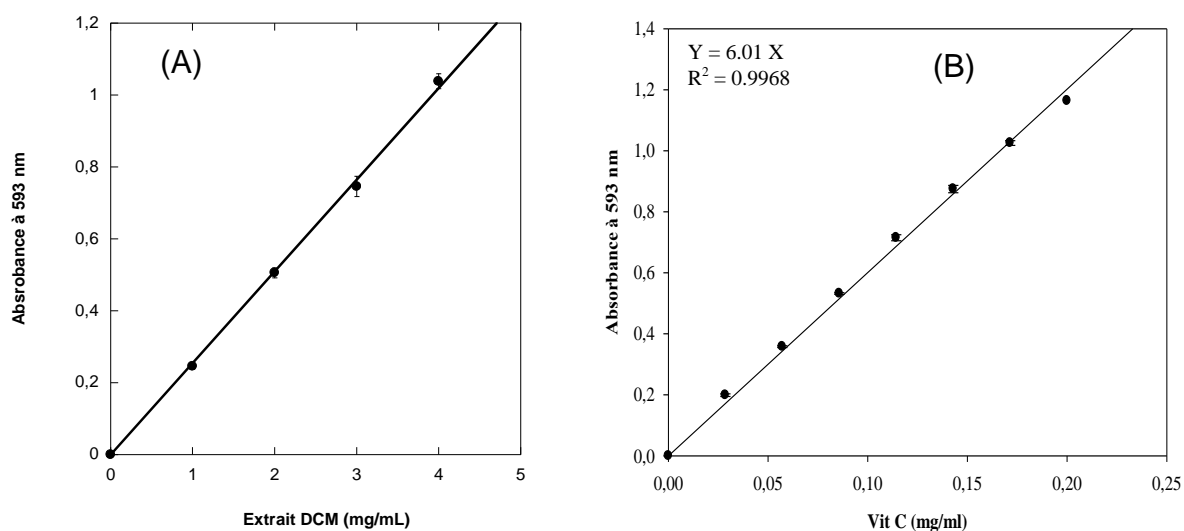


Figure10: Courbes représentant la variation des absorbance à 593 nm en fonction des concentrations de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* (A) et de l'acide ascorbique (B) obtenues par le test de FRAP.

D'après les résultats regroupés dans le Tableau (5), l'acide ascorbique possède un pouvoir antioxydant plus élevé par rapport à l'extrait DCM de l'algue marine.

Le pouvoir antioxydant de l'*Asparagopsis armata* est due à sa richesse en caroténoïdes et composés phénoliques qui possèdent des propriétés antioxydantes (Goh et al., 2010).

Conclusion générale

Cette étude a permis d'évaluer pour la première fois la capacité antioxydante et antiradicalaire de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*. Les analyses phytochimiques ont montré que l'algue marine rouge est riche en polyphénols, flavonoïdes et en caroténoïdes.

Les résultats du test de piégeage du radical **DPPH** et de la méthode **FRAP** ont permis de mettre en évidence les capacités antioxydante et antiradicalaire de l'extrait dichlorométhanique de l'algue rouge.

L'acide ascorbique possède les activités antioxydante et antiradicalaire plus élevé par rapport à l'extrait algal.

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* constitue de ce fait, une source de traitement potentielle d'antioxydants. Sa traitement est donc bénéfique pour l'organisme du fait d'un effet protecteur contre les maladies dégénératives, métaboliques ou cardiovasculaires.

Cette étude n'a pas exploré toutes les propriétés biologiques de cette algue. Il serait donc intéressant, dans un avenir plus ou moins proche, de compléter ce travail par :

- Une analyse chromatographique en phase liquide à haute performance de l'extrait dichlorométhanique de l'algue afin d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante ;
- Une étude de l'activité antimicrobienne de cette algue marine.

Références bibliographiques

REFEREES BIBLIOGRAPHIQUE

- Afonso, V; Champy, R; Mitrovic, D ; Collin, P; Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde sdismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. 74 : 636–643
- Andrade, PB ; Barbosa, M; Pedro Matos, R; Lopes, G ; Vinholes, J ; Mouga, T; Valentão, P. (2013).** Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*. 138 : 1819–1828.
- Bahorun, T.,Gressier, B.,Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M.,Cazin, J.C.,Pinkas, M. 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations *Arzneimittle Forshing*. 46 (11), 1086-1089.
- Balboa, EM ; Conde, E; Moure, A; Falqué, E; Domínguez, H. (2013).**In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*. 138 :1764–1785.
- Bonin, D,R.& Hawkes ,M .W. 1987.** Systematics and life histories of New Zealand Bonnemaisoniaceae (Bonnemaisoniales, Rhodophyta):The genus *Asparagopsis* N .Z. J. Bot. 25: 577-590.
- Barros, L; Falcão, S; Baptista, P; Freire,C; Vilas-Boas, M; Ferreira, IC.F.R. (2008).** Antioxidant activity of *Agaricus sp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*. 111 : 61–66.
- Barros, L; Venturini, BA; Baptista, P; Estevinho, LM; Ferreira, IC. F. R. (2008).** Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Food Chemistry*. 56 :3856–3862.
- Benzie, I.F.F., Strain J.J.(1997).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP. *Anal biochem*, 239:70-76.
- Birben, E; Sahiner, UM; Sackesen,C ; Erzurum,S ; Kalayci,O. (2012).** Oxidative Stress and AntioxidantDefense. *WAO Journal*. 5: 9–19.
- Boulekbache, L. 2005.** Profil GC-MS des polyphénols d'une plante médicinale : *Eucalyptus globulus*. Mémoire Magister. Département de biologie physico-chimique. Béjaia, 71p
- Bourgeois, C F. (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Lavoisier. 3^{ème} édition. p: 37-81-111.
- Cabioc'h , J., Floch, J.-Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C-F.,Meinesz, A. & Verlaque, M. 1992.** Guide des algues des mers d'Europe : *Delachaux et Niestlé*. pp.232.

REFEREES BIBLIOGRAPHIQUE

- Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., et al. (2007).** Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146, 60–78.
- Celep, E; Aydın, A; Yesilada, E. (2012).** A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*. 50 : 3329–3335.
- Cornish, M. L; Garbary, D.J.(2010).**Antioxidants from macroalgae : potential applications in humahhealth and nutrition. *Algae*. 25(4) : 155-171.
- Chandini, K., Ganesan, P., Bhaskar, N. (2008).** In vitro antioxidant activities othree selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107:707-713.
- Cheung, L.M; Cheung, Peter C.K;Vincent E.C. Ooi. (2003).**Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*. 81 : 249–255.
- Chew, Y.L ; Lim, Y.Y ; Omar, M ; Khoo, K.S. (2008).** Antioxidant activity of threedible seaweeds from two areas in Aouth East Asia. *LWT*. 41 : 1067–1072.
- Devasagayam, TPA ; Tilak, JC ; Boloor, KK ; Sane, Ketaki. S ; Ghaskadbi, Saroj. S ; Lele, RD. (2004).** Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *JAPI*. 52: 794-804.
- El-Agamey, A; Lowe, GM ; McGarvey, DJ ; Mortensen, A ; Phillip, DM ; George Truscott, T ; Young, AJ. (2004).** Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 430 : 37–48.
- El-BakyA, H.H ; El-Baz, F. K ; El-Baroty, G. S. (2009).**Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 : 1688–1695.
- Farvin S, K.H ; Jacobsen, C. (2013).** Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*. 138 : 1670–1681.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité chimique*. p : 109-113.
- Feldmann, J. & Feldmann, G. 1939).**Sur la structure de cellules axiales de l'Asparagopsis armata Harvey.*C.R.Acad.SC*.208.1743-1745.
- Garon-Lardiere, S. 2004.** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de Doctorat Spécialité : Chimie. Université de Bretagne Occidentale. 226 pages.

REFEREES BIBLIOGRAPHIQUE

- García, A ; Toledano, A; Ángeles A, Maria ; Jalel L.. (2010).** Study of the antioxidant capacity of *Miscanthus sinensis* lignins. *Process Biochemistry*. 45 : 935-940.
- 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
- Goh,S.H., Md,Yusoff., Loh, S.P.(2010).** A Comparison of the Antioxidant Properties and Total Phenolic Content in a Diatom, *Chaetoceros* sp.
- Gupta, S., Abu-Ghannam, N. (2011).** Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 315–326.
- Halliwell, B., Gutteridge., J.M.C.(1984).** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219:1–14.
- Halliwell,B., Gutteridge, J.M.C,(2003).** *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Univers Press, Oxford, UK.
- Harvey, W. H. 1855.** Some account of colony of western Australia. *Transactions of the Royal Irish Academy* 22: 525-566.
- Huang Guangrong., Jiang Jiaxin.,and Dai Dehui. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.*7 (9): 1335-1338.
- Jain, P. K ; Kharya, M. D ; Gajbhiye, A, Sara, U. V. S ; Sharma, V. K. (2010).** Flavonoids as nutraceuticals. A review. 56 : 105-117.
- Kim, D. O., Jeong, S.W., & Lee, C. Y. (2003).** Antioxidant capacity of phenolic phyto-chemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321–326. Flavonoide
- Lampi, A-M. (2011).** **Analysis of tocopherols and tocotrienols and by HPLC.** Selected Topics in the Analysis of Lipids.activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *J ApplPhycol*. 20:367–373
- Li ,H.B ., Wong, C-C., Cheng,K.W., Feng ,C. (2008).**Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*, 41: 385–390
- Lichtenthaler H., Wellburn A. (1985).** Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.*, 11: 591-592. Carotinoides

REFEREES BIBLIOGRAPHIQUE

- 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.
- Manivannan, K; Anantharaman, P; Balasubramanian, T. (2012).** Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S342-S346.
- Marcheix J., et Fleuriet A. et Jay-Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires Romandes. pp : 87-149.
- Meenakshi, S ; Manicka Gnanambigai, D ; Tamil Mozhi, S ; Arumugam, M ; Balasubramanian, T. (2009).** Total Flavanoid and in vitro Antioxidant Activity of Two Seaweeds of Rameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*. 3: 59-62.
- Neo, Y-P; Ariffin, A; Tan, C-P ; Tan, Yew-A. (2010).** Phenolic acid analysis and antioxidant activity assessment of oil palm (*E. guineensis*) fruit extracts. *Food Chemistry*. 122: 353–359
- Otero, M., Cebrian, E., Francour, P., Galil, savini. 2013.** surveillance Des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégée (AMP) méditerranéennes : guide pratique et stratégique à l'attention des gestionnaires. UICN.136.
- Painter, T.J. (1982).** Algal polysaccharides. In: Aspinall, G.O. (Edition.), *The Polysaccharides, Academic Press, New York, 2, 195-285.*
- Palacios, I ; Lozano, M ; Moro, C ; D'Arrigo, M ; Rostagno, M.A ; Martínez, J.A; García-Lafuente, A ; Guillamón, E ; Villares, A.(2011).** Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry*. 128: 674–678.
- Pouteau, C ; Dolea, P ; Cathalaa, B ; Averousa, L ; Boquillon, N. (2003).** Antioxidant properties of lignin in polypropylene. *Polymer Degradation and Stability*. 81: 9-18.
- Popovici, C ; Saykova, I; Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4 : 25-39.
- Pèrez, R., 1997.** Ces algues qui nous entourent, Conception actuelle, Rôle dans la biosphère, utilisations, culture, aquaculture. Ifremer. 266p.
- Ravichandran, K; Ahmed, A. R ; Knorr, D ; Smetanska, I. (2012).** The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of redbeet. *Food Research International*. 48:16–20.

REFEREES BIBLIOGRAPHIQUE

- Rhimou, B; Hassane, R; Nathalie, B. (2013).** Antioxidant activity of Rhodophyceae extracts from Atlantic and Mediterranean Coasts of Morocco. *African Journal of Plant Science*. 7(3) : 110-117
- Ribéreau-Gayon, O. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 254p
- Sathya, R ; Kanaga, N ; Sankar, P; Jeeva, S. (2013).**Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskal) C. Agardh. In press.
- Saidani K; Bedjou F; Benabdesselam F; Touati N. (2012).** Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. *African Journal of Biotechnology*. 11: 9496-9500.
- 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
- Sanchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- 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.
- Schillaci, C; Nepravishtaa, R ; Bellomaria, A. (2013).** Antioxidants in food and pharmaceutical research. *Albanian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1 : 15-25.
- Senthilkumar, P; Sudha, S. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of methanolic extract of green seaweed *Chaetomorpha linum* from Gulf of Manner : Southeast coast of India. *Jundishapur J Microbiol*. 5: 411-415.
- Shalaby, Emad. A; Shanab, Sanaa M. M. (2013).**Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(10) : 528-539.
- Shohaib, T ; Shafique, M ; Dhanya, N ; Madhu, C.D. (2011).** Importance of flavonoides in therapeutics. *Hygeia.J.D.Med*. 3(1): 1-18.
- Singleton V., et Rossi J. 1965,** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-153.

- Surh, Y-J ; Packer, L. (2005).** Oxidative stress, inflammation, and health. Taylor & Francis Group. P: 2-3.
- Stengel, DB ; Connan, S ; Popper, ZA. (2011).**Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances* 29 : 483–501.
- Valko, M ; Rhodes, C.J ; Moncol, J ; Izakovic, M ; Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1–40.
- Vermerris W., et Nicholson R. 2006,** Phenolic compounds biochemistry. Springer science.netherlands. 276p.
- Vélez-Alavez, M; Méndez-Rodríguez, LC; De Anda Montañez, JA; Mejía, C.H; Galván-Magaña, F; Zenteno-Savín, T. (2014).**Vitamins C and E concentrations in muscle of elasmobranch and teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 170: 26–30.
- Waterhouse. (2001).** Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. I 1.1.1-I1.1.8 Wiley, New York.
- Wijesinghe, W.A.J.P; Jeon, You-Jin. (2012).** Enzyme-assisted extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review. *Fitoterapia* 83: 6–12.
- Womersley, H. B. S. 1996.**The marine benthic flora of southern Australia. Rhodophyta. In *Flora of Australia*, suppl. series 5, part IIIB , pp396. Canberra: Australian Biological Resources Study publication.
- Wong, J Y, Chye, FY. (2009).** Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22 : 269–277.
- Yang, J-H ; Lin, H-C ; M, Jeng-Leun. (2002).** Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*. 77 : 229–235.
- Yen Y., Shih C., et Chang C. 2008,** Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chemistry* 107: 265-272.
- Zhang, W-W ; Duan, X-J ; Huang, H-L ; Zhang, Y ; Wang, B-G. (2007).** Evaluation of 28 marine algae
- Zhou, Y ; Singh, BR. (2004).** Effect of Light on Anthocyanin Levels in Submerged, Harvested Cranberry Fruit. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 5 : 259–263.

ملخص

تم في هذا البحث دراسة نشاط مضاد الأكسدة ومضاد الجذور لمستخلص الطحلب الأحمر البحري *Asparagopsis armata* باستخدام ثنائي كلورو ميثان كسائل استخلاص الذي تم به الحصول على ناتج استخراج بنسبة 0.3 % عن طريق عملية التعقيم البارد.

أظهرت التحاليل الكيميائية النباتية أن محتوى الطحالب البحرية الحمراء في البوليفينول والفلافونيدات والكاروتينات هي على التوالي ما يعادل 7.4 ملغ من حمض الغاليك/غرام 24.00 (±6.8) EQ ملغ/غرام بقايا جافة و 208.4 ملغ/غرام بقايا جافة.

يوضح قياس نشاط مضادات الأكسدة والقوة المخفضة لمستخلص ثنائي كلورو ميثان من الطحالب البحرية الحمراء و بواسطة الطريقتين المتتاليتين DPPH وFRAP على التوالي, أنه يحتوي على مضادات أكسدة منخفضة إلى حد ما وتقليل الطاقة بالمقارنة مع تلك المحددة مع حمض الاسكوربيك. يمكن اعتبار الطحلب الأحمر البحري كمصدر طبيعي واعد لمضادات الأكسدة الجديدة.

الكلمات المفتاحية : طحلب, *Asparagopsis armata*, ثنائي كلورو ميثان, مضاد أكسدة, مضاد الجذور.

Résumé. Dans ce travail l'activité antioxydante et antiradicalaire de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* étaient étudiées en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction. Un rendement d'extraction de 0.3% a été obtenu par macération à froid.

Les analyses phytochimiques montrent que la teneur de l'algue marine rouge en polyphénol, en flavonoïdes et en caroténoïdes sont respectivement, 7.4 EAG mg/g résidu sec, 24.00 (±6.8) EQ mg/g résidu sec et 208.4 mg/g résidu sec.

La mesure de l'activité antioxydante et du pouvoir réducteur de l'extrait dichlorométhanique de l'algue marine rouge par les méthodes DPPH et FRAP respectivement, montre qu'il possède un pouvoir antioxydant et réducteur plus ou moins faibles par rapport à ceux déterminés avec l'acide ascorbique. L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* peut être considérée comme une source naturelle prometteuse de nouveaux agents antioxydants.

Mots clés : Algues, *Asparagopsis armata*, dichlorométhane, antioxydantes, antiradicalaire.

Abstract. In this study, the antiradical and antioxidant activities of the marine red alga *Asparagopsis armata* have been studied by using dichloromethane as solvent for extraction.

The phytochemical analysis shows that the polyphenols, flavonoids and carotenoids contents of the marine red algae were 7.4 EAG mg/g dry residue, 24.00 EQ mg/g dry residue and 208.4 mg/g dry residue. The extraction yield of 0.3% has been obtained by cold maceration.

The determination of antioxidant activity and reducing power of algae dichloromethane extract measured by FRAP and DPPH methods respectively, shows that this extract has a low antioxidant and free radical scavenging capacities when compared with those obtained with ascorbic acid as standard antioxidant. The marine red algae *Asparagopsis armata* can be considered as a promising natural source of news antioxidants chemical agents.

Keywords : Algae, *Asparagopsis armata*, dichloromethane, antioxidant, antiradical.