

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي 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

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

Étude Phytochimique et de l'activité antioxydante et anti-radicalaire des extraits d'*Asparagopsis armata*

Présenté par :

M. CHERIET Zakaria

M^{lle}. METTACHE Nour Elhouda

M^{lle}. ZOUAI Kheira Radjae

Devant le jury composé de :

M. LEBOUKH Mourad, MAA, Université Amar Téliidji

M. ZERROUKI Mohamed Houcine, MAA, Université Amar Téliidji

M. GOUZI Hicham, Professeur, Université Amar Téliidji

Mme. MAIDI Leila, MAA, Université de Ghardaia

Président

Examineur

Rapporteur

Co-Rapporteur

Année Universitaire : 2022 / 2023



Remerciements

*Avant tout, nous remercions le bon **DIEU**, tout puissant, maître des cieux et de la terre, de nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Tout d'abord nous tenons à adresser particulièrement et très chaleureusement nos plus vifs remerciements à notre encadreur de mémoire **Pr. Gouzi Hicham**- Université de Laghouat, qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité, son aide et ses conseils judicieux, toutes nos estime et nos profonds respects.*

Nous remercions également notre Co-encadreur Mme .Maidi Leila, pour toute l'aide qu'elle nous a apportée et pour ses précieux conseils.

*Nous tenons également à exprimer nos profonds remerciements aux membres du jury, **Dr. LEBOUKH Mourad**- Université de Laghouat (Président), **Dr. ZERROUKI Mohamed Houcine**- Université de Laghouat (examinateur), désignés parmi les enseignants du département de Biologie, d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.*

Nous remercions encore tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cycle d'étude, les travailleurs de la bibliothèque, et les ingénieurs de laboratoire, pour leur patience et leur aide.

Nous remercions nos camarades et nos amis pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble et toute la promos de biochimie appliquée 2023 .

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

Un grand merci à tous.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Aux êtres les plus chers, qui ont sacrifiés leurs vies pour mon bonheur, qui ont été toujours à mes côtés dans la joie comme dans la tristesse, Mes parents , qui m'ont guidé vers le chemin du savoir et le soutien moral qu'ils m'ont apporté le long de mes dures années d'études et durant toute ma vie, que Dieu le tout puissant les protège.

A ma chère femme qui m'a soutenu et m'a aidé à suivre cette formation, pour son encouragement et sa compréhension .

A mes très chers enfants Meriem, Mohamed, Marwa et Yahia que Dieu les guide vers le droit chemin, le bonheur et la prospérité.

A ma petite chère sœur Fadwa qui m'a accompagné durant cette année.

A mes chers frères et leurs familles , surtout Djamel Eddine pour son aide.

A mes collègues de ce travail Zouai Kheira et Mettache Nour et leurs familles.

A tous mes amis et collègues .

Zakaria



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de l'homme de ma vie mon très cher père qui aimait tant les sciences.

A ma très chère mère pour tous ses sacrifices, pour son soutien et pour ses encouragements .Merci maman.

A mon cher frère Adel.

A ma chère sœur Abir.

A tous les membres de la famille Benaïcha.

et tous les membres de la famille Mettache.

A mes collègues dans ce travail Zouai kheira et Cheriet Zakaria et leurs familles.

A tous mes enseignants, car j'ai eu le privilège de profiter de leurs vastes connaissances, ainsi que leur profond savoir.

A mes amies de la promotion de biochimie 2023, que j'ai vécus avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

A tous qui me connaissent de près ou de loin.

Nour el houda



Dédicace

A mes très chères personnes dans ma vie, mes parents, merci infiniment pour tout, dès le jour de ma naissance à ce jour-là ,merci pour votre soutien moral et physiques ,l'encouragement ,la confiance ,le support durable et la compréhension, très chanceuse et fière d'être votre fille que dieu vous garde et protège .

A mes sœurs ,surtout pour ma petite sœur Djihene, merci d'être toujours présente pour m'écouter, je t'aime très forts et je suis là pour toi .

A mes frères ,et spécialement pour Mohamed merci beaucoup pour ton amour, tu es toujours le meilleur ami pour moi, que dieu vous garde, et je te souhaite toujours la réussite et de rester en bonne santé .

A mes portes bonheurs mes nièces et neveux : Omaima , Younes , Meriem, Mohamed, Islame, Maroua , Ismaïle, Zahra .

A ma grande familles , mes amis , mes collègues Nour et monsieur Cheriet, tous les personnes qui me connaissent, et spécialement pour tous mes enseignants dès le primaire à l'université, merci de partager avec nous votre temps, votre connaissance, savoir et votre vie .

A ma source d'inspiration : monsieur A . Mekanter .

Kheira radjae

Résumé

Le potentiel des constituants antioxydants des végétaux pour la prévention des cancers, des maladies cardiovasculaires, maladie d'Alzheimer et de la peroxydation lipidique est largement évoqué par plusieurs scientifiques. En effet, les différentes études expérimentales renforcent l'hypothèse selon laquelle le stress oxydatif est directement impliqué dans l'apparition de ces maladies. Pour lutter contre les radicaux libres nocifs, notre organisme possède des systèmes de défenses antioxydants. Pour renforcer les défenses antioxydantes de l'organisme et prévenir l'apparition de lésions dues à l'oxydation, les chercheurs se sont interrogés sur l'utilité de différentes molécules antioxydantes en supplémentation dans l'alimentation (vitamines, caroténoïdes, composés phénoliques...etc.).

La côte Algérienne est particulièrement riche en algues et constitue une réserve d'espèces avec un potentiel économique, social et écologique considérable.

Dans ce travail l'activité antioxydante et antiradicalaire de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* étaient étudiées en utilisant le méthanol et le dichlorométhane comme solvants d'extraction. Un rendement d'extraction de 0.3% pour le dichlorométhane et 20.1% pour le méthanol a été obtenu par macération sous agitation. Les analyses phytochimiques montrent que l'algue marine rouge est riche en polyphénol (7,4 EAG mg/g résidu sec pour le DCM, et 7.98 EAG mg/g pour le méthanol), en flavonoïdes (24.00 (\pm 6.8) EQ mg/g résidu sec pour le DCM), et en caroténoïdes (162.2 \pm mg/g résidu sec pour le DCM et 255.60 \pm 12.56 mg/g pour le méthanol).

La mesure de l'activité antioxydante et du pouvoir réducteur des extraits de l'algue marine rouge par les méthodes DPPH et FRAP respectivement, montre qu'ils possèdent 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 prometteuse de nouveaux agents antioxydants.

Mots clés : Algue, *Asparagopsis armata*, méthanol, dichlorométhane, antioxydante, antiradicalaire.

Abstract

The potential of antioxidant constituents of plants for the prevention of cancers, cardiovascular diseases, Alzheimer's disease and lipid peroxidation is widely mentioned by several scientists. Indeed, the various experimental studies reinforce the hypothesis that oxidative stress is directly involved in the onset of these diseases. To fight against harmful free radicals, our body has antioxidant defense systems. To strengthen the body's antioxidant defenses and prevent the appearance of lesions due to oxidation, the researchers wondered about the usefulness of different antioxidant molecules in supplementation in the diet (vitamins, carotenoids, phenolic compounds, etc. . .).

The Algerian coast is particularly rich in algae and constitutes a reserve of species with considerable economic, social and ecological potential.

In this work the antioxidant and antiradical activity of the red seaweed *Asparagopsis armata* were studied using methanol and dichloromethane as extraction solvents. An extraction yield of 0.3% for dichloromethane and 20.1% for methanol was obtained by maceration with stirring. Phytochemical analyzes show that red seaweed is rich in polyphenol (7.4 EAG mg/g dry residue for DCM, and 7.98 EAG mg/g for methanol), flavonoids (24.00 (± 6.8) EQ mg/ g dry residue for DCM), and carotenoids (162.2 \pm mg/g dry residue for DCM and 255.60 \pm 12.56 mg/g for methanol).

The measurement of the antioxidant activity and the reducing power of the extracts of the red seaweed by the DPPH and FRAP methods respectively, shows that they have a more or less weak antioxidant and reducing power compared to those determined with the acid ascorbic. The red seaweed *Asparagopsis armata* can be considered as a promising source of new antioxidant agents.

Keywords: seaweed, *Asparagopsis armata*, methanol, dichloromethane, antioxidant, antiradical.

ملخص

ذكر العديد من العلماء على نطاق واسع قدرة المكونات النباتية المضادة للأكسدة للوقاية من السرطانات، أمراض القلب والأوعية الدموية، مرض الزهايمر و الأكسدة الدهنية. في الواقع، تعزز الدراسات التجريبية المختلفة الفرضية القائلة بأن الآلية التأكسدية تساهم بشكل مباشر في ظهور هذه الأمراض. ومحاربة الجذور الحرة الضارة، تمتلك أجسامنا أنظمة دفاع مضادة للأكسدة. لتقوية دفاعات الجسم المضادة للأكسدة ومنع ظهور الأضرار العضوية بسبب الأكسدة، تساءل الباحثون عن فائدة الجزيئات المختلفة المضادة للأكسدة في المكملات الغذائية (الفيتامينات، الكاروتينات، المركبات الفينولية، الخ...).

يعتبر الساحل الجزائري غنيا بالطحالب المائية بشكل خاص ويشكل احتياطياً من الأنواع ذات الإمكانيات الاقتصادية والاجتماعية والبيئية الكبيرة.

في هذا العمل تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للجذور الحرة الضارة للطحالب الحمراء البحرية *Asparagopsis armata* باستخدام الميثانول و ثاني كلورو ميثان كمذيبات للاستخلاص. تم الحصول على مردود استخلاص 0.3% لثاني كلورو ميثان و 20.1% للميثانول بالنقع مع التقليب. تظهر التحليلات الفيتو كيميائية أن الطحالب البحرية الحمراء غنية بالبوليفينول (7.4 ملغ / غ من المخلفات الجافة لـ DCM، و 7.98 ملغ / غ للميثانول)، الفلافونويدات (24.00 ± 6.8) ملغ / غ بقايا جافة لـ DCM، وفي الكاروتينات (162.2 ± ملغ / غ بقايا جافة لـ DCM و 12.56 ± 255.60 ملغ / غ للميثانول).

يوضح قياس النشاط المضاد للأكسدة والقدرة الإرجاعية لمستخلصات الطحالب البحرية باستخدام طريقتين DPPH و FRAP على التوالي، أن لديهم قوة ارجاعية و مضادة للأكسدة معتبرة إلى حد ما مقارنة بتلك التي تم تحديدها باستخدام حمض الأسكوربيك. يمكن اعتبار الأعشاب البحرية الحمراء *Asparagopsis armata* مصدرًا واعدًا لمضادات الأكسدة الجديدة.

الكلمات المفتاح: الطحالب، *Asparagopsis armata*، الميثانول، ثنائي كلورو ميثان، مضاد للأكسدة، مضاد للجذور الحرة.

Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicace.....	II
Résumé.....	V
Abstract.....	VI
ملخص.....	VI
Sommaire.....	VII
Liste des figures.....	X
Liste des tableaux.....	XI
Liste des abreviations.....	XII
Introduction	1
Introduction Générale.....	1
Chapitre I. Généralités sur Les algues marines	5
I. Définition des algues	5
I.1. Classification des algues.....	5
I.1.1. Les Algues Vertes (Chlorophycées).....	6
I.1.2. Les Algues brunes (Phéophycées)	6
I.1.3. Les Algues rouges (Rodophycées).....	6
I.2. Reproduction des Algues	7
I.3. Role économique des Algues.....	7
I.4. Cas particulier de l'Algue rouge <i>asparagopsis armata</i>	8
I.4.1. Caractéristique d'identification.....	8
I.4.2. Habitat et élément d'identification sur le terrain.....	9
I.4.3. Taxonomie.....	9
I.4.4. Reproduction.....	10
I.4.5. cytologie	10
I.4.6. Espèces similaires.....	13
I.4.7. Impacts écologiques	13
I.4.8. Impacts économiques	13
I.4.9. Options en matière de gestion.....	13
Chapitre II. Généralités sue les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif	15
II. Généralités.....	15
II.1. Radicaux libres.....	15
II.1.1. Définition.....	15
II.1.2. Les types des radicaux libres.....	15
II.2. Les antioxydants.....	17
II.2.1. Définition.....	17
II.2.2. Antioxydants naturels.....	18
II.2.2.1. Antioxydants enzymatiques.....	18
II.2.2.1.1. Catalase.....	18
II.2.2.1.2. Superoxyde dismutase.....	18
II.2.2.1.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSH-R).....	18
II.2.2.2. Antioxydants non enzymatiques	19
II.2.2.2.1. Les caroténoïdes.....	19
II.2.2.2.2. Vitamine C.....	19
II.2.2.2.3. Vitamine E.....	20
II.2.2.2.4. Les polyphénols.....	21
• Définition.....	21

• Classification des composés phénoliques.....	21
• Role biologiques des composés phénoliques.....	21
➤ Les acides phénoliques	23
➤ Les flavonoïdes.....	23
➤ Les anthocyanes.....	23
➤ Les lignines	24
➤ Les phlorotannins	24
II.2.2.2.5. Les antioxydants enzymatiques des macrolagues.....	24
II.2.3. Antioxydants synthétiques.....	26
II.3. Le stress oxydatif.....	27
Chapitre III. Matériel et Méthodes.....	30
III.1. Matériel.....	30
III.1.1. Présentation du site d'échantillonnage de l'algue marine rouge.....	30
III.1.2. Produits chimiques.....	31
III.2 Méthodes.....	31
III.2.1. Préparation des extraits méthanolique et dichlorométhanique.....	31
III.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	32
III.2.2.1. Principe de la méthode.....	32
III.2.2.2. Protocole expérimental.....	33
III.2.3. Dosage des flavonoïdes.....	33
III.2.3.1. Principe de la méthode.....	33
III.2.3.2. Protocole expérimental.....	34
III.2.4. Dosage des caroténoïdes.....	35
III.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante et anti-radicalaire.....	35
III.2.5.1. Test DPPH.....	35
III.2.5.1.1. Principe de la méthode.....	35
III.2.5.1.1. Protocole expérimental.....	36
III.2.5.2. Méthode de la réduction de fer (FRAP).....	36
III.2.5.2.1. Principe de la méthode.....	36
III.2.5.2.2. Protocole expérimental.....	37
III.2.6. Analyse des données.....	37
Chapitre IV. Résultats et discussion.....	39
IV. Résultats et discussion.....	39
IV.1. Rendement d'extraction.....	39
IV.2. Teneur en caroténoïdes, en composés phynolique et en <i>flavonides</i>	39
IV.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	41
IV.3.1. Test du radical DPPH.....	42
IV.3.2. Evaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP).....	44
Conclusion et perspectives.....	47
Références Bibliographique.....	50

Liste des figures

Figure 1: L'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i>	9
Figure 2: Cycle de reproduction d'algue marine <i>Asparagopsis armata</i>	12
Figure 3: Ramification du thalle chez <i>Asparagopsis armata</i>	12
Figure 4: Structure de l'acide ascorbique.....	20
Figure 5 : La structure de base du tocophérol et tocotriénol.....	21
Figure 6: L'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> fraîche.....	30
Figure 7: La côte marine Salamandre de la région de Mostaganem où l'algue marine rouge a été récoltée.....	30
Figure 8: Le protocole d'extraction.....	32
Figure 9: Courbe d'étalonnage pour le dosage des (A) polyphénols totaux et (B) des flavonoides.....	34

Liste des Tableaux

Tableau 1 : les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique.....	16
Tableau 2 : les principales classes de composés phénoliques	22
Tableau 3 : les principaux groupes de composés antioxydants dans les macroalgues	25
Tableau 4: structure de quelques antioxydants synthétiques.....	27
Tableau 5: les teneurs des composés phénoliques totaux des flavonoïdes et des caroténoïdes dans les extraits de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i>	40
Tableau 6: les valeurs IC50 de l'extrait dichlorométhane et méthanol de l'algue marine rouge <i>Asparagopsis armata</i> et l'acide ascorbique	43

Liste des abréviations

Abs: Absorbance.

ARP : Puissance anti radicalaire

C : Concentration ($\mu\text{g/ml}$)

DPPH : 1.1.diphenyl-2 picrylhydrazyl

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ERN : Espèces réactives de l'azote

EAG : Equivalente acide gallique

FC: Folin-Ciocalteu

FeCl₃ : Trichlorure du fer

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

IC₅₀ : Concentration 50 % d'inhibition.

MeOH : méthanol

mg/l : Milligramme par litre.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

O₂ : Oxygène.

PH: potentiel hydrogène

trs/min : Tours par minute.

UV: Ultraviolet.

V : Volume

AA : Acide Ascorbique

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Hydroxytoluènebutylé

FeCl₃,6H₂O : Chlorure ferrique hexahydrate

TPTZ: tripyridyltriazine

FRAP: Ferric reducing/antioxidant power

A G: Acide gallique

Introduction

Introduction

De nombreuses études ont montré que le milieu marin est une ressource précieuse de diversité biologique et chimique, renfermant un grand nombre de composés naturels biologiquement actifs mais peu exploités. En effet, les algues ont développé un répertoire chimique très varié et produisent un grand nombre de métabolites secondaires aux activités biologiques différentes, et jouent un rôle écologique et économique très important représentant ainsi des pistes utiles dans le développement de nombreux domaines. Les algues marines rouges ont été reconnues comme une source très riche de molécules organiques nouvelles et inhabituelles aux propriétés variées. Parmi les algues rouges, les espèces d'*Asparagopsis* (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) telles que *Asparagopsis armata* et *Asparagopsis taxiformis*, qui ont montré de nombreuses activités biologiques, antifongiques, antibactériennes et antioxydantes.

Récemment, une des préoccupations majeures des industriels du domaine agro-alimentaire et pharmaceutique concerne la substitution des antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisolbutylé (BHA) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT) par les antioxydants naturels vue que ces composés sont avérés toxiques provoquant des dommages hépatiques, du cancer, des altérations des activités enzymatiques, et des réactions allergiques (El-Baky 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, 1984).

Introduction

D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqués dans le début de beaucoup de maladies telles que le cancer, l'arthrite rhumatoïde et l'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, les protéines et les sels minéraux (Chandini et Bhaskar, 2008). Les métabolites trouvés au sein des algues marines ont des activités antioxydante, antimicrobienne, antivirale, anti-mutagénique, anti-tumorale, antidiabétique et anti-hypertensive (Andrade et *al.*, 2013).

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).

Des études antérieures ont souligné l'importance de valoriser la biomasse abondante des espèces de macroalgues invasives comme *A. armata* (Pinteus et *al.*, 2018).

D'après nos connaissances, seulement les propriétés antimicrobiennes des algues marines d'Algérie ont été étudiées (Saidani et *al.*, 2012) tandis que leurs activités antioxydantes n'ont pas reçu une attention similaire.

Il est toutefois intéressant de souligner qu'à nos connaissances actuelles, aucune tentative n'a été faite pour explorer le pouvoir antioxydant de l'algue rouge *Asparagopsis Armata* du littoral algérien.

Introduction

Pour répondre à cette problématique, l'objectif principal de cette étude est de connaître le profil phytochimique de l'algue marine rouge *A. armata* récoltée sur la côte ouest algérienne (Salamandre-Mostaganem). D'autre part, notre but était d'évaluer le pouvoir antioxydant et anti-radicalaire des extraits organiques de cette algue marine.

Ce mémoire comporte quatre principales parties, qui développent chacune des points particuliers :

- La première partie correspond à un rappel bibliographique sur l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* et le stress oxydatif.

- La deuxième partie de ce manuscrit présente la méthodologie appliquée tout au long de ce travail. Elle expose d'une part le site de la collecte de l'algue ainsi que le protocole d'extraction en utilisant le méthanol et le dichlorométhane comme solvants organiques. D'autre part, les tests antioxydants utilisés.

- La troisième partie permet d'apprécier l'ensemble des résultats concernant l'activité antioxydante et antiradicalaire de l'*Asparagopsis. Armata*, et de discuter ces résultats.

- La quatrième partie correspond à une conclusion générale dans laquelle, nous tentons de mettre en avant les points importants apportés par ce travail, ainsi que de futures perspectives.

CHAPITRE I

Généralités sur les algues marines

I. Définition des Algues

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 environ 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 photosynthétiques répandus 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 ; existants 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, 1,7milliard d'années), des phéophycées (algues brunes, 1,1milliard d'année) (pérez, 1997).

L'algue sur laquelle notre recherche est portée, *Asparagopsis armata*, appartient à la classe des algues rouges (Rhodophyta). Elle a été reconnue depuis la fin des années 1800 pour être une source riche 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, cette 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 espèces 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 peuvent être qualifiées de « primitives ».

Asparagopsis armata Harvey (Harvey, 1855), est une algue rouge marine pluricellulaire, dont la taxonomie complète est la 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 (mode abrité) (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 3**).

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 péri axiales 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 2**).

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 péri-centrales. 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.

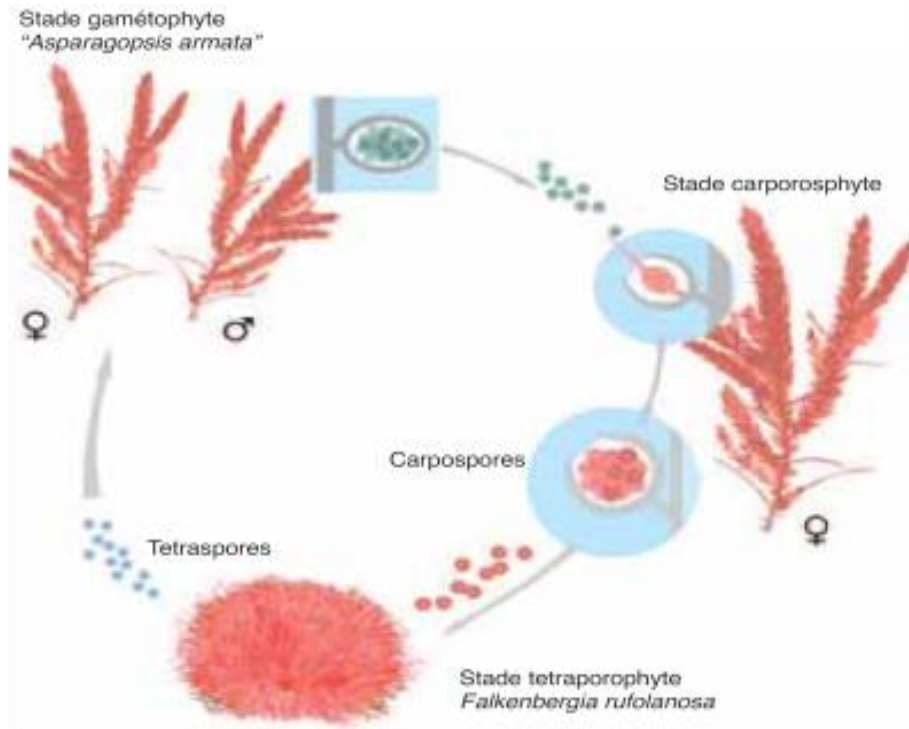


Figure 2 : Cycle de reproduction *Asparagopsis armata* (Otero et al., 2013).

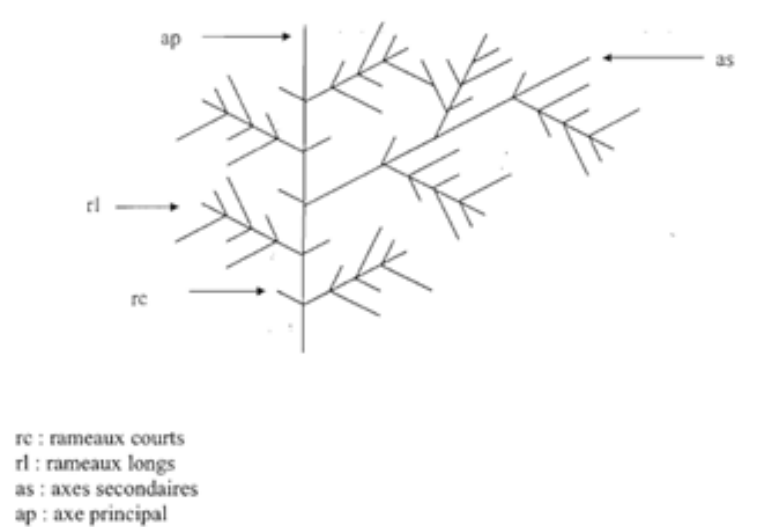


Figure 3 : Ramification du thalle chez *Asparagopsis armata* (Bonin et Hawkes 1987).

I.4.6. Espèces similaires

Il est aisé de confondre les gamétophytes de l'*Asparagopsis armata* avec un autre envahisseur florissant, l'*Asparagopsis taxiformis*, mais l'*Asparagopsis armata* se distingue par la présence de crochets en forme de harpon. L'*Asparagopsis armata* est capable de survivre et de prospérer dans des milieux plus froids que ceux de l'*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 d'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/pro-oxydants 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 d'espèces réactives de l'oxygène telles que: le radical superoxyde (O_2^{\bullet}), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}), et de l'azote: tels que le radical oxyde nitrique (NO^{\bullet}).

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

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 tissu 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}

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

Espèces réactives de l'azote			
Oxyde nitrique	NO^\bullet	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^\bullet et $\text{O}_2^{\bullet-}$
Acide Peroxynitros	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.2.1 Définition

Tous les organismes possèdent des systèmes de réparation et de défense antioxydant, qui ont évolué 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).

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

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

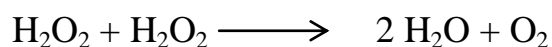
- Les antioxydants naturels : enzymatiques et non enzymatiques ;
- Les antioxydants synthétiques.

II.2.2 Antioxydants naturels

II.2.2.1 Antioxydants enzymatiques

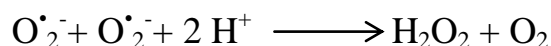
II.2.2.1.1 *Catalase*

C'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 peroxyosome. 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.2.2.1.2 *Superoxyde dismutase*

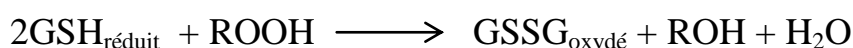
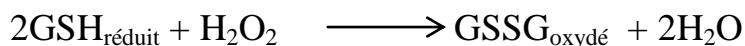
L'activité SOD constitue un élément essentiel dans le système cellulaire antioxydant pour protéger la matrice extracellulaire ainsi que les cellules contre les effets délétères de l' $\text{O}_2^{\bullet -}$ et ses dérivés. Le SOD catalyse la dismutation de l' $\text{O}_2^{\bullet -}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la formule suivante (Afonso et *al.* 2007):



II.2.2.1.3. *Glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSH-R)*

Les 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):

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



II.2.2.2 Antioxydants non enzymatiques

II.2.2.2.1 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments qui sont trouvés dans les plantes et les micro-organismes. Il y a plus de 600 caroténoïdes produites 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 l'un 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$. 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.2.2.2.2 Vitamine C

La vitamine C (l'acide ascorbique ou, l'ascorbate) (**Figure 4**) est un composé organique hydrosoluble indispensable 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

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

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).

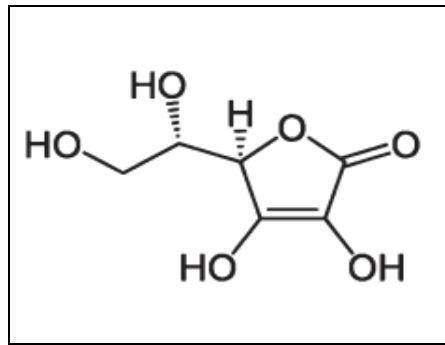


Figure 4: Structure de l'acide ascorbique (Birben et *al*, 2012).

II.2.2.2.3 Vitamine E

La vitamine E naturelle est constituée d'une série de composés appelés tocophérols et tocotriénols qui se représentent sous forme de (α -, β -, γ -, δ -) (**Figure 5**). C'est dans la stéréochimie du RRR- α -tocophérol, que la vitamine E présente l'activité biologique la plus élevée (Bourgeois, 2003).

Le α -tocophérol, la forme principale de la vitamine E, est un antioxydant liposoluble, 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 l'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).

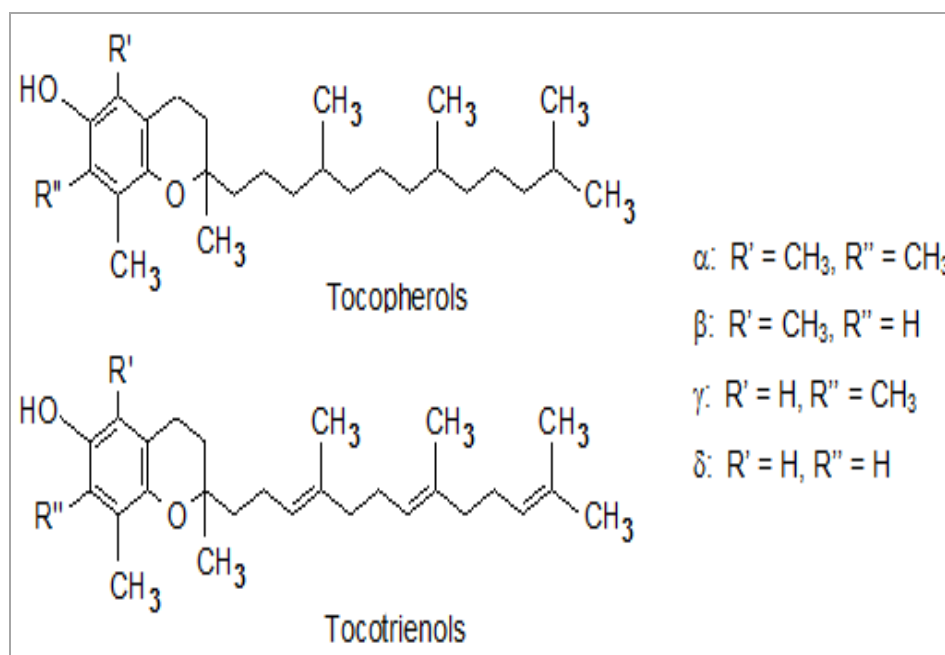


Figure 05: La structure de base des tocophérols et tocotriénols (Lampi, 2011).

II.2.2.2.4. 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 aux 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).

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

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 caféique, 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, pélargonidine	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 peroxy (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, possédant 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).

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

- *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, stabilisateur des réactions induites par des radicaux de l'oxygène et leur espèce dérivée. Elles ont 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. Ils 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).

II.2.2.2.5 *Les antioxydants non enzymatiques des macroalgues*

Le Tableau (3) regroupe les principaux antioxydants identifiés au niveau des macroalgues.

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

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> <i>Mastocarpus stellatus</i>	Lohrmann et al, 2014
	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, épicatéchine, 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

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

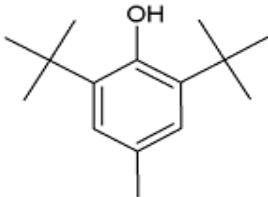
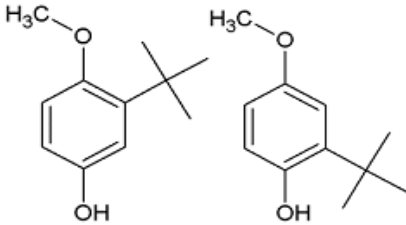
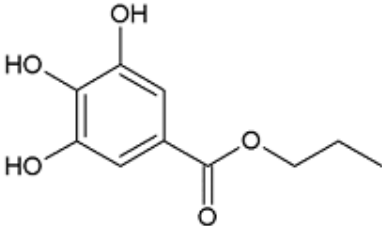
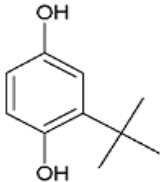
	Glycosamino-glycane sulphaté	<i>Sargassum wightii</i>	Josephine et al, 2008
	Porphyrane	<i>Porphyra sp.</i>	Athukorala et al, 2006
Vitamines	Ascorbate	<i>Chondrus crispus</i>	Lohrmann et al, 2004
		<i>Mastocarpus stellatus</i>	
	Vitamine A	<i>Sargassum sp.</i>	García-Casal et al, 2009
		<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Kumar et al, 2008

II.2.3 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 butylé tertiaire (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).

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

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

Nom	Structure
BHT (E321)	
BHA (E320) (2 isomères)	
PG (E310)	
TBHQ (E319)	

II.3 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 même à la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO), y compris les radicaux libres, qui sont fortement impliqués dans la physiopathologie des maladies, telles que le

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

cancer, l'arthrite rhumatoïde, la cirrhose et l'artériosclérose aussi bien que des processus dégénératifs liés au vieillissement (Barros et *al*, 2008). Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses maladies comme un facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydatif 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 surexprimant certains gènes, le stress oxydatif sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigue, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (Favier, 2003).

CHAPITRE III

Matériel et Méthodes

III.1 Matériel

III.1.1 Présentation du site d'échantillonnage de l'algue marine rouge

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* 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 Février 2023. 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 6 : L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* fraîche.



Figure 7: La côte marine Salamandre de la région de Mostaganem où l'algue marine rouge a été récoltée.

III.1.2 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.

III.2 Méthodes

III.2.1 Préparation des extraits méthanolique et dichlorométhanique

10 g de poudre des algues marines sont introduites dans un flacon en verre contenant 100 ml de solvant organique (méthanol ou dichlorométhane) pour une macération de 24 heures à température ambiante sous agitation à 250 tr/min. Après filtration du macérât sur papier filtre, les filtrats obtenus sont ensuite centrifugés à 2000 tr/min pendant 10 min. Les surnagants sont regroupés puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (BüchiRotavapor R-144, Suisse) à 40°C. L'extrait sec est dissout dans un volume approprié de méthanol (99.5%) pour avoir une concentration finale de 100 mg/ml. L'extrait algal 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.

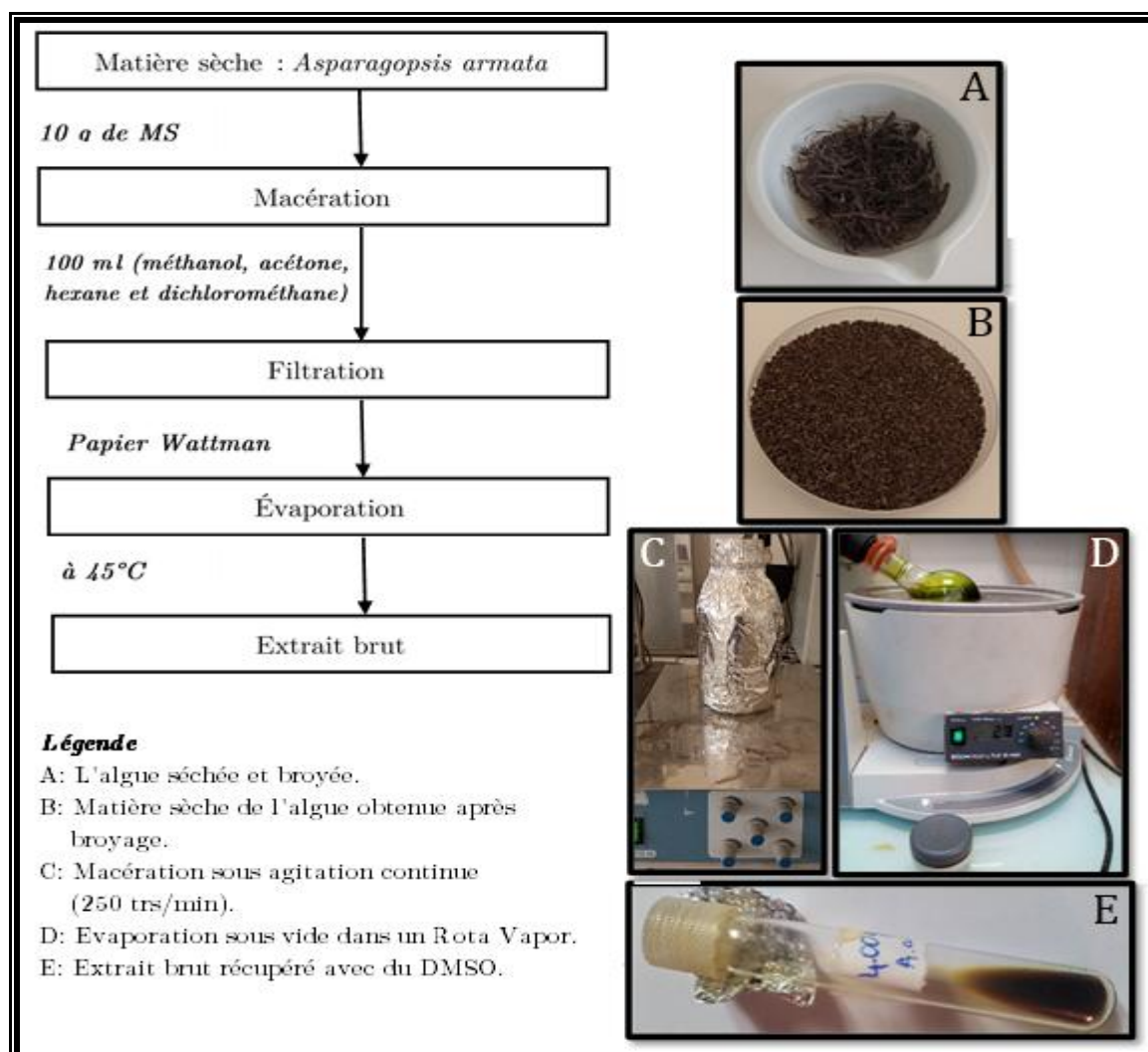


Figure 8 : Le protocole d'extraction

III.2.2 Dosage des polyphénols totaux

III.2.2.1 Principe de la méthode

La méthode adoptée pour le dosage des polyphénols totaux des extraits dichlorométhanique et méthanolique 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.

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).

III.2.2.2 Protocole expérimentale

Le dosage des polyphénols totaux des extraits 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) (**Figure 9**).

Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

III.2.3 Dosage des flavonoïdes

III.2.3.1 Principe de la méthode

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de l'algue rouge est déterminée 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^{3+}) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968).

III.2.3.2 Protocole expérimentale

La teneur totale en flavonoïdes des extraits d'algue marine est mesurée selon la méthode spectrophotométrique décrite par (Kim et al, 2003). 500 μ l de l'extrait sont ajoutés à 150 μ l de la solution de nitrite de sodium (5%) suivie par l'addition de 300 μ l de chlorure d'aluminium à 10%. Les tubes à essai sont incubés à une 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 réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (Figure 09). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la plante.

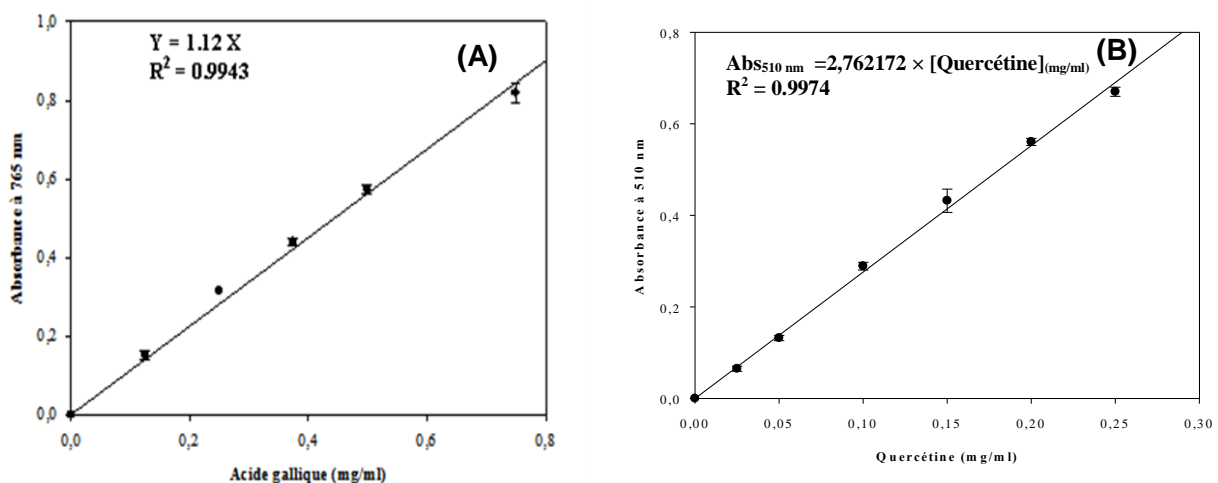


Figure 9 : Courbes d'étalonnage pour le dosage des (A) polyphénols totaux et (B) des flavonoïdes.

III.2.4 Dosage des caroténoïdes

Les teneurs des caroténoïdes dans les extraits de l'algue ont été déterminées par la méthode de Lichtenthaler et al. (1985). L'absorbance de l'extrait dichlorométhanique convenablement dilué 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 de la chlorophylle A et de la chlorophylle B ainsi que celle des caroténoïdes totaux sont déterminées à l'aide des équations suivantes :

$$C_a = 15.65 \text{ Abs}_{666\text{nm}} - 7.34 \text{ Abs}_{653\text{nm}}$$

$$C_b = 27.05 \text{ Abs}_{653\text{nm}} - 11.21 \text{ Abs}_{666\text{nm}}$$

$$C_{\text{caroténoïdes totaux}} = 1000 \text{ Abs}_{470\text{nm}} - 2.860 C_a - \frac{129.2}{245} C_b$$

Où:

C_a Et C_b : sont respectivement les concentrations de la chlorophylle A et de la chlorophylle B exprimées en mg/ml.

Abs_{xxx} : est l'absorbance à la longueur d'onde indiquée en indice.

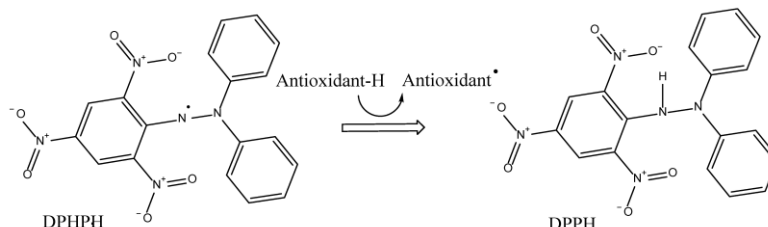
III.2.5 Evaluation de l'activité d'antioxydante et antir-adicalaire

III.2.5.1 Test DPPH

III.2.5.1.1 Principe de la méthode

Afin d'étudier les activités antiradicalaire et antioxydante des extraits dichlorométhanique et méthanolique 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 diphenylpicryl-hydrazine de couleur jaune n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (Sanchez-Moreno, 2002).



III.2.5.1.2 Protocole expérimentale

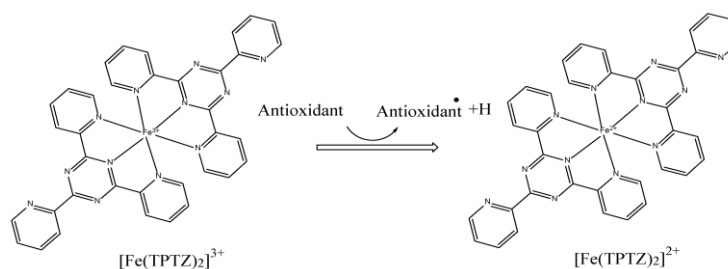
L'activité antiradicalaire des extraits de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est déterminée par la méthode de Blois modifiée. Elle consiste à mélanger dans un tube en verre 100 μ l de chaque extrait algal à différentes concentrations avec 2.9 ml de DPPH ($Abs_{517\text{ nm}}$ 0.8-1.0). Après 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 = $(\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance d'essai}) / \text{Absorbance du contrôle} \times 100$.

III.2.5.2 Méthode de la réduction de fer (FRAP)

III.2.5.2.1 Principe de la méthode

L'activité antioxydante des extraits de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* étudiés 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 l'algue provoque la réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe(III)-TPTZ) en complexe ferreux-tripyridyltriazine (Fe(II)-TPTZ), les absorbances ont été mesurées à $\lambda = 593\text{ nm}$.



III.2.5.2.2 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 de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* à différentes concentrations est mélangé 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 avec ceux trouvés avec l'acide ascorbique comme antioxydant standard.

III.2.6 Analyses des données

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

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

IV.1 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 leurs propriétés antioxydantes (Li et *al.*, 2012). Lorsque la polarité sur solvant change, elle peut provoquer l'extraction d'impuretés et réduit les activités antioxydantes (Huang et *al.*, 2009; Safari et *al.*, 2014 ; Salamatullah, 2014).

Le dichlorométhane et le méthanol sont utilisés comme solvant d'extraction pour la préparation des extraits d'algue marine rouge *Asparagopsis armata*. Les valeurs du rendement d'extraction ainsi obtenus sont respectivement **0,3** et **20,1%**. Il semble que le rendement d'extraction avec le dichlorométhane est le plus faible. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par Bouhal et al (2010) qui ont trouvé que le rendement d'extraction avec le dichlorométhane et le méthanol sont respectivement 0.28 et 14.37%. D'après 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.

IV.2 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 des extraits 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 méthanolique de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est le plus riche en caroténoïdes et en composé phénolique.

Tableau 5: Les teneurs des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des caroténoïdes dans les extraits de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata*.

Extrait	Polyphénols totaux (EAG mg/g Résidu sec)	Flavonoïdes (EQ mg/g)	Caroténoïdes (mg/mL)
Dichloromethane	7.4 ±0.1	24.00 ± 6.8	162.2 ±0.00
Méthanol	7.98 ± 0.64	ND	255.60±12.56

ND : Non déterminé.

Les composés phénoliques sont couramment trouvés dans les plantes et ont été rapportés d'avoir plusieurs activités biologiques, y compris les propriétés antioxydantes qui sont dues à leurs groupements hydroxyles.

L'extrait dichlorométhane 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).

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hmani et al. (2021). Ces auteurs ont signalé que le méthanol donne la meilleure teneur en composés phénoliques (14.95 ± 0.5 mg /g). Par contre, Lee et al. (2020) ont trouvé que l'extrait d'*Asparagopsis armata* préparé par macération à chaud contient 22.22 mg/g.

Nous avons constaté que seul le dichlorométhane contient les flavonoïdes avec une teneur d'environ 24.00 mg/g de résidu sec. Cette teneur est élevée par rapport à celle trouvée par Hmani et al,(2021) (4.64 mg/g). De plus, l'extrait méthanolique est plus riche en caroténoïdes (255.60 mg/ml) par rapport à l'extrait dichlorométhane (162.2 ± mg/ml). Ces composés sont considérés comme excellents antioxydants (Wang et al, 2009).

D'après Dawczynski et al. (2007) et Morais et al. (2020), le α - et le β -carotène et leurs dérivés tels que la zéaxanthine and luteine sont les principaux caroténoïdes des algues marines rouges.

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).

IV.3 Evaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage des 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.

IV.3.1 Test du radical DPPH*

L'activité antiradicalaire des extraits 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 utilisée pour évaluer le potentiel antioxydant de différents composés naturels vue 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).

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).

* *DPPH radical scavenging assay*

Les valeurs d' EC_{50} ont été déterminées par extrapolation à partir des courbes de réduction du radical DPPH en fonction de la concentration pour l'extrait de l'algue marine pour les deux solvants d'extraction et pour l'acide ascorbique comme antioxydant standard. Les valeurs ainsi calculées sont indiquées dans le Tableau (6).

Tableau 6: Les valeurs IC₅₀ de l'extrait dichloromethane et methanol de l'algue marine rouge *Asparagopsis armata* et l'acide ascorbique.

Extrait	DPPH* (IC ₅₀ ; mg/ml)	FRAP** (IC ₅₀ ; mg/ml)
Dichloromathane	4.00±0.07***	2.00±0.00
Methanol	2.74±0.024	160.82±3.77
Ascorbic acid	0.12±0.02	0.08±0.0034

*Valeur EC₅₀: la concentration effective pour laquelle l'activité antioxydante est 50%; l'absorbance est 0.5 pour le pouvoir réducteur; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH'). La valeur EC₅₀ est obtenue par extrapolation à partir de l'analyse de la régression linéaire.

***Chaque valeur est exprimée en moyenne ± erreur standard (n = 2).

On constate que l'extrait méthanolique (IC₅₀ = 2.74 mg/g) possède l'activité antiradicalaire la plus élevées par rapport à l'extrait dichlorométhane (4.00 mg/ml).

On peut dire que l'extrait méthanolique d'algue marine rouge *Asparagopsis armata* est riche en composés donneurs d'atome d'hydrogène (Mishra et al., 2012).

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 IC₅₀ de 0.12 mg/ml.

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux reportés par Hmni et al. (2020) ($IC_{50} = 1.05$ mg/g). De même, Rhimou et al (2013) ont trouvé une valeur de $IC_{50} = 0.86$ mg/ml pour l'extrait méthanolique de *A. armata*.

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.

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).

IV.3.2 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 dans le Tableau (6), on remarque que l'extrait dichlorométhane de l'algue marine rouge (*Asparagopsis armata*) a un pouvoir antioxydant plus élevé par rapport à l'extrait méthanolique, donc il réduit l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} .

La capacité réductrice de l'extrait algal indique son potentiel antioxydant.

D'après les résultats regroupés dans le Tableau (6), l'acide ascorbique possède le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport aux deux extraits de l'algue marine.

Le pouvoir antioxydant de l'*Asparagopsis armata* est dû à sa richesse en caroténoïdes et composés phénoliques (phloroglucinol, phlorotannins et fucoxanthin), en vitamines (A, C and B), en polysaccharides sulfatés, en acides gras polyinsaturés et en caroténoïdes qui possèdent des propriétés antioxydantes (Goh et al., 2010 ; 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).

**Conclusion et
perspectives**

Conclusion et perspectives

Cette étude a permis d'évaluer pour la première fois la capacité antioxydante et antiradicalaire des extraits méthanolique et 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 des extraits méthanolique et dichlorométhanique de l'algue rouge.

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

L'algue marine rouge *Asparagopsis armata* constitue de ce fait, une source nutritive potentielle d'antioxydants. Sa consommation 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 des extraits méthanolique et dichlorométhanique de l'algue afin d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante.
- des études des effets suscités et des autres effets potentiels *in vivo* sur des organismes vivants en introduisant par exemple les extraits d'*A. armata* dans l'alimentation des animaux marins en aquaculture ou par l'évaluation de l'effet de ces extraits sur des cellules cancéreuses des animaux du laboratoire.

Conclusion et perspectives

- des expériences devront être complétées au laboratoire pour l'évaluation des autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antiproliférative, ...etc. et ce pour les présents extraits ainsi que pour les extraits hexanique et acétonique. À quoi s'ajoutent d'autres études expérimentales sur les impacts de la saisonnalité sur les différentes activités biologiques d'*A. armata*.
- De plus, pour une éventuelle application clinique efficace, nous visons à évaluer la toxicité aiguë et chronique des différents extraits d'*A. armata* sur des souris albinos et d'étudier leur effet cytotoxique sur les cellules tumorales du myélome murin. En effet, la maîtrise de la toxicité de l'algue ainsi que l'identification de ses métabolites bioactifs ouvrent des portes pour une utilisation thérapeutique rationnelle voire industrielle et constituent une base pour d'autres études visant à investiguer les mécanismes d'action ainsi que la synergie en toxicité qu'en pharmacologie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111(1), 61-66.
- Andrade, P. B., Barbosa, M., Matos, R. P., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T., & Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1819-1828.
- B Spinnato II, J. A., Freire, S., e Silva, J. L. P., Rudge, M. V. C., Martins-Costa, S., Koch, M. A., ... & Sibai, B. M. (2008). Antioxidant supplementation and premature rupture of the membranes: a planned secondary analysis. *American journal of obstetrics and gynecology*, 199(4), 433-e1.
- Bourgeois, C. F. (2003). *Les vitamines dans les industries agroalimentaires*. Tec & Doc.
- Balboa, E. M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., & Domínguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food chemistry*, 138(2-3), 1764-1785.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742-2747.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19
- Blando, F., Gerardi, C., & Nicoletti, I. (2004). Sour cherry (*Prunus cerasus* L) anthocyanins as ingredients for functional foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 253.
- Bonin, D. R., & Hawkes, M. W. (1987). Systematics and life histories of New Zealand Bonnemaisoniaceae (Bonnemaisoniales, Rhodophyta): I. The genus *Asparagopsis*. *New Zealand Journal of Botany*, 25(4), 577-590.
- Cardozo, K. H., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., ... & Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with

Références bibliographiques

- economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(1-2), 60-78.
- Chandini, S. K., Ganesan, P., & Bhaskar, N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food chemistry*, 107(2), 707-713.
 - 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(9), 3329-3335.
 - Cornish, M. L., & Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25(4), 155-171.
 - Dawczynski, C., Schubert, R., & Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food chemistry*, 103(3), 891-899.
 - Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52(794804), 4.
 - El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., & Young, A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*, 430(1), 37-48.
 - El-Baky A, H.H ; El-Baz, F. K ; El-Baroty, G. S. (2009). Natural preservative ingredient from marine alga *Ulvalactuca* L. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 1688–1695.
 - Farvin, K. S., & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food chemistry*, 138(2-3), 1670-1681.
 - Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
 - Feldmann, J. (1951). La flore marine de l'Afrique du Nord.-CR Heb. Scéances Soc. Biogéog. 243: 1 () 3-1 () 8, FELDMANN, J. & G. FELDMANN (1942): Additions à la flore des algues marines de l'Algérie. e. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 33, 230-245.
 - Feldmann, J., & Feldmann, G. (1939). Sur le développement des carpospores et l'alternance de générations de l'*Asparagopsis armata*

Références bibliographiques

- Harvey. *Compte rendu Hebd des Séances l'Académie des Sci Paris*, 208, 1420-1422
- Feldmann, J., *Les problèmes de l'étagement des peuplements d'algues marines*. Colloques int. Cent. natn. Rech. scient., 1957. **1957**: p. 37-41.
 - Ganesan, P., Kumar, C. S., & Bhaskar, N. (2008). Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource technology*, 99(8), 2717-2723.
 - Garon-Lardière, S. (2004). *Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge Asparagopsis armata (Bonnemaisoniales)* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale)
 - Goh, S. H., Yusoff, F. M., & Loh, S. P. (2010). A comparison of the antioxidant properties and total phenolic content in a diatom, *Chaetoceros* sp. and a green microalga, *Nannochloropsis* sp. *Journal of Agricultural Science*, 2(3), 123.
 - Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 315-326.
 - Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*, 219(1), 1.
 - Hmani, I., Ktari, L., Ismail, A., M'dallel, C., & El Bour, M. (2021). Assessment of the antioxidant and antibacterial properties of red algae (Rhodophyta) from the north coast of Tunisia. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, 6, 1-9.
 - Hommersand, M., Fredericq, S., & Cabioch, J. (1992). Developmental morphology of *Gigartina pistillata* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Phycologia*, 31(3-4), 300-325.
 - Jain, A. K., Vaidya, A., Ravichandran, V., Kashaw, S. K., & Agrawal, R. K. (2012). Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(11), 3378-3395.
 - Khan, B. A., Akhtar, N., Mahmood, T., Shoaib, H. M., Qayum, M., & Saeed, T. (2011). Effects of antioxidants and flavonoids of sea buckthorn on skin whitening and skin erythema. *Asian Journal of Chemistry*, 23(2), 903.

Références bibliographiques

- Li, Y. X., & Kim, S. K. (2011). Utilization of seaweed derived ingredients as potential antioxidants and functional ingredients in the food industry: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20(6), 1461.
- López, A., Rico, M., Rivero, A., & de Tangil, M. S. (2011). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125(3), 1104-1109.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- Manivannan, K., Anantharaman, P., & Balasubramanian, T. (2012). Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S342-S346.
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D. M., Mozhi, S. T., Arumugam, M., & Balasubramanian, T. (2009). Total flavanoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram coast. *Global Journal of Pharmacology*, 3(2), 59-62.
- Okamoto, T., Surh, Y. J., & Packer, L. (2005). Oxidative stress, inflammation and health.
- Okamoto, T., Surh, Y. J., & Packer, L. (2005). Oxidative stress, inflammation and health.
- Otero, M., Cebrian, E., Francour, P., Galil, B., & Savini, D. (2013). Surveillance des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégées (AMP) méditerranéennes: guide pratique et stratégique à l'attention des gestionnaires. *Medpan coll., IUCN*.
- Painter, T.J., *Algal polysaccharides*. The polysaccharides, 1983: p. 195-285.
- Pérez, R. (1997). *Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, role dans la biosphere, utilisations, culture*. Editions Quae
- Pérez, R., *Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, role dans la biosphere, utilisations, culture*. 1997: Editions Quae.
- Pinteus, S., Lemos, M. F., Alves, C., Neugebauer, A., Silva, J., Thomas, O. P., ... & Pedrosa, R. (2018). Marine invasive macroalgae: Turning a real threat into a major opportunity-the biotechnological potential of

Références bibliographiques

- Sargassum muticum and Asparagopsis armata. *Algal research*, 34, 217-234.
- 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(8).
 - Pouteau, C., Dole, P., Cathala, B., Avérous, L., & Boquillon, N. (2003). Antioxidant properties of lignin in polypropylene. *Polymer Degradation and Stability*, 81(1), 9-18.
 - 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.
 - Roy, N., Laskar, R. A., Sk, I., Kumari, D., Ghosh, T., & Begum, N. A. (2011). A detailed study on the antioxidant activity of the stem bark of Dalbergia sissoo Roxb., an Indian medicinal plant. *Food chemistry*, 126(3), 1115-1121.
 - Rubal, M., Costa-Garcia, R., Besteiro, C., Sousa-Pinto, I., & Veiga, P. (2018). Mollusc diversity associated with the non-indigenous macroalga Asparagopsis armata Harvey, 1855 along the Atlantic coast of the Iberian Peninsula. *Marine environmental research*, 136, 1-7.
 - Safari, P., Rezaei, M., & Shaviklo, A. R. (2015). The optimum conditions for the extraction of antioxidant compounds from the Persian gulf green algae (Chaetomorpha sp.) using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2974-2981.
 - 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(39), 9496-9500.
 - Salamatullah, A. (2014). Characterization of extraction methods to recover phenolic-rich antioxidants from blue green algae (spirulina) using response surface approaches.
 - Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P., & Jeeva, S. (2017). Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed Cystoseira trinodis (Forsskål) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2608-S2614.
 - Senthilkumar, P., & Sudha, S. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of methanolic extract of green seaweed Chaetomorpha linum from Gulf of Mannar: Southeast coast of India.

Références bibliographiques

- Stengel, D. B., Connan, S., & Popper, Z. A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology advances*, 29(5), 483-501.
- Toledano, A., García, A., Mondragon, I., & Labidi, J. (2010). Lignin separation and fractionation by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 71(1), 38-43.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- Vélez-Alavez, M., Méndez-Rodríguez, L. C., Montañez, J. A. D. A., 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: Molecular & Integrative Physiology*, 170, 26-30.
- Vijay, P., & Vimukta, S. (2014). The role of natural antioxidants in oxidative stress induced diabetes mellitus. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences ISSN*, 2319, 555X.
- Wang, T., Jonsdottir, R., & Ólafsdóttir, G. (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food chemistry*, 116(1), 240-248.
- Wijesinghe, W. A. J. P., & Jeon, Y. J. (2012). Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 13-20.
- Womersley, H. (1996). The marine benthic flora of Southern Australia. Rhodophyta-Part IIIB. *Australian Biological Resources Study*.
- Wong, J. Y., & Chye, F. Y. (2009). Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 269-277.
- Yang, J. H., Lin, H. C., & Mau, J. L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food chemistry*, 77(2), 229-235.
- Zhang, W. W., Duan, X. J., Huang, H. L., Zhang, Y., & Wang, B. G. (2007). Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyclocladia latiuscula* (Rhodomelaceae). *Journal of Applied Phycology*, 19, 97-108.

Références bibliographiques

- Zhou, Y., & Singh, B. R. (2004). Effect of light on anthocyanin levels in submerged, harvested cranberry fruit. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 259.