

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



كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de MASTER

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

Par :

M^{lle}. Ben tireche Messaouda
M^{lle}. Khich Reguia

THÈME

Etude phytochimique et activité biologique de l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamarixifolia*

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

M. Leboukh Mourad
M. Benaceur Farouk
M. Gouzi Hicham
M. Sifi Ibrahim

Président
Examineur
Rapporteur
Co-rapporteur

Année Universitaire 2015/2016

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents pour l'éducation et le soutien durant tout mon étude.

A mes chers frères Mohammed, Allal et Taher.

A mes sœurs Khadra et Malika.

A tous les membres de la famille Ben tireche et Rzigui.

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

A mes amis : Mbarka, Amina, Souad, Halima, Zineb, Omelkhair, Rbiha, Rabia.

A mes collègues de la promotion de biochimie 2016.

A tous qui me connaisse de près et de loin.

Messaouda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents pour l'éducation et le soutien durant tout mon étude.

A mon seul cher frère Nadji.

A mes sœurs Hayat et Nourelhouda.

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

A tous les membres de la famille et à mes oncles:
Omar, Mohamed, Bakhouche, Kadour.

A mes collègues de la promotion de biochimie 2016.

A tous qui me connaissent de près et de loin.

Rokia

Remerciements

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

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

*Nous remercions également notre Co-promoteur **Mr. Sifi Ibrahim** de nous avoir guidés durant la réalisation de ce travail.*

Nous tenons également à exprimer nos remerciements à Mr. Leboukh Mourad d'avoir présidé notre soutenance et Mr. Farouk Benaceur d'avoir accepté d'examiner notre travail.

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

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

Résumé. Les algues marines représentent une des sources naturelles riches en substances bioactives. Ce présent travail a pour objectif d'étudier d'une part la composition chimique en métabolites primaire et secondaires de l'extrait méthanolique d'une algue marine brune *Cystoseira tamascifolia* de la cote marine de Salamandre (Wilaya de Mostaganem) et d'autre part de déterminer ses propriétés antioxydante et antimicrobienne.

L'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira* montre la présence des phénols, des flavonoïdes, des stérols, des terpènes, des hétérosides et des composés réducteurs. Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en caroténoïdes sont respectivement : 99.04 mg/g EAG, 104.2 mg/g EQ et 2552.79 mg/mL.

L'activité antioxydante et antiradicalaire ont été évalué respectivement par les tests FRAP et DPPH. L'extrait méthanolique algal a un pouvoir antiradicalaire plus élevé par rapport aux antioxydants synthétiques testés ($IC_{50, DPPH} = 0.048$ mg/ml). L'extrait algal est capable de réduire le fer ferrique (Fe^{3+} /Ferricyanure) en forme fer ferreux (Fe^{2+}). Les résultats des tests de l'activité antimicrobienne montrent que les bactéries Gram positif sont très sensible par rapport aux bactéries Gram négatif vis-à-vis de l'extrait méthanolique de l'algue marine *Cystoseira*. Ce dernier est capable aussi d'inhiber de manière significative la croissance mycelienne de deux champignons phytopathogènes du genre *Fusarium* (*Fusarium culuorum* et *Fusarium graminearum*).

L'algue marine brune *Cystoseira tamascifolia* est donc une source prometteuse d'agents antimicrobiens capables d'être utilisés par les industries pharmaceutique et agricole.

Mots clés : Cote marine de Salamandre, *Cystoseira tamascifolia*, extrait méthanolique, analyse phytochimique, Test DPPH, Test FRAP, bactéries pathogènes, *Fusarium*.

Abstract. Marine algae are an important natural source of bioactive compounds. This present work was aims to study firstly the chemical composition of secondary and primary metabolites presents in the methanolic extract of a brown marine algae *Cystoseira tamascifolia* of Salamandre marine coast (Mostaganem area) and secondly to evaluate its antioxidant and antimicrobial activities. The phytochemical analysis shows that the methanolic extract of *Cystoseira* algae contained principally phenolics compounds, flavonoids, terpenes, heterosids and reducing compounds.

The content of total phenolics compounds, of flavonoids and carotenoids were 99.04 mg/g EAG, 104.2 mg/g EQ and 2552.79 mg/mL, respectively.

The antioxidant and antiradical activities were evaluated by FRAP and DPPH methods. Methanolic algal extract have a high antiradical power than tested synthetics antioxidants ($EC_{50, DPPH} = 0.048$ mg/ml). The algal extract was able to reduce the Fe^{3+} /Ferricyanide complex to the ferrous form.

The results of antimicrobial activities show that Gram positive bacteria of were more sensitive than Gram negative bacteria against the methanolic extract of the brown marine algae *Cystoseira*. This extract inhibits significantly the mycelia growth of pathogenic fungi of the genus *Fusarium* (*Fusarium culuorum* and *Fusarium graminearum*).

The brown marine algae *Cystoseira tamascifolia* can be considered as source of a promising antioxidant and antimicrobial agents that can be used by pharmaceutical and agricultural industries.

Keywords : Salamandre marine coast, *Cystoseira tamascifolia*, methanolic extract, phytochemical analysis, DPPH test, FRAP test, pathogenic bacteria, *Fusarium*.

الطحالب البحرية من المصادر الطبيعية الغنية بالمواد الحيوية. يهدف هذا العمل أولاً لدراسة التركيب الكيميائي الأولي والثانوي من مستخلص الميثانول للطحلب البني البحري *cystoseira tamariscifolia* من جهة السمندر (ولاية مستغانم) وثانياً تحديد خصائص مضاد الأكسدة ومضاد الميكروبات. يظهر التحليل الكيميائي النباتي لمستخلص الميثانول للطحلب *cystoseira tamariscifolia* وجود الفيلونات، الفلافونويد، ستيرول، تربين، جليكوسيدات و الفلافونويد والكاروتينات هي على التوالي : 99.04 معادل حمض الغاليك / البوليفينول، 104.2 الكستين/غ من البوليفينول، 2552.79 / تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة و المضاد الجذري على التوالي الميثانول راديكالية مضادات الاكسدة الاصطناعية ($C50, DPPH = 0.048$ /). له القدرة على ارجاع الحديد (Fe^{3+} /Ferricyanure) الى (Fe^{2+}). تظهر نتائج لبيكتيريا إيجابية الجرام حساسة للغاية مقارنة بالبكتيريا سالبة الجرام لص الميثانول للطحلب *cystoseira* وهذا الأخير هو أيضاً قادر على تثبيط نمو نوعين من الفطر الممرضة للنباتات من صنف فراغيوم (*Fusarium culuorum* et *Fusarium graminearum*). اذن الطحلب البحري البني *cystoseira tamariscifolia* هو مصدر للعوامل المضادة للجراثيم يمكن استخدامها في الصناعة الصيدلانية و الزراعية.

الجهة البحرية السمندر, *cystoseira tamariscifolia*, الميثانول، التحليل الكيميائي النباتي، اختبار DPPH, FRAP, البيكتيريا المسببة للأمراض, *Fusarium*.

Sommaire

	Page
Résumé.....	IV
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des photos.....	IX
Liste des abbréviations.....	X
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	3
I. Généralités sur les algues marines.....	3
I.1. Introduction.....	3
I.2. Classification des algues.....	3
I.2.1. Les critères biochimiques.....	3
I.2.2. Les critères morphocytologiques.....	3
I.3. Le mode de reproduction des algues brunes.....	4
I.3.1. La reproduction sexuée.....	5
I.3.2. La reproduction asexuée.....	6
I.4. Composition biochimique des algues.....	6
II. Présentation de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamiscifolia</i> étudiée.....	9
II.1. Description, biologie et écologie de l'algue.....	9
II.1.1. Synonymies.....	9
II.1.2. Description.....	9
II.1.3. Position systématique.....	10
II.1.4. La reproduction.....	10
II.2. Répartitions géographique des espèces du genre <i>Cystoseira</i>	11
II.3. Etudes chimique antérieures des algues brunes de la famille des Cystoseiracées.....	11
II.4. Activités biologiques de l'algue <i>Cystoseira</i>	12
Matériels et méthodes.....	13
I. Matériels.....	13
I.1. Site d'échantillonnage et récolte du matériel végétale.....	13
I.2. Souches microbiennes.....	14
I.3. Produits chimiques et milieux de cultures.....	14
II. Méthodes.....	15
II.1. Broyage et préparation d'extrait.....	15
II.2. Tests phytochimiques.....	15
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	17
II.3.1. Principe de dosage.....	17
II.3.2. Protocole expérimentale.....	18
II.4. Dosage des flavonoïdes.....	19
II.4.1. Principe de la méthode.....	19
II.4.2. Protocole expérimentale.....	19
II.5. Dosage des caroténoïdes.....	20
II.6. Evaluation de l'activité antioxydante d'extrait méthanolique d'algue <i>Cystoseira tamarixifolia</i>	20
II.6.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	20
II.6.2. Test de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	21
II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Cystoseira tamarixifolia</i>	21
II.7.1. Activité antibactérienne.....	21
II.7.2. Evaluation de l'activité antifongique.....	23

II.8. Analyses des données.....	23
Résultats et discussion.....	24
I. Rendement d'extraction.....	24
II. Les tests phytochimiques.....	25
III. Dosage des principaux constituants phytochimiques : polypénols, flavonoïdes et caroténoïdes.....	25
IV. Evaluation des activités antioxydante et antimicrobienne.....	26
IV.1. Activité antioxydante.....	26
IV.1.1. Test du radical DPPH.....	26
IV.1.2. Test de FRAP.....	29
IV.2. Activité antimicrobienne.....	31
IV.2.1 Activité antibactérienne.....	31
IV.2.2 Activité antifongique.....	34
Conclusion.....	37
Références bibliographiques.....	38
<i>Annexe</i>	

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Cycle de reproduction sexuée d'une algue brune.....	5
Figure 2 : Structure du fucosterol.....	8
Figure 3 : Représentation schématique de <i>Cystoseira tamariscifolia</i>	9
Figure 4 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre <i>Cystoseira</i> . A-individu mature, B-extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C-conceptacle en coupe transversale, D-gamètes femelle, E-gamètes mâle, F-zygote et G-zygote avec rhizoïdes.....	11
Figure 5 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux...	18
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de quercétine (mg/ml) pour le dosage des flavonoïdes...	19
Figure 7 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	20
Figure 8 : Présentations graphiques des pourcentages d'inhibition du DPPH résiduel en fonction de la concentration de l'extrait d'algue brune <i>Cystoseira</i> et des antioxydants standards.....	27
Figure 9 : Résultats de la mesure de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et des antioxydants de synthèse, déterminée par le test FRAP.....	30

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1: Caractéristiques importantes des groupes d'algues.....	4
Tableau 2 : Analyse globale moyenne des algues en générale.....	6
Tableau 3 : Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.....	14
Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait d'algue <i>cystoseira tamarixifolia</i>	25
Tableau5: Les valeurs d'EC ₅₀ des activités antioxydantes de l'extrait méthanolique d'algue brune <i>Cystoseira tamiscifolia</i>	28
Tableau 6 : Les résultats de l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de l'algue brune <i>Cystoseira tamascifolia</i>	32
Tableau 7 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique d'algue brune <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et de la nystatine sur <i>Fusarium gramineaum</i> et <i>Fusarium culmorum</i>	34

Liste des photos

	Page
Photo 1 : Station de la récolte de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamarixifolia</i> (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre)	13
Photo 2 : Photo de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamarixifolia</i> à l'état frais.....	13
Photo 3 : l'algue brune <i>Cystoseira tamarixifolia</i> sèche après broyage.....	15
Photo 4 : Les résultats après 30 min d'incubation du radical DPPH en présence de l'extrait d'algue <i>Cystoseira tamarixifolia</i> à différentes concentrations.....	27
Photo 5 : Les résultats de tests FRAP en présence de l'extrait à différentes concentrations.....	29
Photo 6 : Les résultats de l'effet de l'extrait méthanolique de <i>Cystoseira</i> sur quelques souches bactériennes (Gram+ et Gram-) par les méthodes de diffusion surdisques et sur puits.....	32
Photo 7 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique (EM) de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamariscifolia</i> à différentes concentrations sur <i>Fusarium culmorum</i>	35
Photo 8 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique (EM) de l'algue marine brune <i>Cystoseira tamariscifolia</i> à différentes concentrations sur <i>Fusarium gramineum</i>	35
Photo 9 : Effet de la nystatine sur la croissance du <i>Fusarium gramineum</i>	35
Photo 10 : Effet de la nystatine sur la croissance du <i>Fusarium culmorum</i>	35

Liste des abréviations

AA : Acide ascorbique

TROLOX : 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylique acide

BHA : Butyle d'HydroxyAnisole

EQ : Equivalent Quercétine

DPPH : 2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent à l'Acide Gallique

EC₅₀: Efficient concentration 50

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

DMSO: Diméthyle Sulfoxyde

PDA : Potatos Dextrose Agar

MH : Muller Hinton

EM : Extrait méthanolique

Amp : ampicilline

.

.

.

L'eau recouvre plus de 70% de la surface du globe terrestre. Elle abrite des organismes marins qui représentent une énorme ressource riches de nouveaux composés biologiquement actifs (Yong-xinet *al*, 2011).

Durant ces 30 dernières années, les microorganismes ce sont devenues pathogènes du fait de l'apparition des formes résistantes aux antibiotiques (Duchesne, 1897). Par conséquent, une demande croissante dans la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle où il y a une grande variété d'organismes parmi eux les algues marines. Ces derniers sont des organismes photosynthétiques, ainsi qu'elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal (Gonzalez del Vale *et al.*, 2001).

Les algues sont riches en métabolites qui peuvent être des composés bioactifs (T ney, 2006; Al-Mola, 2009; Rajasulochana *et al.*, 2009). Ce sont donc une source potentielle et prometteuse d'agents pharmaceutiques d'activités biologiques des algues sont très diverses : antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, cytotoxiques, ainsi que d'autres activités. (Chbani *et al*, 2011).

L'étude des produits d'origine marine a débuté à la fin des années 1970 et a conduit à l'isolement plusieurs substances. Beaucoup d'extraits isolés présentent une potentialité pharmacologique, bien supérieure à celle de produits naturels provenant des plantes où d'organismes terrestres (Blunt *et al*, 2012).

Dans le corps humain, les produits chimiques exogènes et les processus métaboliques pourraient produire fortement des radicaux libres, particulièrement l'espèce réactive d'oxygène (ERO), capable d'oxyder les biomolécules, ayant pour résultat la mort des cellules et la destruction des tissus (Halliwell et Gutteridge, 2003). D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqué dans le début de beaucoup de maladies telles que le cancer, arthrite rhumatoïde et athérosclérose aussi bien que dans les processus dégénératives liés au vieillissement (Halliwell et Gutteridge, 1984).

Récemment, une des préoccupations majeures des industriels du domaines agro-alimentaire et pharmaceutique concerne la substitution des antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) par les antioxydants naturels vue que ces composés ce sont avérés toxiques provoquant des dommages hépatique, du cancer, des altérations des activités enzymatiques, et des réactions allergiques (El-Bay *et al*, 2009 ; Zhang *et al*, 2007). Par conséquent, les antioxydants naturels représentent des outils prometteurs pour se protéger contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Roy *et al*, 2011).

Récemment, plusieurs travaux ont été menés sur les propriétés antioxydantes des extraits d'algues marines (Kajiwara *et al.*, 2006 ; Salvador *et al.*, 2007 ; Shanmughapriya *et al.*, 2008).

De nombreuses espèces d'algues marines, en particulier les algues rouges et brunes possèdent des substances ayant des activités antioxydantes. Parmi ces substances, les caroténoïdes, les phlorotannins, les polysaccharides sulfatés, les stéroïdes, les composés phénoliques, les cétones, les alcanes halogénés, les polysulfures cycliques, les vitamines (A, E, C et B), les acides gras et polyinsaturés et l'acide acrylique sont décrits chez algues rouges et brunes (Mtolera et Semesi, 1996; Taskin, 2007; Shanmughapriya *et al.*, 2008; Patra *et al.*, 2009 ; Ye *et al.*, 2009 ; Farvin et Jacobsen, 2013 ; Balboa *et al.*, 2013 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011; Andrade *et al.*, 2013 ; Manivannan *et al.*, 2012).

Par rapport aux côtes marines de la méditerranée, la biomasse algale des côtes marines Algérienne n'as était que très peu valorisée comme étant une source potentielle d'agents antimicrobien et antioxydant. D'après nos connaissances, aucune étude n'a été faite sur les activités antioxydante et antimicrobienne de l'algue brune *Cystoseira tamascifolia* des côtes marine d'Algérie (Mansouri *et al.* 2005).

Par conséquent, l'objectif principal de notre travail est d'étudier d'une part l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamarixifolia* récoltée de la côte marine (Mostaganem-Salamandre) de l'Ouest Algérien et de déterminer d'autre part son pouvoir antimicrobien vis-à-vis de quelques microorganismes pathogènes.

Ce mémoire présenté en trois parties est séquencé comme suit. La première partie concerne un rappel bibliographique sur les algues marines et quelques généralités sur leurs principales activités biologiques (activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques). Dans la deuxième partie, nous mettrons en évidences les procédures expérimentales. La troisième partie est consacrée à une discussion des résultats obtenus. Enfin, une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures, sont regroupées dans la conclusion.

I. Généralités sur les algues marines

I.1. Introduction

Les algues regroupent un ensemble des végétaux autotrophes capables de se développer par photosynthèse (Morèreet Pujol, 2002) ou bien hétérotrophes et mixotrophes qui sont reproduit par voie non sexuée et présentent une croissance rapide par division cellulaire (Pelczar, 1993). L'appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » dépourvu de racines, de tiges et de feuilles (Lardiere, 2004). Il est constitué de trois parties principales : un appareil fixateur (crampons), qui simule un système racinaire, responsable de l'ancrage du thalle au substrat ; une partie en forme de pédoncule, le stipe ; une quantité variable de lames aplaties qui constituent l'essentiel de la surface du thalle, qui réalise la photosynthèse. Quelques thalles renferment également des flotteurs, ou vésicules, remplis de gaz, situés à la base des lames. Les flotteurs permettent le positionnement des lames à proximité de la zone la plus intense de lumière (Nabors, 2009).

Les algues ont des formes et des dimensions très variables, certaines sont microscopiques et d'autres sont macroscopiques mesurent par plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes ; D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales à température élevées (algues thermophiles) (Ainane, 2011).

I.2. Classification des algues

De nombreux critères écologiques, physiologiques ou biochimiques interviennent dans la phylogénie des algues (Gaël, 2005) telles que les structures cellulaires (la paroi cellulaire, les pigments, glucanes de réserve), l'habitat, le cycle de vie et le mode de nutrition. La classification des algues repose sur cinq critères (Tableau 1) :

I.2.1. Les critères biochimiques

- La nature des pigments photosynthétiques ;
- La nature des polyholosides de réserve ;
- La nature des polyholosides de soutien.

I.2.2. Les critères morphocytologiques

- Le type de flagelle ;
- Certains détails de la structure cellulaire.

D'après ces critères, la pigmentation est le critère principal qui classe les algues en quatre groupes (Naghraoui, 2014).

Tableau 1:Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Géraldine et Céline, 2009).

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments	Habitat
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500 d'espèces	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotènes	Eau douce, saumâtre, salée et terrestre
Phéophytes (Plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a,c) Xanthophylles Carotènes	Eau salée et saumâtre
Rhodophytes (Plantes)	Algues rouges	390 d'espèces	Chlorophylle (a rarement d) Xanthophylles, Carotènes, Zéaxanthine, Phycocyanine Phycoérythrine	Eau douce, saumâtre et salée
Cyanophytes (Procaryotes)	Cyanobactéries algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a), Allophycocyanines, Phycocyanine, Phycoérythrine, Phycoérythrocyanine	Eau riche en minéraux

I.3. Le mode de reproduction des algues brunes

Les algues brunes se sont généralement pluricellulaires, de dimensions très variables. La majorité de ces algues vivent en milieu marin et présentent une couleur brunâtre résultant de l'association de pigments dominants, à savoir la xanthophylle et la fucoxanthine (Guillaume, 2010). Les caractéristiques principales de ces algues, indépendamment de leur abondance de caroténoïdes, xanthophylle et le stockage des produits photosynthétiques excessifs sous forme de laminaran et de mannitol (Kumar et Singh, 1979, Wiencke *et al*, 2007). Les parois des cellules sont riches en un polysaccharide particulier, l'acide alginique, présent sous forme d'alginate.

Le paranoïde (corpuscule continu dans le plaste et impliqué dans la photosynthèse). L'amidon est toujours absent chez les phéophycées. Chaque algue brune est male, femelle, ou hermaphrodite. Leur cycle peut comporter une ou deux générations (Nabors, 2009).

Il existe fondamentalement deux types de reproduction chez les algues brunes : la reproduction sexuée et la reproduction asexuée.

I.3.1. La reproduction sexuée

La reproduction sexuée fait intervenir la reproduction des gamètes mâles (anthéridies) et des gamètes femelles (oogones) qui fusionnent pour donner la naissance d'un œuf fécondé (ou zygote) diploïde (Prescott *et al*, 2009). Chaque anthéridie libère un seul anthérozoïde et chaque oogone contient une seule oosphère. L'oosphère fécondée reste fixée au gamétophyte femelle et se développe en un nouveau sporophyte. Chez plusieurs espèces d'algues brunes, les gamètes mâles sont attirés par des substances libérées par les gamètes femelles (Figure 1) (Faller, 2011).

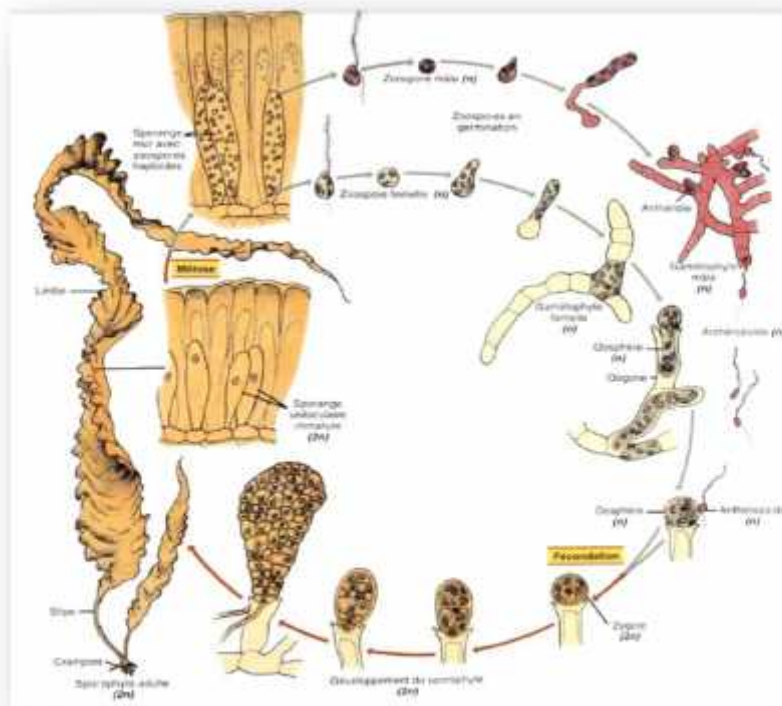


Figure1 : Cycle de reproduction sexuée d'une algue brune (Faller, 2011).

I .3.2. La reproduction asexuée

La reproduction asexuée basée sur deux types : la fragmentation (multiplication végétative) et les spores.

La fragmentation : Le thalle se détache et chaque partie repousse pour former un nouveau thalle.

Les spores : Certaines sont issues d'une réduction chromatique où méiose ; on les qualifie souvent de spores méiotiques, où méiospores. D'autres ne sont pas méiotique ; elles sont souvent qualifiées de spores directes peuvent être formées dans les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporganes qui donnent deux types des spores, spores mobiles, flagellées sont appelées zoospores ou des spores non mobiles, formées dans des sporganes, sont appelés aplanospores (Prescott *et al*, 2003).

Dans la majorité des cas, la descendance d'un individu comporte une succession de générations alternativement gaméto-et sporophytiques, à cette succession correspond une alternance de phases nucléaires haploïdes et diploïdes (Boudoresque *et al*, 2006) .

I.4.Composition biochimique des algues

La composition biochimique des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance, stress...etc. (Julie, 2010). Elles se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage de glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes (Tableau 2).

Tableau 2 : Analyse globale moyenne des algues en générale (Donadieu, 1985).

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

I.4.1. Matières minérales

Les contenus des algues sont dépend de plusieurs facteurs environnementales, physiologique et géographique, les compositions minérales des algues présentent une valeur très importants par rapport les plantes terrestre et les animaux (Ambreen *et al* ; 2012), Parmi les nous citons : le magnésium, le cuivre, le potassium, le chlore, soufre, le calcium, le phosphore (Viguerie *et al* ,2002 ; Balbo *et al*, 2013).

I.4.2.Matières organiques

I.4.2.1 Les caroténoïdes

Toutes les macroalgues contiennent des caroténoïdes qui sont des pigments liposolubles composés d'unités isoprènes. Ceux sont de puissants antioxydants. Ils représentent en moyenne 0,1% du poids sec des algues brunes qui sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine, xanthophylles (violaxanthine) et -carotène (Yanetal, 1999).

I.4.2.2 Les polysaccharides

Les algues riches en polysaccharides très particuliers : les alginates, les agars, les carraghénanes, les ulvanes, les fucoidiens et les phycocolloïdes qui sont présentés de 18 à 45%de la masse sèche. Les Polysaccharides sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et d'autres branches de l'industrie. Ce sont devenus une source importante des composés naturels bioactifs (Cumashi *et al*, 2007; Amorim, 2012).

I.4.2.3 Les polyphénols

La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelés phlorotannins. Les phlorotannins sont des composés phénoliques constitués par la polymérisation du phloroglucinol ou défini en tant qu'unité du monomère 1,3,5-trihydroxybenzene et biosynthétisées par la voie d'acétate malonate. Les phlorotannins ont été identifiés à partir de plusieurs familles d'algues brunes, telles que les Alariaceae, les Fucaceae et les Sargassaceae. Les phlorotannins sont les composants fortement hydrophiles avec une large gamme de taille moléculaire entre 126 et 650 kDa (Sathya *et al*, 2013).

Beaucoup d'études ont prouvé que les phlorotannins sont le seul groupe phénolique détecté en algues brunes et peuvent constituer jusqu'à 15 % de leurs poids sec (Glombitza et Keusgen, 1995).

I.4.2.4 Les vitamines

La composition vitaminique des algues brunes est avec des teneurs intéressantes par rapport les algues rouges et les algues vertes, malgré les variations saisonnières. Le tocophérol présente la valeur la plus élevé (Balboa, 2013).

I.4.2.5 Les protéines

Récemment les peptides marins ont ouvert une nouvelle perspective dans le développement pharmaceutique. Les protéines biologiquement actifs ont été isolés non seulement dans les animaux marins, mais également dans les algues (Wijesinghe et Jeon, 2012).

La teneur en protéines des algues brunes est considérablement faible (6–13%), l'extraction de ces dernières est difficile en présence des polysaccharides dans les cloisons cellulaires, tels que des alginates (Balboa *et al.*, 2013).

I.4.2.6 Les stérols

Le stérol le plus dominante est le fucostérol, bien reconnu pour plusieurs activités biologiques bénéfiques pour la santé, tels que, réduction du cholestérol, et des activités antidiabétiques (Figure 2). En outre, le fucostérol augmente l'activité de piégeage des radicaux libres par les enzymes, tels que le superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. En plus, le saringosterol, un dérivé du fucostérol, découvert en plusieurs algues brunes (Phéophyceae), tels que les *sonianigrescens* et *Sargassumringgoldianum*, a montré un pouvoir inhibiteur de croissance de *Mycobacteriumtuberculosis*(Li et Kim, 2011).

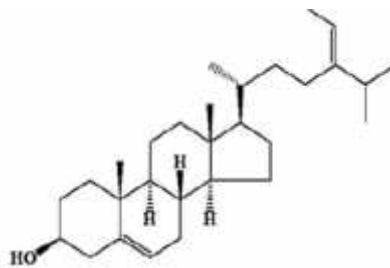


Figure2 : Structure du fucosterol (Li et Kim, 2011).

I.4.2.7 Les acides gras polyinsaturés (AGPI)

Les lipides des algues brunes sont présentés à des teneurs basses (Burton, 2003) à l'exception des phospholipides et des glycolipides, qui sont les principales classes de lipides présents dans les algues. Lorsque la température de l'environnement diminue, les algues peuvent accumuler des acides gras polyinsaturés (AGPI). AGPI à chaîne longue (LC-PUFA) font partie de l'entretien de la santé de l'homme et ils ne sont synthétisés que par les plantes. Ces lipides sont constitués d'au moins 20 atomes de carbone avec au moins deux doubles

liaisons. La molécule de lipide est désignée comme les oméga-3 (n-3LC-PUFA) (Chojnacka, 2012).

II. Présentation de l'algue marine brune *Cystoseira tamarixifolia* étudiée

II.1. Description, biologie et écologie de l'algue

II.1.1. Synonymies

Fucus ericoides, *Cystoseira ericoides*, *Cystoseira selaginoides*, *Fucus selaginoides*, *Fucus tamariscifolius*.

II.1.2. Description

C'est une algue robuste de 10 à 50 cm, de couleur vert olive, iridescente dans l'eau, produisant une sensation rude au toucher. Le thalle cylindrique est fixé par un disque très solide et comprend un axe principal dont les ramifications portent de nombreux rameaux secondaires plusieurs fois divisés et recouverts de petits ramules épineux appelés "feuilles" et réceptacle (Figure 3). Ce dernier est renfermé les conceptacles qui sont des cavités sphériques inclus les zoospores et les anthérides (Boudouresque et al, 2006).

Elle présente une période de repos l'hiver, elle est alors rude au toucher et réduite (A) (Figure 3). Dès le printemps, elle croît et peut présenter des ramules non feuillés (B) et souples, elle est beaucoup moins rude au toucher. Par la suite elle devient très touffue (C) (Figure 3) (Ainane, 2011).

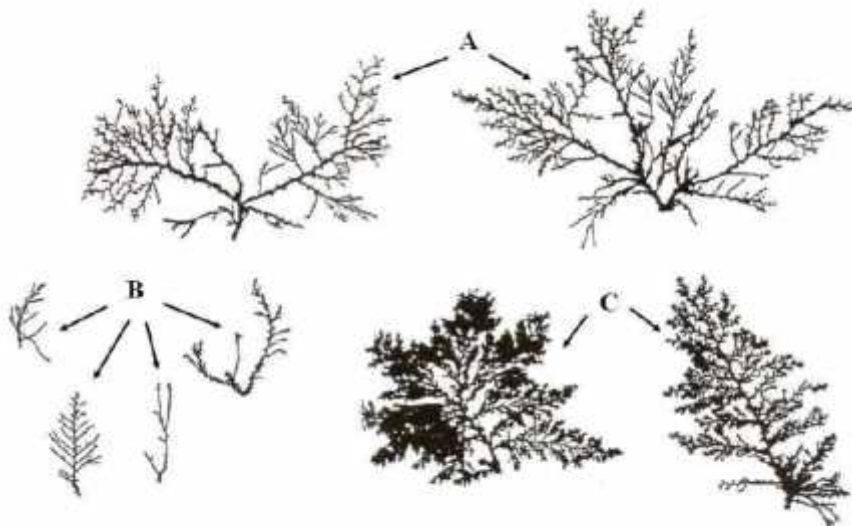


Figure 3 : Représentation schématique de *Cystoseira tamariscifolia* (Ainane, 2011).

II.1.3 Position systématique

II.1.3.1 Le genre *Cystoseira*

Le genre comprend 51 espèces (Robvieux, 2013), ce sont des algues brunes qui sont présentées par des grandes variations morphologiques et un type commun pouvant être défini par: une base de fixation; un axe principal portant de nombreux rameaux primaires, secondaire et tertiaires (Coll et al, 2010); portant des différenciations végétatives particulières (épines, "feuilles", tophules) et des organes de reproduction (réceptacles), Les unes sont localisées près du niveau des basses mers ou dans les cuvettes littorales, d'autres au contraire ne s'observent qu'en profondeur (Boudouresque et Perret, 1977).). Les espèces de ce genre sont buissonnantes, très ramifiées, arborescentes, très touffues, souvent de grand taille (30cm à 1m ou 2m) (Abdeldjelil, 2014).

II.1.3.2. Taxonomie d'espèce *cystoseira tamarixifolia*

Classe : *Phéophycophyte*

Ordre : *Fucale*

Famille : *Cystoseiraceae*

Genre : *Cystoseira*

Espèce : *Cystoseira tamariscifolia*

II.1.4. La reproduction

Les espèces de genre *cystoseira*, présente un cycle de vie monogénitiquediplobiontiqueest caractérisé par une réduction extrême du gamétophyte. Seule persiste une génération diploïde (sporophyte) qui héberge un gamétophyte inclus et réduit, producteur de gamètes tel est le cas des fucales (Figure 4) (Robvieux, 2013). Les conceptacles, cavités spécialisées, sont les lieux de formation des gamétanges. On les trouve dans des réceptacles au niveau des extrémités des rameaux. Les réceptacles des pieds mâles sont recouverts d'une gelée orange (anthérozoïde) tandis que ceux des pieds femelles sont de couleur vert olive (oosphère).

Lorsque la marée monte, toutes ces cellules sont libérées dans l'eau. Les oosphères émettent des phéromones pour attirer les anthérozoïdes qui les fécondent. Il en résulte un œuf qui tombe et se fixe sur n'importe quel support. En germant il donnera naissance à un nouveau Fucus mâle ou femelle (Faller, 2011).

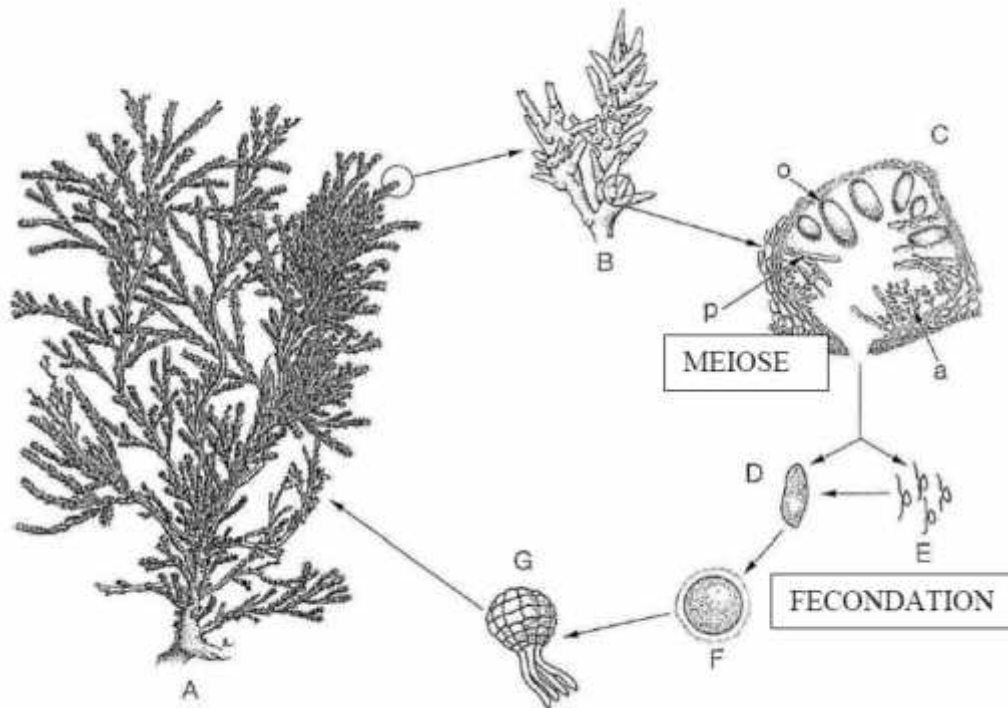


Figure 4 : Schéma du cycle de vie des espèces du genre *Cystoseira*. A-individu mature, B- extrémité d'une ramification avec des conceptacles, C-conceptacle en coupe transversale, D- gamètes femelle, E-gamètes mâle, F-zygote et G-zygote avec rhizoïdes (Robvieux, 2013).

II.2. Répartitions géographique des espèces du genre *Cystoseira*

Les différents taxons du genre *Cystoseira* se développent principalement dans toute la Méditerranée. Certains se développent aussi dans le proche Atlantique. Seize taxons présents en Méditerranée, sont aussi présents dans d'autres mers et océans du monde. Cependant, certaines localisations sont douteuses pour certains taxons (Robvieux, 2013).

II.3. Etudes chimique antérieures des algues brunes de la famille des Cystoseiracées

La famille des Cystoseiracées se compose de plusieurs genres dont certains ont des distributions très limitées (*Acystis*, *Bifurcariopsis*, *Stolonophora*....) ou sont présentes seulement sur le continent australien par exemple (*Acrocarpia*, *Carpoglossum*, *Caulocystis*...) par contre d'autres sont largement répandus (*Bifurcaria*, *Cystoseira*, *Halidrys*....). Parmi ces derniers, la famille Cystoseiracée a fait l'objet de plusieurs études chimiques qui ont débuté vers les années 70. Ces études ont abouti à la découverte de plusieurs nouvelles molécules (Ainane, 2011).

D'un point de vue chimique, les algues brunes sont caractérisées généralement, par la présence d'un pourcentage (en masse) modéré de stérols et de composés terpéniques. Ces derniers peuvent être regroupés en deux classes : les terpènes "sensu stricto" et les terpènes à biogénèse mixte dits "méroditerpènes" qui comprennent un noyau méthylhydroquinonique sur lequel est fixé un enchaînement diterpénique. Chaque classe peut être subdivisée en plusieurs groupes : chez les diterpènes, on distingue les linéaires et les cyclisés, chez les méroditerpènes, ce sont les linéaires, les monocyclisés, les bicyclisés et les réarrangés.

Notons que les algues brunes contrairement aux algues rouges ne contiennent pas de structure terpénique halogénée (chlore, brome ou iode) car elles sont dépourvues de l'enzyme responsable des réactions d'halogénéation : l'haloperoxydase (Ainane, 2011).

II.4. Activités biologiques de l'algue *Cystoseira*

Plusieurs travaux ont montré que les extraits organiques de l'algue marine du genre *Cystoseira* sont capables de piéger des radicaux libres. Cette activité antioxydante est due à la richesse de cette algue brune en polyphénols en particulier les phlorotanins et les méroditerpénoides (de los Reyes et al, 2015 ; Sathya et al, 2013 ; Berber et al, 2015).

Vizetto-Duarte et al. (2016) ont montré que les caroténoïdes de *Cystoseira tamariscifolia* ont un effet cytotoxique et sont capables de provoquer l'apoptose des cellules tumorales hépatiques.

L'algue marine *Cystoseira* a également d'autres activités biologiques tels que des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Berber et al, 2015 ; de los Reyes et al, 2015 ; Ainane, 2011).

I. Matériels

I.1. Site d'échantillonnage et récolte du matériel végétale

L'échantillon d'algue marine étudiée *Cystoseira tamarixifolia* a été récoltée en mois de Mars 2016 sur la côte rocheuses de la plage salamandre (position GPS 35°55'04.49 N ; 0°03446.80 E) située à environ 3 km de la wilaya de Mostaganem (Photo 1). Les prélèvements ont été faits à marée basse (0,5 à 1 mètre de profondeur). L'échantillon est transporté au laboratoire dans des sacs en polyéthylène. La photographie de l'espèce d'algue marine brune *Cystoseira tamarixifolia* récoltée est présentée dans la photo 2.



Photo 1 : Station de la récolte de l'algue marine brune *Cystoseira tamarixifolia* (Wilaya de Mostaganem ; Salamandre) (Google maps, 2016).



Photo 2 : Photo de l'algue marine brune *Cystoseira tamarixifolia* à l'état frais (Khich et Ben tireche, 2016).

I.2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes et fongiques utilisées dans cette étude sont représentées dans le Tableau (3). Leur croissance est réalisée à 37°C sur gélose Mueller-Hinton Agar (MHA bio Mérieux) pour les souches bactériennes et en milieu PDA à 27°C pour la souche fongique (voir Annexes).

Tableau 3 : Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.

Bactérie	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 25921	LAPRONA
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341	MNHN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	MNHN
<i>Klebsiella pneumonia</i>		IBMC Strasbourg	MNHN
Champignons			Origine
<i>Fusarium culuorum</i>			LBUL
<i>Fusarium graminearum</i>			

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris) ; **LAPRONA :** Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen) ; **ATCC :** American Type Culture Collection ; **IBMC :** Institut de biologie moléculaire et cellulaire ; **LBUL :** Laboratoire de Biologie de l'Université de Laghouat.

I.3. Produits chimiques et milieux de cultures

Les principaux produits chimiques utilisés dans cette études sont : méthanol, éthanol, DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$, chlorure de fer ($FeCl_3$), K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , acide trichloracétique, acide hydrochlorique(HCl), iodate de potassium(KI), iode(I_2), acide sulfurique(H_2SO_4), NaOH,acide gallique, carbonate de sodium(Na_2CO_3), Folin Ciocalteu, $HgCl_2$, liqueur de Fehling, ninhydrine, nitrite de sodium, $AlCl_3$, acide acétique anhydride, quercétine, acide L-ascorbique (AA),hydroxyanisole de butyle(BHA),et le 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylique acide(Trolox).

Le milieu Muller-Hinton Agar et le milieu PDA (potatos dextrose Agar) sont utilisés pour la culture des bactéries et des champignons testés. Leur composition chimique est indiquée dans l'annexe.

II. Méthodes

II.1. Broyage et préparation d'extrait

Après séchage à température ambiante (30°C) et à l'abri de la lumière, l'algue brune *Cystoseira* est broyée à l'aide d'un mortier (Photo 3).



Photo 3 : l'algue brune *Cystoseira tamarixifolia* sèche après broyage.

10 g de poudre d'algue sont introduit dans un flacon en verre contenant 100 ml de méthanol absolu (99%). Après une macération de 24 heures sous agitation à température ambiante, Le macéra obtenu est filtré trois fois à l'aide du papier filtre puis évaporés à sec sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un Rotavapeur. Le résidus sec obtenu est solubilisé dans du méthanol pur pour une concentration finale de 200 g/l. La solution obtenue mise dans un tube en verre vissé qui est conservé à 4°C pour être utilisé ultérieurement.

Le rendement d'extraction est déterminé par rapport de la poudre initiale de l'extrait en appliquant la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P2 - P1}{P0} \cdot 100$$

Avec :

P1 : poids du ballon vide.

P2 : poids du ballon après l'évaporation du méthanol.

P0 : poids initial de la poudre algale (10 g).

II.2. Tests phytochimiques

Des tests phytochimiques ont été effectués sur l'extrait d'algue *Cystoseira tamarixifolia* pour détecter l'existence des différents composés selon le changement de coloration et la réaction de précipitation.

II.2.1. Les phénols

Pour 2ml de l'extrait dilué ; on ajout 1.980ml d'eau distillée et 100 µl FeCl₃ (10%). La présence des phénols est indiquée par l'apparition de couleur bleu ou vert (Kuppusamy et *al.*, 2014).

II.2.2. Les alcaloïdes

Deux réactifs sont utilisés : 100 µl réactif de Mayer et 200µl réactif de Wagner qui sont préparés :

- Réactif de Mayer : 0.5g de KI et 0.1358g de HgCl₂ solubilisés dans 10 ml d'eau distillée.
- Réactif de Wagner : 0.28g de KI et 0.127g d'I₂ solubilisés dans 10 ml d'eau distillée. L'apparition d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

II.2.3. Les flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 50 µl d'extrait dilué par 1.950ml de méthanol avec 1 ml d'HCl (1%) et 100 µl de NaOH. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une coloration jaune (Palaniselvam et *al.*, 2014)

II.2. 4. Les tanins

2ml de l'extrait diluée (50µl d'extrait + 1.95 ml méthanol) avec100 µl de FeCl₃ (1%).l'apparition d'une coloration bleu-noire (tanins galliques), brune verdâtre (taninscathéchiques) (Trease et Evans, 1987).

II.2. 5. Les composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 200µld'extrait, 2.8ml d'eau distillée et 2ml liqueur de Fehling (1ml solution A+1ml solution B), puis chauffer dans le bain marie. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Trease et Evans, 1987).

II.2.6. Les acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine.50 µl d'extrait diluée, 1ml ninhydrine (0.1%) préparée dans l'éthanol. Le mélange est Chauffé dans le bain marie. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (Harbone, 1998).

II.2.7. Les saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml d'extrait diluée, puis la solution est fortement agitée. Ensuite le mélange est abandonné pendant 20 min.

La teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (Trease et Evans, 1987).

II.2.8. Les glucosides cardiotoniques

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 1ml d'extrait, 2ml acide acétique glacial, 100µl de FeCl₃ (5%) et 1ml d'acide sulfurique. La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une sous forme d'un anneau colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

II.2.9. Les anthocyanes

2 ml d'extrait est ajouté à 2 ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose - rouge qui vire au bleu violacé par addition 100 µl d'ammoniac indique la présence des anthocyanes (Debray *et al*, 1971 ; Paris *et al*, 1969).

II.2.10. Mise en évidences des stérols et triterpènes

Les stérols et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. 5 ml d'extrait a été évaporé sur bain marie. Le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interphase, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive.

II.3. Dosage des composés phénoliques

II.3.1. Principe de dosage

La teneur en polyphénols totaux des extraits des plantes qui font l'objet d'analyser a été déterminée par la méthode de Singleton et Rossi (1965). Son principe repose sur le fait que les ions phénolates formés par addition de carbonate de sodium à la solution d'extrait sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu (Kudaet *al*, 2005). Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation par les groupements hydroxyles des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, et comme résultat l'apparition d'une couleur bleuâtre, dont l'intensité reflète la concentration en polyphénols totaux dans les extraits (Ribéreau-Gayon, 1972 ; Vermerris et Nicholson, 2006).

II.3.2. Protocole expérimentale

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par Waterhouse (2001). Un volume de 40 µl l'échantillon convenablement dilué, est introduit dans un tube à essai contenant initialement 3.16 ml d'eau distillée et 40 µl de méthanol pur. 200 µl du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté avec agitation à l'aide d'un vortex. Après 3 minutes, on ajoute 600 µl de carbonate de sodium (20%) au mélange. puis incubés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à une longueur d'onde 765nm. contre un blanc (le même mélange excepté l'échantillon). Tous les essais sont répétés au moins trois fois. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (Figure 5).

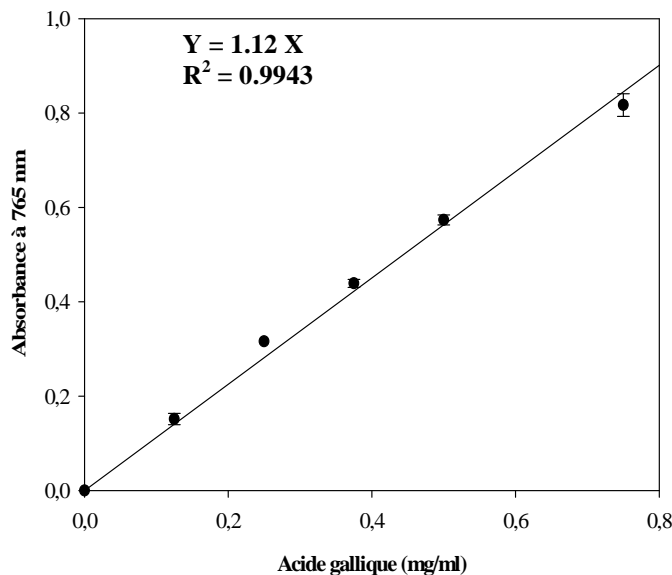


Figure 5 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la plante en poudre, en appliquant la formule suivante :

$$C = \frac{c \times V}{m}$$

C : La teneur en phénols totaux (mg d'acide gallique/g de résidu sec).

c : La concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

V : Volume de l'extrait.

m : Le poids du résidu sec (g).

II.4. Dosage des flavonoïdes

II.4.1. Principe de la méthode

Les flavonoïdes forment un complexe jaunâtre par chélation des métaux (le fer et l'aluminium), en perdant deux électrons il s'unit à deux atomes d'oxygène du composé phénolique qui est dans ce cas donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon, 1968**). L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits est déterminée par la méthode de Bahorun et al (1996).

II.4.2. Protocole expérimentale

La teneur totale en flavonoïde des extraits est mesurée selon la méthode spectrophotométrique décrite par (Kim et al, 2003). 50 µl de l'extrait convenablement diluée sont ajoutés à 450 µl d'eau distillée, 150 µl de la solution de nitrite de sodium (5%) suivie par l'addition de 300 µl de chlorure d'aluminium (10%). Les tubes à essai sont incubés à 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 laquercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de résidu sec (Figure 6).

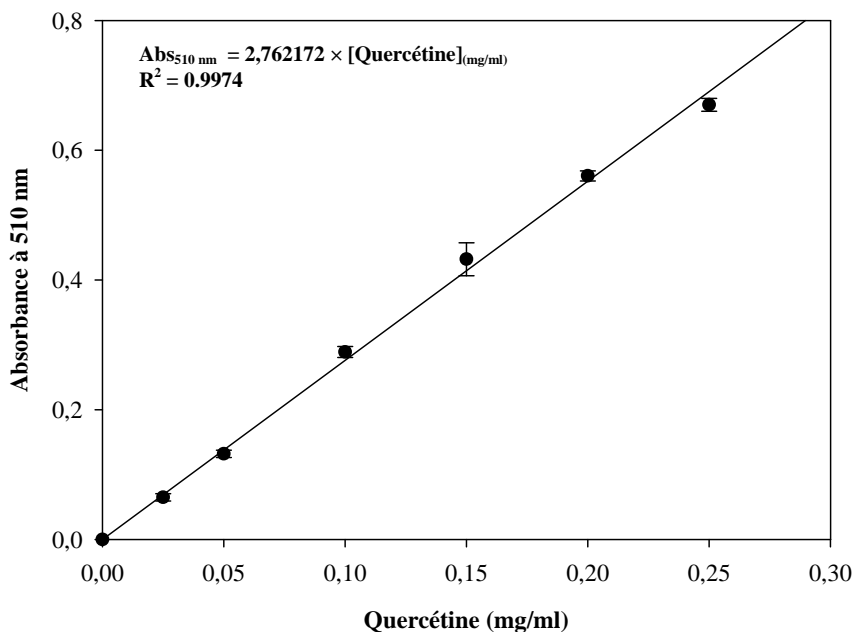


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de quercétine (mg/ml) pour le dosage des flavonoïdes.

II.5. Dosage des caroténoïdes

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

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

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

$$\text{Caroténoïde totaux (mg/ml)} = 1000 A_{470} - 2,860 C_a - 129,2 C_b/245$$

II.6. Evaluation de l'activité antioxydante d'extrait méthanolique d'algue *Cystoseira tamarixifolia*

II.6.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

Principe : Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire (Figure 7), entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). La réaction primaire est :

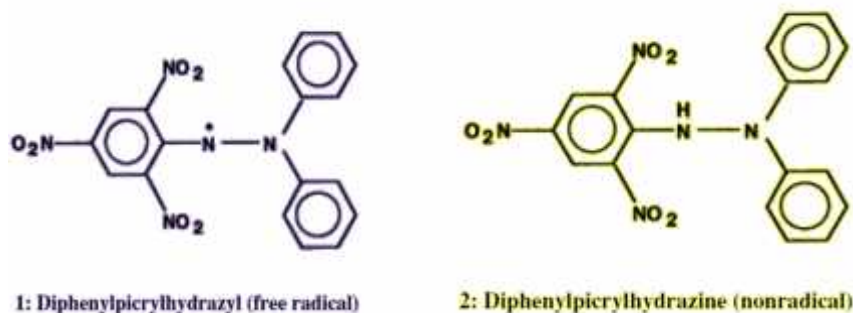


Figure 7 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Kouamé et al, 2009).

Mode opératoire : Un volume de 100 µl d'extrait à différentes concentrations est ajouté à 2,9 ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée. Avec un contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 100 µl du méthanol avec 2,9 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Brand et al, 1995). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le résultat du pouvoir antiradicalaire, de l'extrait méthanolique d'algues marine étudiée, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH qui calculer par la formule :

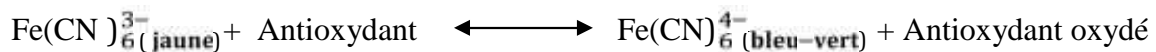
$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{Abs_C - Abs_E}{Abs_C} \times 100$$

Abs_C: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait ;

Abs_E: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait (Djeridane, 2006).

II.6.2. Test de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Principe: La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe³⁺) à la couleur bleue - vert du fer ferreux(Fe²⁺). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.



Protocole expérimental : 50 µl d'extrait de différentes concentrations ont été ajoutés dans un mélange de 1 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1% et 1 ml d'une solution tampon phosphate à 1 M (pH= 6). Après incubation des tubes dans le bain marie à 50°C pendant 20 min, 1 ml d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés afin d'arrêter la réaction. 1 ml de cette solution a été ajouté à 1 ml d'eau distillée et 0.2 ml d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃) à 0.1%. L'absorbance des différents échantillons est lue à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 700 nm contre un blanc. L'acide ascorbique est utilisé comme standard.

II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamarixifolia*

II.7.1. Activité antibactérienne

Afin de mettre en évidence l'effet antibactérien *in vitro* d'extrait méthanolique d'algue *Cystoseira tamarixifolia*, nous avons choisi la méthode de diffusion des disques et des puits sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.

six souches bactériennes ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi-résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme comme méningites et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques.

II.7.1.1. Préparation des précultures

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant du milieu Müeller-Hinton Agar. Après 24 heures d'incubation à 37°C, quelques colonies sont transférées à l'aide d'une anse de platine dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à une densité optique comprise entre 0.08 à 0.10 mesurée à 620 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

II.7.1.2. Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée quatre fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Deux méthodes ont été employées pour évaluer l'effet antibactérien d'extrait méthanolique d'algue *Cystoseira tamarixifolia*.

Méthode des disques : Des disques de papier filtre stérilisés de 6 mm de diamètre, imprégnés de 10 µl d'extrait, sont déposés à la surface d'un milieu de Mueller-Hinton coulé en boîtes de Pétri, préalablement ensemencées en surface avec une suspension de la bactérie. Après incubation de 24h à 37 °C, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al*, 2006). Les tests ont été répétés deux fois, des disques imprégnés dans le méthanol sont aussi utilisés (témoins négatifs).

Méthode des puits : La méthode consiste à découper un trou circulaire de 6 millimètres de diamètre dans la gélose et y verser (25 µl) d'extrait de concentration 200g/l qui diffuse radialement ; en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (Eymard, 2003).

Pour les deux méthodes on fait un témoin méthanol (témoins négatifs) pour avoir leur effet sur les souches bactériennes et aussi chaque expérience est répétée deux fois, dans les mêmes conditions.

II.7.2. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique de l'extrait méthanolique de *Cystoseira* est déterminée sur deux souches fongiques phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium* : *Fusariumculuorum* et *Fusarium graminearum*.

II.7.2.1. La pré-culture des champignons

Selon (Colin *et al*, 1989) pour ensemercer les milieux de culture solides, nous avons transféré un disque de PDA contenant du mycélium sur un nouveau milieu PDA, préparée au préalable. Les boîtes de pétriensemencées sont incubées dans une étuve réglée à 27°C durant 4 à5 jours.

II.7.2.2. Etude de l'activité antifongique

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antifongique vis-à-vis de l'extrait algal de *Cystoseira tamariscifolia* et la nystatine.

Le milieu de culture PDA est coulé dans des boîtes pétri 90 mm de diamètre, après solidification de la gélose, On met une nappe de 200 µl d'extrait algale à différentes concentrations par écouvillonnage. En suite à l'aide d'une pipette pasteur stérile nous avons déposé à la surface gélosique un disque de l'inoculum prélevé d'une culture âgée de 5 jours au centre de la boîte Pétri. La méthode est répétée deux fois pour chaque souche fongique.

200µl de méthanol pur est utilisé comme témoin négatif et la nystatine à 10 µg comme témoin positif. L'ensemble des boîtes de pétri sont incubées pendant 5 jours à 27°C.

II.8. Analyses des données

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± écart type (n=2). Les courbes d'étalonnages et les activités antioxydantes de l'extrait méthanolique d'algue marine et les antioxydants standards sont effectuées à l'aide du logiciel SigmaPlot (SigmaPlot for Windows Version 11.0, Copyright 2008 Systat Software, Inc.).

I. Rendement d'extraction

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur activités biologiques diverses en particulier leur propriétés antioxydants et antimicrobiennes. Beaucoup d'études ont montré l'influence des différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction des composés phénoliques d'origine végétale, tels que le temps et la température d'extraction, le pH, la composition chimique des échantillons et la polarité du solvant (Lopez et *al.*, 2011) qui sont la plus souvent alcoolique (Spignoet *al.*,2007). Le méthanol est un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques et des polyphénols relativement polaires d'origine végétale (Zeng et *al.*, 2012). Pour cela, nous avons utilisés ce solvant pour la préparation d'extrait de l'alguebrune *Cystoseira tamariscifolia* afin de déterminer ses activités antioxydants et antimicrobiennes.

Un rendement d'extraction d'environ 4.7% a été obtenu avec le méthanol comme solvant d'extraction. Nos résultat est relativement similaire par rapport à ceux trouvé par Ainane (2011) et Saidani (2010) qui ont trouvé respectivement des rendements d'extraction de 5.67% et 6.76% pour l'algue *Cystoseira tamariscifolia*.

II. Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles des composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait méthanolique d'algue brune *Cystoseira tamarixifolia* par l'utilisation des réactifs spécifiques pour la révélation des différents composés. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques sont mentionnés dans le Tableau (4).

Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques sur l'extrait d'algue *cystoseira tamarixifolia*.

Les différents composés	Résultat
Phénols	++
Flavonoïdes	++
Alcaloïdes	+
Tanins :	
Tanins galliques	-
Tanins catéchiques	+
Saponosides	+
Composée réducteur	+++
Acides Aminés	+
Stérols et tri terpènes	++
Anthocyanes	-
Hétérosides cardiotoniques	++

- : Test négatif ; + : Test faiblement positif ; ++ : Test positif ; +++ : Test fortement positif.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de cette algue contient principalement les phénols, les flavonoïdes, les stérols, les terpènes, les hétérosides cardiotoniques et les composés réducteurs. Les alcaloïdes, les tanins catéchiques, les saponosides et les acides aminés existent mais en faible teneur. Une absence totale est notée pour les anthocyanes et les gallotanins.

No résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature. Certains auteurs confirment que les algues brune de la famille des Cystoseiracées sont riches en diterpènes en particulier le geranylgeraniol et des composés aromatiques tel que le phloroglucinol (Fenical, 1982 ; Valls et al ; 1993 ; Stiger-Pouvreau et al, 2014). Selon Heo et al. (2005), les espèces d'algues marines contiennent plusieurs composés phytochimiques tels que les flavonoïdes, les terpènes et les composés phénoliques.

III. Dosage des principaux constituants phytochimiques : polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes

Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en caroténoïdes de l'extrait méthanolique de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* ainsi déterminées sont respectivement : 99.04 (± 2.09) mg/g EAG, 104.2 \pm 1.8 mg/g EQ et 2552.79 (± 56.67) mg/ml. Nos résultats sont relativement similaires à ceux trouvés par d'autres chercheurs.

Balboa et al. (2012) Ben tireche et Achour(2014) et Berber et al. (2015) ont trouvé que la teneur des polyphénols dans l'extrait méthanolique de l'algue marine *Cystoseira* est comprise entre 87.7 et 111.60 EAG mg/g de résidu sec.

De plus, Guner et *al.* (2015) ont trouvé que le taux des flavonoïdes et des composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira* sont respectivement 0.291 (QE mg/g) et 0.161 (GAE mg/g).

L'extrait algal de *C.tamariscifolia* est plus riche en polyphénols en particulier les phlorotannins et les fucoxanthine qui sont présents exclusivement chez les algues brunes comme *Cystoseira* (Farvin et Jacobsen, 2013 ; Targett et Arnold, 1998 ; Burtin, 2003). Généralement les algues brunes contiennent des quantités élevées de polyphénols par rapport aux algues marines rouges et vertes (KarthikaiDevi et *al.*, 2011).

IV. Evaluation des activités antioxydants et antimicrobiennes

Les algues appartenant à la famille des phéophycées contiennent diverses substances bioactives par rapport aux autres familles d'algues (Al-Amoudi et *al.*, 2009; Costa et *al.*, 2010; Cox et *al.*, 2010; Kang et *al.*, 2004; Kindleysides et *al.*, 2012 ; de los Reyes et *al.*, 2005). Nous avons pu déterminer quelques propriétés biologiques de l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Cystoseira* en particulier les activités antioxydants et antimicrobienne.

IV.1 Activité antioxydant

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante des extraits des végétaux. Les tests DPPH et FRAP sont les plus couramment utilisés vu leur rapidité, fiabilité ainsi que leur faible coût (Senthilkumar et *al.*, 2012).

IV.1.1 Test du radical DPPH

L'activité antioxydant et antiradicalaire de l'extrait méthanolique d'algue marine brune *Cystoseira* a été mesurée vis-à-vis du radical DPPH par la méthode spectrométrique à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Nos résultats montrent que l'extrait algal est capable de piéger le radical DPPH qui se traduit par la disparition significative de la couleur violette de la solution du DPPH surtout en présence des concentrations élevées d'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira* (Photo 4).



Photo 4: Les résultats après 30 min d'incubation du radical DPPH en présence de l'extrait d'algue *Cystoseira tamarixifolia* à différentes concentrations.

La Figure (8) montre les pourcentages de piégeage du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait méthanolique d'algue étudié, où on constate que le taux d'inhibition du DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait d'algue *cystoseira tamarixifolia* de manière concentration-dépendante (Jayaprakasha et Bhimanagouda, 2007 ; Glavind et Holmer, 1967).

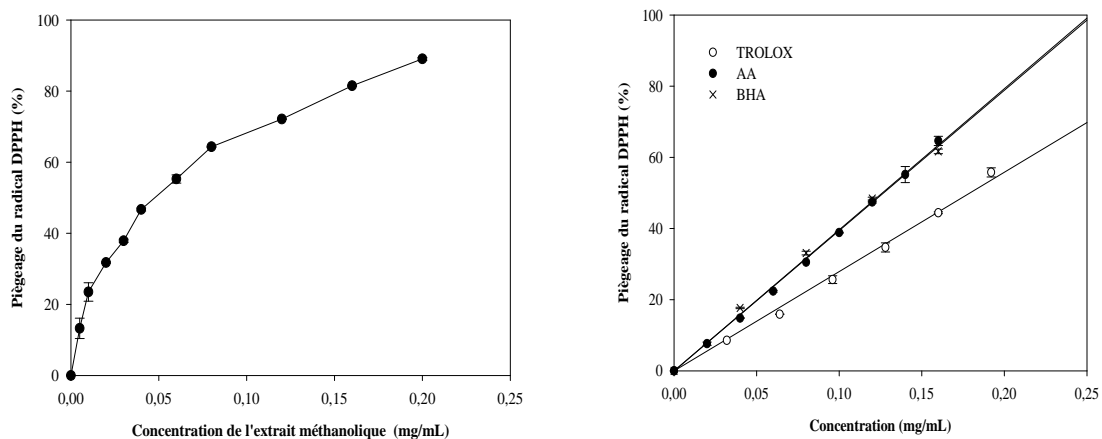


Figure 8 : Présentations graphiques des pourcentages d'inhibition du DPPH résiduel en fonction de la concentration de l'extrait d'algue brune *Cystoseira* et des antioxydants standards.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydant d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique) (Popovici, 2009).

Les valeurs de l'EC₅₀ de l'extrait des antioxydants standards ainsi déterminées à partir des graphes sont regroupées dans le Tableau (5).

Tableau 5: Les valeurs d'EC₅₀ des activités antioxydants de l'extrait méthanolique d'algue brune *Cystoseira tamiscifolia*.

	DPPH (EC ₅₀ ; mg/mL) ^a	Test Ferricyanure/bleu de Prusse (EC ₅₀ ; mg/mL) ^b
<i>Cystoseira tamiscifolia</i> ^a	0.048±0.001 [*]	0.31±0.01
AA	0.12±0.00	0.034±0.00
BHA	0.12±0.00	0.083±0.00
TROLOX	0.17±0.00	0.12±0.00

^aAA : Acide ascorbique, TROLOX : 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylique acidE; BHA : hydroxyanisole de butyle.

^bValeur EC₅₀: la concentration effective pour laquelle l'activité antioxydant 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).

La concentration de DPPH de 50%, Une faible EC₅₀ indique l'activité antioxydant la plus élevée (Do et al., 2013). De ce fait l'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira* à le pouvoir antiradicalaire le plus puissant (IC₅₀ = 0.048 mg/ml) par rapport aux antioxydants testés. Par conséquent, l'extrait méthanolique de cette algue est très riche en antioxydants.

La variation des capacités antioxydantes entre les extraits d'algues marines peut être attribuée par les différentes composition chimiques en polyphénols (phlorotanins, phloroglucinol, et fucoxanthine), en vitamines (A, C et B), et en polysaccharides sulfatés (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).

Nos résultats sont en accords par rapport aux travaux de Ben tireche et Achour (2014). Ces auteurs ont trouvé que l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamariscifolia* représente l'extrait algal le plus actif sur le radical DPPH avec une valeur IC₅₀ de 0.0373 mg/ml.

L'extrait méthanolique d'algue marine brune *Cytoseira tamariscifolia* à un pouvoir antiradicalaire sur le DPPH plus élevé par rapport aux extraits d'algue marines brunes *Cystoseira compressa* ($IC_{50} = 15.94$ mg/mL) (Guner et al, 2013) et *Cytoseira crinita* ($IC_{50} = 35.46$ mg/mL) (Berber et al., 2015).

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 en particulier.

IV.1.2 Test de FRAP

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Cytoseira* est étudiée par la méthode FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible.

La présence des réductants dans l'extrait algal provoque la réduction de fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Par conséquent, la quantité du Fe^{2+} peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu de Prusse du Perl dans le milieu réactionnel à 700 nm (Photo 5) (Do et al., 2013).



Photo 5 : Les résultats de tests FRAP en présence de l'extrait à différentes concentrations.

D'après nos résultats, on constate que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées d'extrait méthanolique d'algue *Cystoseira* (Figure 9).

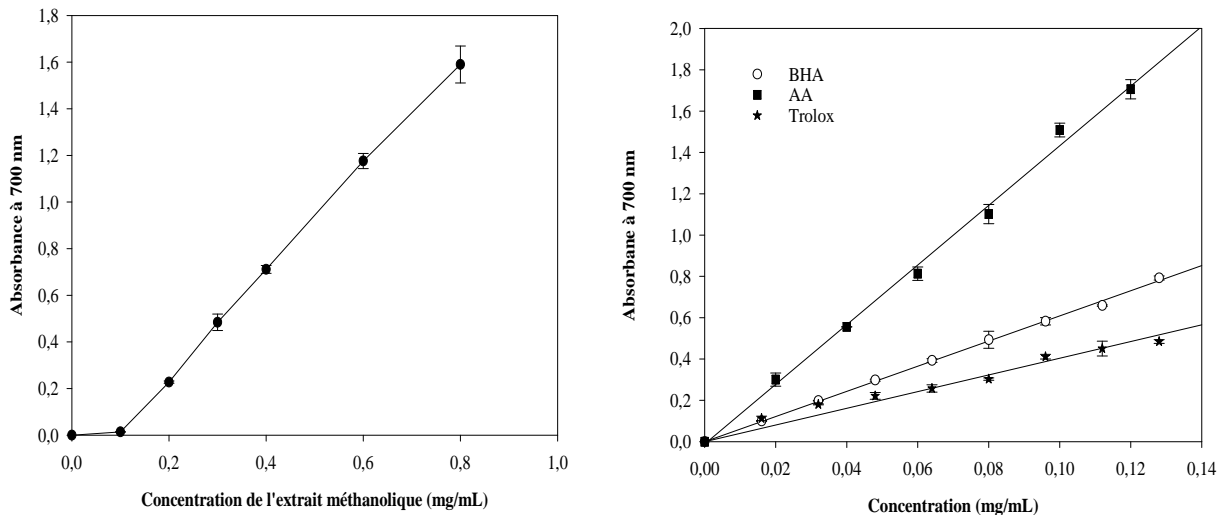


Figure 9 : Résultats de la mesure de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Cystoseira tamariscifolia* et des antioxydants de synthèse, déterminée par le test FRAP.

Nous avons déterminé la concentration EC_{50} pour l'extrait algal et les antioxydants standards à partir des graphiques de l'absorbance en fonction de leur concentration ceci afin de comparer entre leur l'activité réductrice. Cette valeur correspond à la concentration effective qui cause une augmentation de l'absorbance à 0,5. L'efficacité de réduction de fer est inversement proportionnelle à la valeur EC_{50} (Ben Tireche et Achour, 2014). D'après les valeurs d' EC_{50} indiquées dans le Tableau (5), on remarque aussi que l'AA, le BHA et le TROLOX sont des excellents donneurs d'électron par rapport à l'extrait d'algue *cystoseira tamarixifolia*. L'acide ascorbique a le pouvoir réducteur le plus élevé (EC_{50} 0.034mg/ml).

Le pouvoir réducteur peut être attribué principalement aux composés bioactifs associés à l'activité antioxydant tels que, acide phénolique, flavonoïdes et autres antioxydants hydrophiles et hydrophobes qui sont de bons donneurs d'électrons et peuvent terminer la chaîne de réaction des radicaux libres par conversion des radicaux libres en produits plus stables (Yen et al, 2008).

Selon Devi et *al.* (2011), le pouvoir réducteur de l'extrait d'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* peut être expliqué par la présence des phlorotannins qui sont des chélateurs puissants des métaux lourds.

Plusieurs chercheurs ont montré que les composés phénoliques issus des algues marines ont des activités antioxydantes élevées sur les radicaux libres (Heo et *al.*, 2005; Kang et *al.*, 2005; Shibata et *al.*, 2008).

D'après Takamatsu et *al.* (2003), les algues marines contiennent des molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique et le glutathion ainsi que les métabolites secondaires comprenant les caroténoïdes, les acides aminés, les catéchines et les tocophérols.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux trouvés par Ben tireche et Achour (2014) et Saidani (2010). Ses auteurs ont trouvé respectivement les valeurs EC_{50} de l'extrait méthanolique d'algue *Cystoseira tamariscifolia* déterminé par la méthode FRAP suivantes 2,91 et 45,04 mg/ml. Cette variation du pouvoir réducteur peut être expliquée par la région et la saison de récolte de cette algue marine brune.

IV.2 Activité antimicrobienne

IV.2.1 Activité antibactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien par les produits naturels d'extrait végétal.

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'algue marine *Cystoseira tamarixifolia* a été évaluée par deux méthodes différentes (méthode de puits et méthode de disque) sur la croissance des bactéries pathogènes Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lutus*, *Bacillus cereus*) et Gram-négatif (*Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*). L'ampicilline a été utilisée comme antibiotique standard pour prédire la sensibilité des souches bactériennes. Cette sensibilité est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition autour de ces disques et puits.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de *Cystoseira tamarixifolia* obtenus par la méthode de diffusion sur le milieu Muller-Hinton gélosé sont regroupés dans le Tableau (6). On constate que les bactéries à gram négatif sont un peu plus résistantes par rapport aux bactéries à gram positif (Photo 6).

L'ampicilline semble avoir un faible pouvoir antibactérien sur toutes les bactéries à l'exception de *Staphylococcus aureus* et de *Micrococcus lutus* qui se sont avérées les plus résistantes.

Tableau 6 : Les résultats de l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de l'algue brune *Cystoseira tamascifolia*.

	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
	Gram (-)			Gram (+)		
	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Bc</i>	<i>Sa</i>	<i>Ml</i>
EM (2 mg/Disque)	6.00±0.00	12.35±0.49	11.54±0.48	15.65±1.90	11.35±0.21	10.25±0.21
EM (25 µl_(200 mg/mL)/Puits)	6.00±0.00	16.50±0.14	19.03±0.27	18.53±0.24	17.30±0.70	16.47±0.24
Amp (10 µg/Disque)	10.2±1.83	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	44.00±0.00	55.50±0.70

EM : extrait méthanolique, Amp : ampicilline, Ec : *Escherichia coli*; Kp : *Klebsiellapneumoniae*; Pa : *Pseudomonas aeruginosa*; Sa : *Staphylococcus aureus*; Ml : *Micrococcuslutus*, Bc : *Bacillus cereus*,



Témoin : Méthanol

P. areuginosa

S. aureus

Photo 6 : Les résultats de l'effet de l'extrait méthanolique de *Cystoseira* sur quelques souches bactériennes (Gram+ et Gram-) par les méthodes de diffusion surdisques et sur puits.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par Saidani (2010). Cet auteur montre que l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamascifolia* récoltée de la côte marine de Bejaia (Algérie) donne des zones d'inhibition similaire à notre étude sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonia*, avec des diamètres d'inhibition respectifs 15,67 et 18 mm.

D'après Djenane et al (2012) chaque diamètre (Ø) d'une zone d'inhibition a une signification ; Ø < 8 mm : bactérie non sensible ; 9 < Ø < 14 mm : bactérie sensible ; 15 < Ø < 19 mm : bactérie très sensible et Ø > 20 mm : bactérie extrêmement sensible.

A partir de cette classification et des résultats indiqués dans le Tableau (1), on constate que toutes les bactéries à l'exception d'*Escherichia coli* sont sensibles à l'extrait méthanolique de l'algue brune *Cystoseira*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Younes *et al.* (2009). Ces auteurs ont trouvé que l'extrait dichlorométhane /méthanol (v/v : 50/50) de l'espèce *Cystoseira tamascifolia* récolté de la lagune d'Oualidia (Maroc) a une activité inhibitrice contre les souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* mais ne montre aucune activité sur la bactérie *E.coli*.

Farid *et al.* (2009) ont observé que les extraits d'algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Cystoseira humilis* récolté de la lagune d'Oualidia (Maroc) ont un effet inhibiteur sur la croissance de *S. aureus* et *B. cereus* tandis que *E. coli* est résistante à l'action de ses deux extraits.

Chbani *et al.* (2011) ont rapporté que l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Padinapavonica* de la côte méditerranéenne au Liban n'as aucun effet antibactérien sur *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Wahidi *et al.* (2014) ont trouvé que l'extrait éthanolique de *Cystoseira compressa* et de *Cystoseira brachycarpa* inhibent la croissance de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

De même, Tajbakhsh *et al.* (2011) ont trouvé que les bactéries Gram positif sont plus sensibles à l'extrait d'algue brune *Cystoseira trinodi* par rapport aux bactéries Gram négatif.

De plus, nos résultats sont similaires par rapport à ceux trouvés par Berber *et al.* (2015). Ces auteurs ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'algue brune *Cystoseira crinita* inhibe la croissance de *Bacillus cereus*, de *K. pneumonia*, de *Micrococcus luteus* et de *S. aureus* tandis que la bactérie *E.coli* est la souche la plus résistante.

Plusieurs travaux mettent en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif. Cela peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram négatif par rapport aux bactéries Gram positif. En effet, la raison de la différence de sensibilité entre les bactéries gram positives et Gram négatives pourrait être attribuée aux différences dans les constitutions morphologiques entre ces micro-organismes (structure et la composition de paroi cellulaire) (Bouterfas *et al.*, 2014 ; Abirami *et al.*, 2012).

Selon Berber *et al.* (2015) la résistance des bactéries Gram négatif est due à la présence d'une couche de lipopolysaccharide dans leur paroi qui empêche la diffusion intracellulaire des substances antibactériennes de l'extrait algal.

Néanmoins, ces résultats sont difficilement comparables étant donné que les méthodes utilisées sont différentes. Le choix du protocole d'extraction et plus particulièrement celui du solvant est très important.

De plus, d'autres facteurs tels que l'espèce algale, la souche bactérienne, le conditionnement de l'algue, la saison de récolte peuvent influencer également les résultats de tests antibactériens. La nature du solvant d'extraction a un grand effet sur les propriétés antimicrobiennes des extraits (Guner et al., 2015).

Plusieurs auteurs ont signalé que les terpènes, Les phlorotanins (phloroglucinol, eckol et dieckol) et les caroténoïdes des algues marines du genre *Cystoseira* ont une activité antimicrobienne (Caccamese et al., 1985; Amico et al., 1987 ; Vizetto-Duarte et al., 2016). (Suleria et al., 2015 ; Guner et al., 2015 ; Bennamara, 1999).

IV.2.2 Activité antifongique

Nous avons également pu mettre en évidence l'activité antifongique de l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Cystoseira* sur deux espèces fongiques du genre *Fusarium* (*Fusarium culmorum* et *Fusarium gramineum*).

On remarque que l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamariscifolia* et la nystatine inhibent la croissance mycélienne des deux champignons d'une manière significative et que le pouvoir antifongique est corrélé avec leur concentrations testées (Photos 7 et 8).

D'après les résultats indiqués dans le Tableau (7), l'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira* à 100 g/L à une activité antifongique presque comparable à celle de la nystatine à 1.25 g/L où ils provoquent une inhibition de la croissance mycélienne à 50% (Photos 9 et 10). Ces résultats montrent que l'algue brune *Cystoseira* renferme probablement de nombreuses substances ayant un effet antifongique.

Tableau 7 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique d'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* et de la nystatine sur *Fusarium gramineum* et *Fusarium culmorum*.

Souches fongiques	Diamètre de croissance (mm) après 05 jours d'incubation	
	EM	Nystatine
<i>Fusarium culmorum</i>	72,55±1.85 ^T	53.11±4.96 ^T
	51.5±1.00 [*]	39.54±1.44 ^a
	44.78±1.30 ^{**}	26.24±2.95 ^b
	42.95±1.20 ^{***}	14.56±1.64 ^c
<i>Fusarium gramineum</i>	79.2±1.13 ^T	51.4±4.51 ^T
	71.5±0.14 [*]	29.4±0.94 ^a
	51.85±0.21 ^{**}	16.53±1.48 ^b
	42.2±1.41 ^{***}	10.28±2.8 ^c

T : témoins, concentrations de l'EM : * 12,5 g/L ; ** 50 g/L ; ***100 g/L.
Concentrations de la nystatine : ^a1.25 g/L ; ^b2.5 g/L ; ^c10 g/L.



Photo 7 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique (EM) de l'algue marine brune *Cystoseira tamariscifolia* à différentes concentrations sur *Fusarium culmorum*.

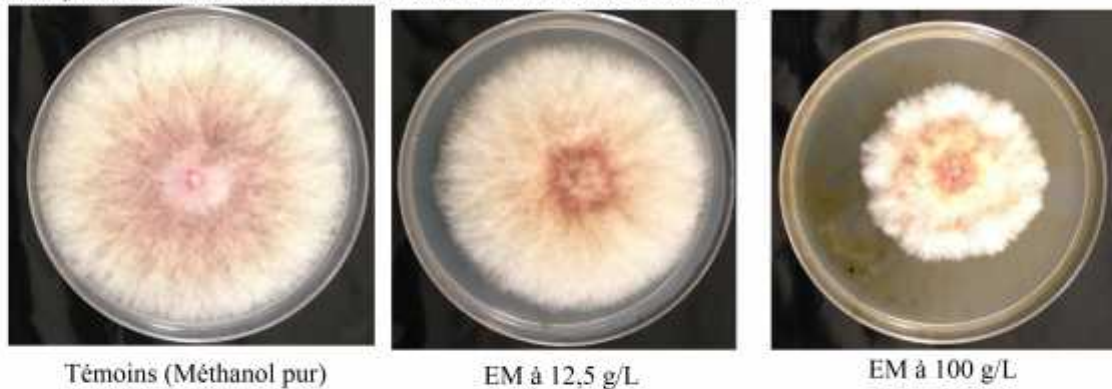


Photo 8 : Résultats de l'effet de l'extrait méthanolique (EM) de l'algue marine brune *Cystoseira tamariscifolia* à différentes concentrations sur *Fusarium graminearum*.



Photo 9 : Effet de la nystatine sur la croissance du *Fusarium graminearum*.

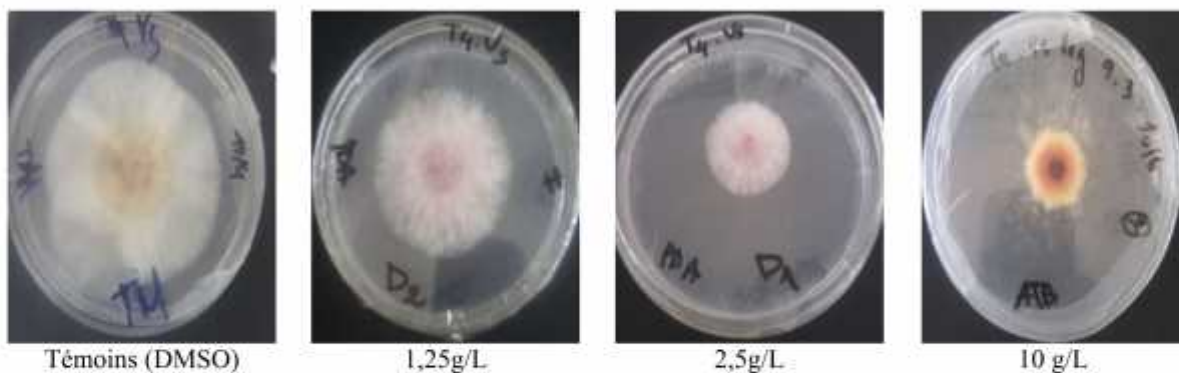


Photo 10 : Effet de la nystatine sur la croissance du *Fusarium culmorum*.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par d'autres chercheurs mettant en évidence une action inhibitrice des extraits de l'algue du genre *Cystoseira* sur la croissance mycélienne des thalles (Moujahid et al, 2004).

Les effets inhibiteurs de ces extraits sont probablement dus aux composés phénoliques, dont les algues brunes contiennent des teneurs élevées. D'autres substances de type terpène, ont été isolées à partir du genre *Cystoseira* (Moujahid et al, 2004).

La méthode d'extraction utilisée dans notre travail a permis donc d'obtenir un extrait qui contient probablement plusieurs principes actifs responsables d'une inhibition des souches fongiques. De ce fait, une purification ainsi que l'identification des substances contenues dans notre extrait d'algue s'avèrent nécessaires.

La prise en considération des algues marines dans cette étude est tout à fait justifiée, car leur exploitation dans les différents domaines connaît un essor remarquable depuis ces dernières années. Les algues marines sont riches en métabolites secondaires ayant des activités biologiques diverses en particulier d'antioxydantes et antimicrobiennes. En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des diverses pathologies associées aux microbes et au stress oxydatif.

L'Algérie avec sa longue bande côtière de 1600 Km, constitue une source inexploitable en algues marines.

Dans ce contexte on s'est intéressés à évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) de l'algue marine brune *Cystoseira tamarixifolia* récolté de la côte marine de l'ouest algérien.

Dans un premier temps l'analyse photochimique qualitative, a mis en évidence la présence des tanins catéchiques, des phénols, des flavonoïdes, des hétérosides cardiotoniques, des acides aminés, des stérols, des triterpènes et des sucres reducteurs.

Par la suite le dosage quantitatif des métabolites secondaires a indiqué que l'extrait méthanolique de *Cystoseira tamarixifolia* est plus riche en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en caroténoïdes.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de fer et celle du piégeage de radical libre DPPH d'extrait a montré que *Cystoseira tamarixifolia* possède un pouvoir antioxydant relativement élevée.

L'analyse des résultats du pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique vis-à-vis de six bactéries a permis de visualiser une action inhibitrice plus importante contre *B.cerueus* *Klebsiella pneumoniae* et *P. areruginosa* tandis que la souche *Escherichia coli* est la moins sensible. Ces résultats laissent dire que *Cystoseira tamarixifolia* est fortement active surtout sur les bactéries gram négatif. Les résultats de l'activité antifongique ont montré que l'extrait méthanolique de l'algue marine brune *Cystoseira* est très actif vis- à vis des champignons phytopathogène du genre *Fusarium*.

Il ressort de la présente étude que l'algue marine étudiée a montré qu'elle possède des perspectives très intéressantes, et pouvant faire l'objet de plusieurs applications pharmaceutiques et agricole.

Des travaux supplémentaires seront utiles pour pouvoir identifier la nature des molécules responsables des activités antioxydantes et antimicrobiennes grâce à l'utilisation des méthodes chromatographiques (HPLC et CPG) et spectroscopiques (IR et RMN).

- Abirami, P; Gomathinayagam, M ; Panneerselvam, R. (2012).** Preliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littoral* using different solvents. *Asian Pasific Journal of Tropical Medcine*, 552-555.
- Ainane, T. (2011).** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseiratariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Faculté des Sciences Ben M'sik Université Hassan II Casablanca.185 pages.
- Al-Amoudi, O. A., Mutawie, H. H., Patel, A. V., & Blunden, G. (2009).** Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah cornice algae. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 16, 23–29.
- Al-Mola, H.F. (2009).** Antibacterial activity of crude extracts and phlorotannin isolated from the diatom *Cymbella* spp. *Journal of Pharmacy Research*, 2 (3): 304-308.
- Ambreen ; Hira, K ; Amna ,T ; Ruqqia ;Viqar ,S ; Jehan, A. (2012).** Evaluation of biochemical component and antimicrobial activity of some seaweeds occurring at Karachi coast.Pak. J. Bot., 44: 1799-1803.
- Amorim, R.D.D.; Rodrigues, J.A.G.; Holanda, M.L.; Quindere, A.L.G.; de Paula, R.C.M.; Melo, V.M.M.; Benevides, N.M.B. (2012).** Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria ornata*. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 55: 171–181.
- Andrade, P.B ; Barbosa, M; Pedro Matos, R; Lopes, G ; Vinholes, J ; Mouga, T; Valentão, P. (2013).** Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*. 138 : 1819–1828.
- Balboa, E.M ; Conde, E ; Moure, A ; Falque, E ; Dominguez, H. (2013).** In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae.*Food Chemistry* 138 : 1764–1785.
- Ben tireche, M ; Achour, F.Z. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quelques algues marines d'Algérie. Mémoire *Ingénieur d'Etat en Génie*. Département de Biologie. Université Amer Teliidji- Laghouat. 52 pages.
- Bennamara. A., Abourriche .A., Berrada .M., Charrouf .M., Chaib. N., Boudouma M., Garneau .F.X.(1999).** Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 52: 37-40.
- Berber,I, Av ar. C, Koyuncu. H. (2015).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Cystoseira crinita* Duby and *Ulva intestinalis* Linnaeus from the coastal region of Sinop, Turkey. *Journal of Coastal Life Medicine*. 3: 441-445.
- Blunt, J.W ; Copp, B.R ; Munro, M.H.G ; Northcote, P.T ; Prinsep, M.R. (2012).** Marine natural products. *Natural Product Reports*, 29 :144-222.
- Boudouresque, C.F ; Meinesz, A ; Verlaque, M ; Cabioc'h, J ; Floc'h, J-Y ; le Toquin, A. (2006).** Guide des algues mers d'Europe (méditerranée /manche et atlantique). 2^{ème} édition. Délachaux et Neistlé.
- Boudouresque, C.F. Perret, M. (1977).** Inventaire de la flore marine de corse (méditerranée) : Rhodophyceae Phaéophyceae Chlorophyceae et Bryopsidophyceae, 171 pages.
- Brand W., Cuvelier W., et Berset C. (1995).** Use of the free radical method to Bruneton, J.1993 pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales, (3eme ed). Paris: Edition.
- Bruneton, J. (1999).** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. édition TEC et DOC,3^{ème}Ed .
- Burtin, P. (2003).** Nutritional value of seaweeds. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 498–503.

- Burton, P. (2003).** Nutritional value of seaweeds. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 2: 498-503.
- Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P. (2007).** Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146, 60–78.
- Chbani, A; Mawlawi, H; Etahiri, S. (2011).** Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises. *Afrique science*, 7:91-96.
- Choi, Y.M; Noh, D.O; Cho S.Y; Suh H.J; Kim K.M; Kim, J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39:756-761.
- Chojnacka, K; Agnieszka, S; Zuzanna, W; Lukasz, T. (2012).** Biologically active compounds in seaweed extracts—the prospects for the application. *The Open Conference Proceedings Journal*.3:20-28.
- Colin, G. J ; Lord, D ; Allaire, J ; Gagnon, D. (1989).** Huiles essentielles et extrait microondes. *Parfums Cosmétiques Arômes*, 97,105-112.
- Coll, M ; Piroddi, C ; Steenbeek, J ; Kaschner, K ; Benrais Lasram, F ; Aguzzi, J ; Ballesteros, E; Bianchi, C.N. (2010).** The biodiversity of the Mediterranean sea :Estimates ;patterns,and threats revue. *Plosone*, 5:1932-1942.
- Costa, L. S., Fidelis, G. P ; Cordeiro, S. L ; Oliveira, R. M ; Sabry, D. A ; Camara, R. B. G. (2010).** Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 64: 21–28.
- Cox, S ; Abu-Ghannam, N ; Gupta, S. (2010).** An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*, 17: 205–220.
- Cumashi, A ; Ushakova, N.A ; Preobrazhenskaya, M.E ; D'Incecco, A ; Piccoli, A ; Totani, L ; Tinari, N ; Morozevich, G.E ; Berman, A.E ; Bilan, M.I ; Usov, A, Ustyuzhanina, N.E ; Grachev, A.A ; Sanderson, C.J ; Kelly, M ; Rabinovich, G.A ; Iacobelli, S ; Nifantiev, N.E. (2007).** A comparative study of the antiinflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, (17): 541-552.
- De los Reyes, C ; Ortega M, J ; Zbakh, H ; Motilva, V ; Zubía, E. (2015).** *Cystoseira usneoides*: A Brown Alga Rich in Antioxidant and Antiinflammatory Meroditerpenoids. *Journal of Natural Products*.1-11.
- Debray, M ; Jacquemin, H ; Razafindrambo, R. (1971).** Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8).
- Devi, K. G ; Manivannan, K; Thirumaran, G; Aarthi Rajathi, F.A; Anantharaman, P. (2011).** In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 205-211.
- Djenane, D, Yangüela J., F. Derriche, L. Bouarab P., et Roncales, (2012),** Extrait de feuilles d'olivier ; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa* ; application sur la viande de dinde, *Phytothérapie*, 10–18.
- Djeridane, A ; Yousfi, M ; Nadjemi, B ; Boutassouna, D ; Stocker, P. E ; Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654–660.
- Do, Q ; Angkawijaya, A ; Lan, T ; Phuong, N ; Huong, H ; Edi, S.F ; Ismadji, S ; Ju, Y. (2013).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*, *Journal of Food and Drug Analysis*, 316-320.

- Donadieu, Y; Basire, J. (1985).** Les algues : thérapeutiques naturelles. Edition Maloine. Pp. 36-40.
- Eymard, S. (2003).** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conversation et de la transformation de chinchard (*Trachurus trachurus*), choix des procédés. Thèse de Doctorat en Génie des procédés .Ecole Doctorale en Génie des procédés : Spécialité Biochimie. Nant. France.
- Faller, H. (2011).** Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie. pp30-31.
- Farvin, S.K.H ; Jacobsen, C. (2013).** Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138: 1670–1681.
- Fenical,W. (1982).** Natural products Chemistry in the marine environment, *Science* 215-923-928.
- Gaël, R. (2005).** Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thèse doctorat.L'Université de Limoges.pp33.
- Ganesan, P ; Kumar, C.S ; Bhaskar, N. (2008).** Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresour Tech*; **99**: 2717-23.
- Géraldine ; Céline, L. (2009).** Les algues le trésor de la mer. Heds, Haute école de santé Genève, 1-6.
- Glavind, J ; Holmer, G. (1967).** Thin-Layer Chromatographic Determination of Antioxidants by the Stable Free Radical , '-Diphenyl- -picrylhydrazyl. *The journal of the American Oil Chemists' Society*, 44: 539-542.
- Glombitza, K.W ; Keusgen, M. (1995).** Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spinuligerum*. *Phytochemistry* 38: 987-95.
- Gonzalez del Val, A; Platas, G; Basilio, A; Cabello, A; Gorrochategui, J; Suay, I; Vicente,F;Portillo, E; Jiménez del Rio, M; Reina, G.G;Pelaez F. (2001).** Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Island, Spain).*International Microbial*, 4: 35-40.
- Guezzen, A. (2014).**Etude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne des extraits bruts de l'algue brune *Cystosiera strictade* la côté ouest algérienne. Evaluation de la capacité antioxydante totale.memoire master en biologie.université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. 88pages.
- Guillaume, P. (2010).**caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algal du bassin de marrennes-Oléron et études des propriétés physiquo-chimiques de surfaces de micro-organismes. Impliquées dans leur adhésion. Thèse Doctorat en biochimie. Université de la Rochelle, France.
- Guner , A ; Koksall, C ; Erel , S. B ; Kayalar, H ; Nalbantsoy, A ; Sukatar, A . N ; Yavasoglu, U. K. (2013).** Antimicrobial and antioxidant activities with acute toxicity, cytotoxicity and mutagenicity of *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Cytotechnology*, 1-9.
- Gupta, S.; Abu-Ghannam, N. (2011).**Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods.*Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*12, 600–609.
- Gupta, S; Abu-Ghannam, N. (2011).** Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 315–326.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C,(2003).**Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press, Oxford, UK*.
- Halliwell, B., Gutteridge., J.M.C.(1984).**Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219:1–14.

- Harbone, J. (1998).** Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis. Ed Chapman et Hall, 3ème Edition.
- Heo, S.J ; Park, E.U ; Lee, K.W ; Jeon, Y.J. (2005).**Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour. Technol.* 96, 1613–1623.
- Julie, P ; Danielle, L ; Daniel, M. (2010).** Algues, filières du futur Livre Turquoise. adebioihech: 163 pages.
- Kajiwara, T; Matsui, K; Akakabe, Y; Murakawa, T; Arai, C. (2006).** Antimicrobial browning-inhibitory effect of flavor compounds in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 18:413-422.
- Kang, K. ; Hye, J. H ; Dong, H. H ; Park, Y ; Seong, H. K ;Bong, H. L. (2004).** Antioxidant and antiinflammatory activities of ventol, a phlorotannin-rich natural agent derived from *Ecklonia cava*, and its effect on proteoglycan degradation in cartilage explant culture. *Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology*, 115–116, 77–95.
- Kim, D ; Chun, O ; Kim, Y ;Moon, H ; Lee, C. (2003).** Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric, Food Chem.*, 51(22), 6509-6515.
- Kindleysides, S ; Quek, S. Y ; Miller, M. R. (2012).** Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. *Food Chemistry*, 133, 1624–1631.
- Kuda, T ;Tsunekawa, M ;Goto, H ; Araki ,Y. (2005).** Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18 :625–633.
- Kuppusamy, P; Yusoff, M.M; Parine, N.R; Govindan, N. (2014).** Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Lardiere, S.G. (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de Doctorat. Université de Bretagne occidentale. pp16.
- 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 Sci. Biotechnol.* 20: 1461-1466.
- Lichtenthaler, H. (1985).** Differences in morphology and chemical composition of leaves grown at different light intensities and quality. – In: Baker, N.C., Davice, W.J., Ong, C.K. (ed): *Control of Leaf Growth*. Pp. 201-221. Cambridge – London –New Rochelle– Melbourne- Sydney.
- Lopez, A ; Rico, M ; Rivero, A ; Suarez de Tangil, M. (2011).** The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125, 1104–1109.
- Manivannan, K; Anantharaman, P; Balasubramanian, T. (2012).** Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S342-S346.
- Mansouri, A ; Atoui, A.K ; Boskou, G ; Kefalas, P . (2005).** Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem*; 89 : 27–36.
- medicales internationnales. *Edition Tec et Doc Lavoisier*, 11-20.
- Morère, J.L ; Pujol, R .(2002).** “Dictionnaire raisonné de biologie”, Editions Frison-Roche. pp 1222.
- Mtolera M.S.P; Semesi, A.K. (1996).**Antimicrobial activity of extracts from six green algae from Tanzania. *Current in Trends Marine Botanical Research in East African Region*, 211-217.

- Nabors, M. (2009).** Biologie végétale structure, fonctionnement et biotechnologies. nouveaux nabors. 614 pages
- Naghraoui, M. (2014).** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coriaina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid) s.m.k.rates. 2001. plants as source of drug, toxicon, 603-613. pp18-19.
- Palaniselvam, K ; Mashitah, M ; Yusoff, Narasimha R ; Natanamurugaraj, G. (2014).** Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Paris, R; Moyes, H. (1969).** Précis de matière médicinale. Edition Masson. Paris.
- Patra, J.K; Patra, A.P ; Mahapatra, N.K; Thatoi H.N; Das, S; Sahu, R.K ; Swain, G.C.(2009).** Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5 (2): 128-131.
- Pelczar, M.J ; Chan, E.C.S, Krieg, N.R. (1993).** Microbiology: Concepts and Applications. 1st Ed McGraw-Hill Inc ; New York, USA: 80-100.
- Popovici, C ; Saykova, I ; Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4 : 25-39.
- Prescott, M.L, Harley, J.P, Klein A.D. (2003).** Microbiologie. 2^{ème} édition Française. pp578.
- Rajasulochana, P; Dhamotharan, R; Krishnamoorthy, P; Murugesan, S. (2009).** Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *J. Am. Sci.*, 5(3): 20-25.
- Ribereau-Gayon P. (1968).** Notion générale sur les composés phénoliques. *In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod.* pp : 1-40.
- Ribereau-Gayon, J ; Peynaud, M ; Ribereau-Gayon, P ; Sudraud, P. (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins. Ed. Dunod, Paris, pp 671.
- Robvieux, P. (2013).** Conservation des populations de *Cystoseira* en régions provençales alpines – D'azur et corse. Thèse de doctorat en sciences de l'univers, université de Nice-Sophia antipolis-UFR sciences, France. pp61-62.
- Saidani, K ; Bedjou, F. (2011).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines de la côte de Béjaia. Université Abderrahmane Mira de Béjaia.
- Saidani, K. (2010).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre algues marines: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela onferoides* et *Ulva lactuca* de la côte de Béjaia. Mémoire Magistère En Microbiologie Appliquée. Université Abderrahmane Mira de Béjaia. pp112.
- Salvador, N., Garreta, A.G., Lavelli, L., Ribera, M.A. (2007).** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina* 2007, 71, 101–113.
- Salvador, N; Gómez Garreta, A; Lavelli, L; Ribera, M. (2007).** Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, 71 (1): 101-113.
- Sanchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- Sathya, R ; Kanaga, N ; Sankar, P ; Jeeva, S. (2013).** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forssk.) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry*. 1-7.

- Senthilkumar, P; Sudha, S. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of methanolic extract of green seaweed *Chaetomorpha linum* from Gulf of Manner : Southeast coast of India. *Jundishapur J Microbiol.* 5: 411-415.
- Shanmughapriya, S; Manilal, A; Sujith, S; Selvin, J; Kiran G.S; Natarajaseenivasan, K.(2008).** Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, **58** (3): 535-541.
- Spigno, G ; Tramelli, L ; De Faveri, DM. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering.* 81: 200–208.
- Stiger-Pouvreau ,V; Jégou, C; Cérantola, S; Guérard, F ; Lann, K. L. (2014).** in: *Adv. Bot. Res.*, Elsevier,; pp379–411.
- Targett, N.M ; Arnold, M. (1998).** Predicting the effects of brown algal phlorotannins on marine herbivores in tropical and temperate oceans. *J. Phycol.* 34, 195–205.
- Taskin, E., Ozturk, M. Kurt, O. (2007).** Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 6 (24): 2746-2751.
- Taskin, E., Ozturk, M. Kurt, O. (2007).** Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 6 (24): 2746-2751.
- Trease, E ; Evans, W. (1987).** Pharmacognosy Billiaire. Editions Tindall London 13, 61-62.
- Tüney, I; Çadirci, B.H; Ünal, D; Sukatar, A. (2006).** Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Üzmir, Turkey). *Turk J Biol.* 30 : 171-175.
- Valls, R; Pioveti, L; Banaigs ; B; Praud , A. (1993).** *Phytochemistry* ,32, 961-966.
- Vermerris, W ; Nicholson, R. (2006).** Phenolic compounds biochemistry. Springer Science. Netherlands. pp276.
- Viguerie, N ; Millet, L ; Avizou, S. (2002).** Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 87: 630-4.
- Vizetto-Duarte, C ; Custódio, L ; Gangadhar, K, N ; Lago, J, H, G ; Dias , C ; Matos, A ; M, ; Neng, N ; Nogueira, J, M, F ; Barreira , L ; Albericio, F, Rauter, A, P ; Varela, J. (2016).** Isololiolide, a carotenoid metabolite isolated from the brown alga *Cystoseira tamarisci- folia*, is cytotoxic and able to induce apoptosis in hepatocarcinoma cells through caspase-3 activation, decreased Bcl-2 levels, increased p53 expression and PARP cleavage, *Phytomedicine* .v :1-29.
- Wijesinghe, W.A.J.P; Jeon, You-Jin. (2012).** Enzyme-assisted extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review. *Fitoterapia* 83: 6–12.
- Yan, X ; Chuda, Y ; Suzuki, M. (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem*, 63: 605-7.
- Yen, Y ; Shih , C ; Chang ; C. (2008),** Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chemistry* 107: 265-272.
- Yong-Xin, L ; Insuru, W ; Yong, L ; Se-Kwon, K. (2011).** Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46 :2219-2224.
- Younes, F ; Etahiri, S ; Assobhei, O. (2009).** Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc): Criblage et optimisation de la période de la récolte. Université Chouaib Doukkali-Faculté des Sciences BP 20, El Jadida, Maroc. 24: 1543 – 1552.
- Zeng, X ; Suwandi, J ; Fuller, J ; Doronila, A ; Ng, K. (2012).** Antioxidant capacity and mineral contents of edible wild Australian mushrooms. *Food Science and Technology International.* 18: 367–379.
- Zhang, W-W ; Duan, X-J ; Huang, H-L ; Zhang, Y ; Wang, B-G. (2007).** Evaluation of 28 marine algae.

Zubia, M ; Fabre, M. S ; Kerjean, V ; Lann, K. L ; Stiger-Pouvreau, V ; Fauchon, M. (2009).Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116, 693–701.

Milieu Mueller-Hinton Agar (M.H.A)

Infusion de viande de bœuf.....	300 mL
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar	17g
Eau distillée.....	1000 mL
pH.....	7.4

Milieu liquide Bouillon nutritif

Peptone.....	5 g
Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 mL
pH.....	7.4

Composition du milieu PDA

PDA : Potato Dextrose Agar

Pomme de terre.....	200g
Glucose	20g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000 mL
pH.....	7.0