

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Ref :.....

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Détermination de la teneur en lipides, et l'activité antioxydante des trois organes (muscle, gonades et les œufs) du poisson *Mugil cephalus*

Présenté par : Benhama Sabrina

Soutenu le 18 juin 2016

Herroudj Rima

Composition du jury

M ^{me} H.DJOUDAD- KADJI	Maitre de conférence B, A-Mira, Bejaia	Présidente
M ^{me} Y. BENMESSAOUD	Maitre assistante A, A-Mira, Bejaia	Examinatrice
M ^{me} H. METROUH-AMIR	Maitre de conférence B, A-Mira, Bejaia	Promotrice

Année Universitaire : 2015-2016

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu, notre Créateur pour nous avoir donné la force à accomplir ce travail.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur,

M^{me} Amir Hassiba qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ses directives et Conseils judicieux. Nous voudrions aussi la remercier pour le temps et la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de ce travail, et surtout d'avoir cru en nos capacités.

Nous voudrions, aussi, exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à

M^{me} Kadji Hafsa pour nous avoir confié le sujet et d'en avoir dirigé la réalisation en nous faisant bénéficier de son expérience, de sa compétence et de sa rigueur scientifique.

Nous tenons à remercier, très sincèrement, les membres de jury, qui ont accepté de juger ce travail. Ils ont également contribué, par leurs remarques et suggestions, à améliorer la qualité de ce mémoire, et nous leurs en sommes très reconnaissantes.

Nous tenons à remercier vivement toutes les personnes qui nous ont permis d'évoluer dans un environnement scientifique dynamique au sein des deux unités, laboratoire de zoologie appliquée, et l'animalerie. Nous voudrions exprimer également toute notre gratitude et nos remerciements à tous les enseignants existés pendant le travail au sein de ces deux unités, pour les orientations et les conseils.

Vous avez tous été très généreux de votre temps et nous vous en sommes très reconnaissantes.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

Grâce à l'aide d'Allah, le Tout-Puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Qu'Allah leurs prête santé

A ma très chère et adorable amie et sœur lamia, en témoignage de ma gratitude pour ses efforts, son aide et son soutien tout au long ce travail

A mes adorables sœurs : Saida, Sarah, Lila, et mes chers frères: Hamid et Badis en témoignage de mon affection et ma reconnaissance pour leurs encouragements, sans oublier mes beaux-frères Rahim et Halim

A mes anges nièces : Hanna et Dahlia, A mes chers poussins : Ali-Adam et Akram en témoignage de mon amour pour la joie qu'ils ont apportée dans ma vie

A ma cousine Siham, pour son aide et ses conseils, A tous mes oncles et mes tantes en témoignage de mes sentiments les meilleurs

A tous mes amis et collègues : Fatima, Karima, Hanifa, Atika, Nadjet, Siham, djaza et ma binôme Rima

A tous ceux qui m'ont aidée pour la bonne réalisation de ce travail.

A tous ceux, dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Sabrina



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents

Mon frère MOHAND, mes deux sœurs MELLYSSA et IMANE

Toute ma famille paternelle et maternelle (HERROUDJ et BELHABIB)

Ma binôme Sabrina et toute sa famille

*Ainsi qu'à tous ceux qui m'ont encouragée de près ou de loin durant mon parcours
scolaire*

Qu'ils trouvent, ici, l'expression de ma profonde gratitude.

Rima

Sommaire

- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des tableaux

Introduction **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre I: Revue bibliographique

I-1- Generalite sur les poissons	3
I-1-1 Biologie de l'espece <i>Mugil cephalus</i>	3
I-1-1-1 Description et morphologie	3
I-1-1-2 Taxonomie et systématique	4
I-1-1-3 Ecologie de l'espece et habitat	4
I-1-2 Composition chimique et valeur nutritive du mulot	5
I-1-2-1 Lipides du muscle	6
I-1-2-2 Lipides des œufs (la boutargue).....	6
I-2- Generalite sur les espèces réactives de l'oxygene et antioxydants	7
I-2-1 Espèces réactives de l'oxygene	7
I-2.1.1. Dérivés primaires de l'oxygene.....	8
I-2-1-2 Dérivés secondaires de l'oxygene	8
I-2-2 Principales sources des radicaux libres	9
I-2-2-1 Sources exogenes.....	9
I-2-2-2 Sources endogenes.....	9
I-2-3 Dommages cellulaires.....	11
I-2-3-1 Peroxydation des lipides	11
I-2-4 Stress oxydant.....	12
I-2-5 Système de défense contre le stress oxydant	13

I-2-5-1 Systèmes de défense enzymatiques	13
I-2-5-2 Système de défense non enzymatique	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Présentation de la zone d'étude.....	17
II-2-Matériel animal	Erreur ! Signet non défini.
II-3-Préparation des échantillons	18
II-4-Extraction des lipides	20
II-4-1 Extraction par macération	20
II-4-2 Extraction par soxhlet.....	20
II-5-Détermination de l'activité antioxydante	22
II-5-1 Activité scavenger du radical DPPH.....	22
II-5-2 Pouvoir réducteur du fer.....	22
II-5-3 Test de blanchissement du β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique	23
II-5-4 Activité scavenger du radical hydroxyle.....	24
II-5-5 Evaluation de l'activité antioxydante totale	24
II-6-Etude statistique	25

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Taux d'extraction des lipides du poisson <i>Mugil cephalus</i>	26
III-2-Activité antioxydants	28
III-2-1 Activité scavenger du radical DPPH.....	28
III-2-2 Pouvoir réducteur du fer	30
III-2-3 Activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène.....	31
III-2-4 Activité scavenger du radical hydroxyle.....	33
III-2-5 Activité antioxydante totale	35
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographiques	39

Liste des abréviations

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

ERN : Espèces Réactives du Nitrogène

SOD : Superoxyde dismutase

CAT : La catalase

GPX : la glutathion peroxydase

AGPI : Acide Gras Polyinsaturé

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

LDL : Low Density Lipoprotein ou Lipoprotéine de basse densité

DHA : déshydroascorbique

FADH : Flavine adénine dinucléotide

DPPH : 2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl

DMSO : Diméthylsulfoxyde

H₂O₂ : Eau Oxygénée ou peroxyde d'hydrogène

FAO : Food and Agriculture Organisation

Liste des figures

Figure	Titre	Pages
Figure 1	Anatomie externe du <i>Mugil cephalus</i> .	3
Figure 2	Distribution géographique du mullet.	5
Figure 3	Mécanisme de production des ERO et ERN impliqués en biologie.	8
Figure 4	Principales sources cellulaires de radicaux libres.	4
Figure 5	Représentation schématique du mécanisme réactionnel de l'auto-oxydation des lipides.	12
Figure 6	Schéma de défenses antioxydantes enzymatiques.	14
Figure 7	Mécanisme d'action d'un anti-oxydant donneur d'hydrogène comme le tocophérol.	15
Figure 8	Carte géographique du golf de Béjaia.	17
Figure 9	Photographies des individus de mullet (<i>Mugil cephalus</i>). A : trois espèces du mullet aux différentes tailles ; B : femelle aux ovaires à maturité très avancée.	18
Figure 10	Photographies illustrent la dissection du poisson.	18
Figure 11	Photographies des gonades de <i>Mugil cephalus</i> A : gonades Mâle, B : gonades Femelle, C : gonades femelle mûre.	19

Figure 12	Photographies illustrent la préparation de la matière sèche, A : Echantillon prêt pour la congélation B : des échantillons congelés, C : des échantillons séchés	19
Figure 13	Photographies illustrent les étapes de broyage et tamisage, A : broyage des échantillons séchés, B : tamisage de la poudre non homogène, C : poudre fine homogène prête pour l'extraction.	20
Figure 14	Photographie du soxhlet au cours de l'extraction.	21
Figure 15	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur le rendement des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	27
Figure 16	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	29
Figure 17	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur le pouvoir réducteur des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	31
Figure 18	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	32
Figure 19	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité scavenger du radical hydroxyle des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	34
Figure 20	Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante totale des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson <i>Mugil cephalus</i> .	36

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Taxonomie de l'espèce <i>Mugil cephalus</i> .	4
Tableau II	Composition chimiques et valeur nutritionnelle du poisson mullet.	6
Tableau III	Pourcentage des différents types d'acides gras dans la chaire et les œufs du <i>Mugil cephalus</i> .	7
Tableau IV	Les cofacteurs minéraux des principales enzymes antioxydantes.	16
Tableau V	Les différents extraits lipidiques du <i>Mugil cephalus</i> obtenus par macération et Soxhlet en utilisant le chloroforme et l'hexane comme solvant d'extraction.	21

Introduction

INTRODUCTION

Les océans constituent une richesse alimentaire très diversifiée (algues, crustacés, mollusques et poissons) et exploitée. Selon la FAO, plus de 130 millions de tonnes de poisson sont actuellement pêchés ou élevés chaque année dans le monde. L'Algérie est un pays méditerranéen, possède un vaste littoral riche en ressources halieutiques tel que les petits pélagiques et les grands pélagiques. Ces poissons sont riches en lipides totaux tels que les acides gras polyinsaturés qui ont une forte teneur d'Oméga-3.

Le mulot est un grand poisson pélagique également appelé mule ou muge désigne plusieurs genres de poissons essentiellement dans la famille des mugilidés, ils longent les plages pour séjourner en fin dans un port ou dans les eaux saumâtres d'un estuaire, ces espèces sont réputées herbivores, ce qui est effectivement leur caractère principal (**Cardonna, 2000**). Les muges se rapprochent du fond où ils broutent la végétation et vase pour en extraire les matières organiques nutritives. Ces poissons sont menacés en raison de leur exposition continue à des effluents industriels chimiques riches en toxines, cette contamination par les métaux et par les polluants induit un stress oxydatif chez les poissons en générant des espèces réactives de l'oxygène qui sont des composés toxiques puissants produits en continu dans les cellules lors de l'exposition à des toxines environnementales, provoquant ainsi des dégâts cellulaires (**Buet et al., 2002**).

Cependant les effets nocifs des radicaux libres sont bloqués dans une large mesure par les systèmes de défense antioxydants, qui sont des systèmes utilisés pour prévenir les dommages oxydatifs aux composants alimentaires et prévenir l'oxydation des lipides par les radicaux libres (**Yu et al., 2002**). L'étude des mécanismes de la prévention par les antioxydants sont connus depuis les dernières décennies, un regain d'intérêt dû aux implications de ces phénomènes dans les domaines de la nutrition et de la santé, dont ces composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, ils ont un intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées agroalimentaire (**Pan et al., 2008**).

Vu de la grande valeur économique du mulot à grosse tête *Mugil cephalus* et ses œufs, ainsi que son intérêt pour la santé humaine, la présente étude vise la mise au point d'une méthode d'extraction des lipides et la déterminer de la teneur lipidique des trois organes du poisson *Mugil cephalus*, et représente une première base de données se rapportant à

l'évolution de l'activité antioxydante des extraits lipidiques obtenus à partir des différentes organes du poisson *Mugil cephalus* . Ce travail est organisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre présentera une synthèse bibliographique sur l'espèce *Mugil cephalus*, sur les radicaux libres et sur le système de défense antioxydant.
- Le deuxième chapitre couvre l'ensemble des travaux personnels expérimentaux et principaux méthodes utilisées.
- Le troisième chapitre est consacré pour les résultats et discussions acquis lors de ce travail.

On terminera ce travail par une conclusion générale en donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus durant ce travail ainsi que les perspectives qui feront l'objectif d'ultérieurs travaux.

Revue bibliographique

1- GENERALITE SUR LES POISSONS

Les poissons sont des anciens animaux et leur origine se confond avec celle de vertébrés il y a 500 millions d'années. Ce terme poissons est employé précisément pour désigner les cordés non tétrapodes qui forment un ensemble très vaste et hétérogène vraisemblablement polyphylétique. Les poissons sont des animaux à sang froid (Poïkilotherme), c'est à dire que leur métabolisme dépend de la température de l'eau qui l'entoure à la différence des mammifères (Beaumont et Cassier, 1998 ; Lecointre *et al.*, 2010).

1-1 BIOLOGIE DE L'ESPECE *MUGIL CEPHALUS*

1-1-1 DESCRIPTION ET MORPHOLOGIE

Le corps du *Mugil cephalus* est robuste, de forme cylindrique, légèrement comprimé latéralement. La tête est large et déprimée. La lèvre supérieure est mince et lisse sans papilles. Une paupière adipeuse épaisse recouvre presque totalement l'œil. La seconde nageoire dorsale et anale, ne sont recouvertes d'écailles que dans leur partie antérieure et sur leur base. La nageoire anale ne compte que 8 rayons mous. Le dos est gris bleuté, les flancs et le ventre sont argentés avec, en générale, des lignes longitudinales grises et des reflets dorés. Le poisson *Mugil cephalus* atteint communément 60 cm de long, et exceptionnellement 120 cm, pour un poids de 8 Kg (Seret et Opic, 2011).

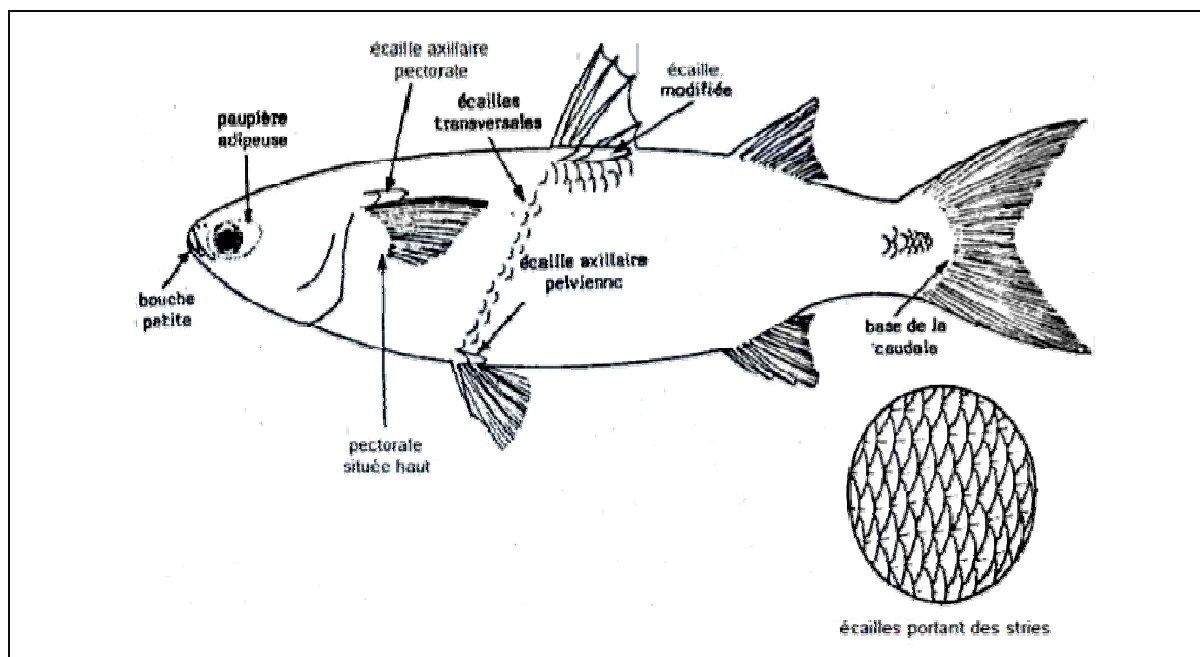


Figure 1 : Anatomie externe du *Mugil cephalus* (FAO, 1985).

1-1-2 TAXONOMIE ET SYSTEMATIQUE

Le nom scientifique du mullet, est *Mugil cephalus* (Linné, 1758), connu aussi sous le nom de mullet-cabot ou mullet à grosse tête en France, sous le nom de flathead Grey mullet dans la Grande-Bretagne, et sous le nom vernaculaire Bourri. Dans la classification, il occupe la place suivante (Tableau I).

Tableau I : Taxonomie de l'espèce *Mugil cephalus* (Kaschner et al., 2015).

Règne	Animal
Embranchement	Chordes
Sous-embranchement	Vertebres
classe	Osteichthyens
Sous-classe	Actinopterygiens
Infra-classe	Teleosteens
Ordre	Perciformes
Sous-ordre	Mugiloides
Famille	Mugilides
Genre	<i>Mugil</i>
espèce	<i>cephalus</i>

1-1-3 ECOLOGIE DE L'ESPECE ET HABITAT

Le mullet *Mugil cephalus* est une espèce cosmopolite, généralement trouvée dans les estuaires tropicaux et tempérés (Figure 2) (Cardonna, 2000).

Mugil cephalus peut remonter les estuaires et les rivières, dont ils passent beaucoup du temps, près du rivage autour des bouches des courants et des rivières ou dans des baies saumâtres, les admissions et des lagunes avec le sable ou des fonds de la boue (Texas Parks, 2005).

Mugil cephalus se nourrit principalement de zooplancton (Cardonna, 2000). Une abondante littérature a établi que les principaux contenu de son estomac comprennent trois catégories: les microalgues (notamment épiphytes et benthiques diatomées, les dinoflagellés, les algues vert et bleu vert), les débris végétaux en décomposition, et des particules de sédiments inorganiques (Odum, 1966).

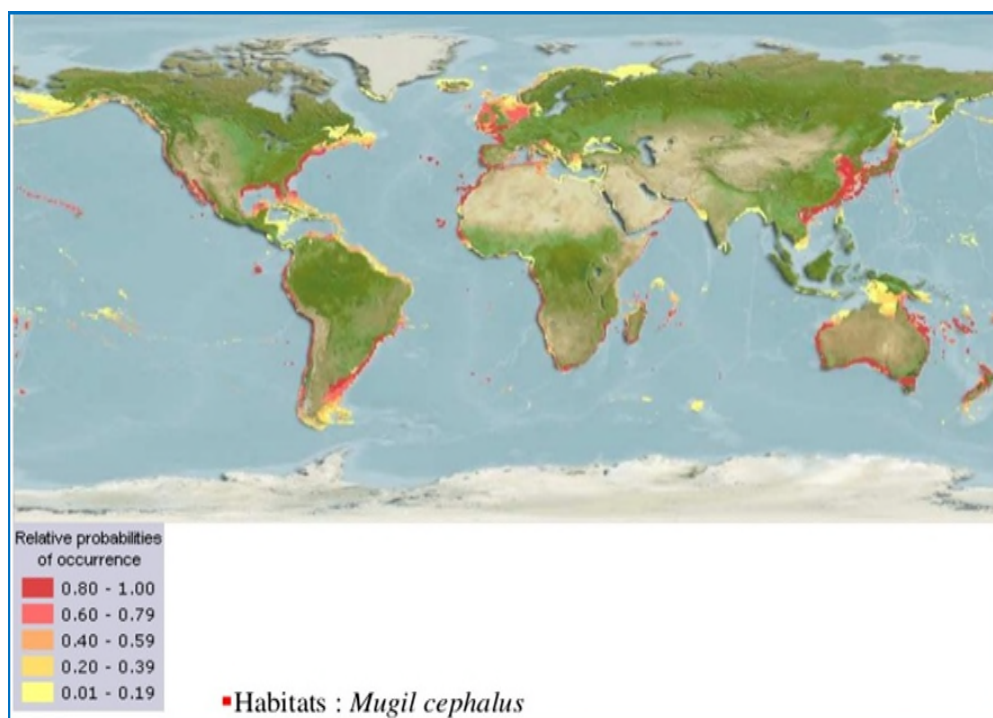


Figure 2 : Distribution géographique du mullet (Kaschner *et al.*, 2015).

La distribution de l'espèce *Mugil cephalus* est plus large dans les mers tempérées, dans les eaux côtières de la plupart des zones tropicales et subtropicales. Dans l'Océan atlantique occidental, on le trouve à partir de la Nouvelle-Écosse, Canada en allant au sud jusqu'au Brésil, y compris le Golfe du Mexique. Il est absent en Bahamas et en mer dans les Caraïbes. Dans l'Océan Atlantique oriental, le mullet se trouve dans le Golfe de Gascogne (France) et jusqu'en Afrique du Sud, y compris la Méditerranée et la Mer Noire. La chaîne orientale de l'Océan Pacifique comprend la Californie du sud vers le sud jusqu'au Chili.

1-2 COMPOSITION CHIMIQUE ET VALEUR NUTRITIONNELLE DU MULET

Mugil cephalus est apprécié pour la qualité nutritionnelle et la grande valeur marchande de cette espèce que les autres espèces, dont il constitue une source des protéines sensiblement identique à la viande. Ces protéines contiennent les neuf acides aminés essentiels à notre organisme qui jouent un rôle clé dans la formation des enzymes digestives. Il présente une importante concentration en minéraux et oligo-éléments, et une excellente source de vitamines (Margiela, 2012). Les lipides représentent les constituants biochimiques les plus étudiés chez les poissons et d'autres organismes aquatiques (Dumay, 2003). Ils se

caractérisent par une forte proportion d'acides gras insaturés ; dans les huiles de poisson gras, ce taux peut atteindre 75% (Beddih *et al.*, 2004). (Tableau II).

La chair du poisson se rapproche de celle du muscle de viande des animaux terrestres, en particulier, en ce qui concerne les teneurs en protéines, sucres, minéraux et en lipides (Nganguem, 2007).

Tableau II : Composition chimiques et valeur nutritionnelle du poisson mullet. (Beddih *et al.*, 2004 ; Margiela, 2012).

Protéines	Acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, cystine, glycine, histidine , isoleucine, leucine, lysine, méthionine , phénylalanine, proline, sérine, thréonine, tryptophane , tyrosine et valine.
Lipides	Acides gras polyinsaturés, Monoinsaturés, acides gras saturés et Cholestérol.
Vitamines	Vitamine de groupe B : B1, B2, B3, B5 et B12. Vitamines A, C, D, E et provitamine A.
Oligo-élément et minéraux	Potassium, Phosphore, Calcium, Sodium, Magnésium, Fer, Zinc, Cuivre, Manganèse, Sélénium.

1-2-1 LIPIDES DU MUSCLE

Les lipides du muscle du mullet *Mugil cephalus* comptent la majorité des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (Tableau III), dont les effets bénéfiques pour la santé sont largement reconnus. Parmi les acides gras polyinsaturés du mullet, on rencontre l'oméga 3 et l'oméga 6, qui contribuent à la prévention cardiovasculaire et sont utiles dans le traitement de pathologies comme l'asthme, l'arthrite rhumatoïde et le psoriasis (Calder, 2004).

1-2-2 LIPIDES DES ŒUFS (LA BOUTARGUE)

Les œufs du *Mugil cephalus* connus sous le nom de boutargue, constituent une denrée alimentaire d'origine marine très précieuse avec de nombreux avantages dans l'alimentation humaine et animale car elles sont très riches en lipides de qualité supérieure qui renferment des acides gras essentiels monoinsaturés, tel que l'acide palmitoléique et l'acide oléique et des acides gras polyinsaturés qui sont indispensables à l'organisme tel que l'acide linoléique,

l'acide linoléinique et l'acide arachidonique (Tableau III), tous ces acides gras ont des valeurs biologiques et nutritionnelles très élevées (**Beddih et al., 2004**).

Tableau III : Pourcentage des différents types d'acides gras dans la chair et les œufs du *Mugil cephalus* (**Beddih et al., 2004 ; Margiela, 2012**).

Les lipides	Chaire du mulot	Œufs du mulot
Les acides gras saturés	29,44 %	17,9 %
Les acides gras monoinsaturés	28,43 %	39,4 %
Les acides gras polyinsaturés	18,86 % : 10,28% (Oméga3). 7,63% (Oméga 6).	28,8%

2- GENERALITE SUR LES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE ET ANTIOXYDANTS

2-1 ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE

Les espèces réactives de l'oxygène sont facilement inter-convertibles, formant ainsi un réseau complexe qui exerce une action sur les lipides, les protéines, l'acide désoxyribonucléique et les glucides (**Reiter et al., 1997 ; Nagendrappa, 2005**). Parmi les différents dérivés réactifs de l'oxygène dans le milieu vivant les espèces radicalaires.

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron non apparié (C'est à-dire non impliqués dans un doublet ou une liaison covalente) et donc disponibles pour diverses réactions d'oxydo-réduction (échanges d'électrons), et qui se caractérisent par une grande réactivité chimique et une courte durée de vie (**Yoshikawa et al., 2000**). Les radicaux libres les plus dangereux sont ceux qui sont instables, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (10^{-9} à 10^{-6} S) (**Tessier et Marconnet, 1995**). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Figure 3). Il convient de distinguer celles dites "primaires", qui jouent un rôle particulier en physiologie, et de celles dites

"secondaires" qui dérivent des premières par réaction avec des composés biochimiques de la cellule (Yoshikawa *et al.*, 2000).

2.1.1. DERIVES PRIMAIRES DE L'OXYGENE

Les dérivés primaires de l'oxygène sont des radicaux libres, possédant un électron libre non apparié et qui sont extrêmement réactifs tels (l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le radical hydroxyle OH^{\bullet} et le monoxyde d'azote NO^{\bullet}), et des espèces réactives non radicalaires qui peuvent être des précurseurs des radicaux, tel que : l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (ONOOH) (Bartosz, 2003; Favier, 2003).

2-1-2 DERIVES SECONDAIRES DE L'OXYGENE

Ce sont des radicaux issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides...) (Dasmalchi *et al.*, 2007). Parmi ces radicaux libres secondaire se trouve le radical peroxyde RO_2 , qui est un radical très réactif avec la plupart des molécules, il est impliqué notamment dans la propagation de l'oxydation des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires (Eymard, 2003).

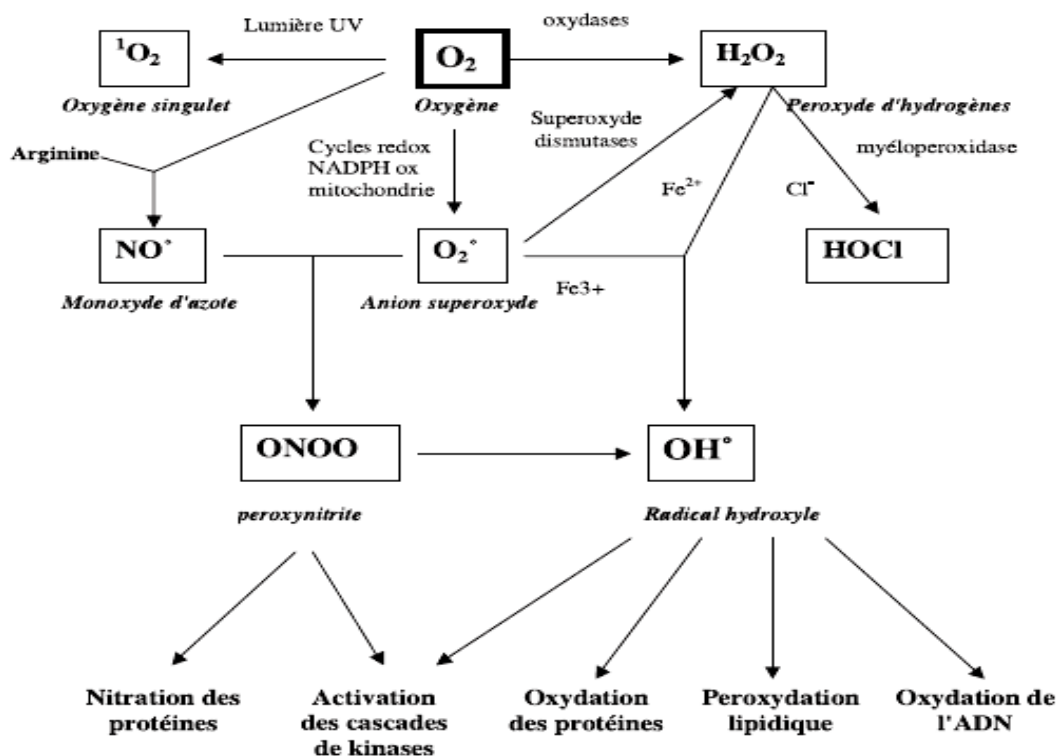


Figure 3: Mécanisme de production des ERO et ERN impliqués en biologie (Favier, 2003).

2-2 PRINCIPALES SOURCES DES RADICAUX LIBRES

De nombreux systèmes enzymatiques et des réactions biochimiques identifiés dans les cellules sont capables de générer des radicaux libres, dont peuvent être d'origines exogènes ou endogènes et l'on peut identifier plusieurs sources (Figure 4) (**Finkel et Holbrook, 2000**).

2-2-1 SOURCES EXOGENES

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres, ils sont surtout d'origine physique et chimique tels que :

- Les rayonnements X ou gamma, et les rayons ultraviolets du soleil (315-400 nm) (**Favier, 2006 ; Valko et al., 2006**). Les ERO peuvent se former à partir de la radiolyse de l'eau et à partir des réactions photochimiques (**Favier, 2006**).
- Des divers métaux toxiques issus de l'alimentation tels que le cuivre et le fer, peuvent causer ou promouvoir la formation des radicaux libres (**Finkel et Holbrook, 2000**).
- Certains médicaments comme des antibiotiques anticancéreux tels que l'anthracycline, sont également capables de générer des radicaux libres. (**Valko et al., 2006**).

2-2-2 SOURCES ENDOGENES

Les ERO et ERN, pourtant réactifs et toxiques, sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire les bactéries et réguler des fonctions cellulaires létales (**Favier, 2003**).

➤ Mitochondrie

La principale source des ERO est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, s'accompagne d'une production non réductible des radicaux libres. Elle produirait en effet 90% des ERO cellulaires (**Hosset, 1990**). Les électrons dérivés du NADH et du FADH de la chaîne respiratoire mitochondriale peuvent directement réagir avec l'oxygène ou d'autres accepteurs d'électrons pour générer les radicaux libres, donc la respiration cellulaire sera l'origine de lésions mitochondriales due aux radicaux qui limiteraient dans le temps la survie de la cellule (**Cadenas et Davies, 2000**).

➤ Peroxysomes

Les peroxysomes sont une importante source de production d' H_2O_2 cellulaire. Ce dernier apparaît suite à la présence de nombreuses enzymes qui génèrent le peroxyde pour être utilisé comme substrat par la catalase peroxysomiale afin de réaliser des réactions de peroxydation avec d'autres substrats (**Schisler et Singh, 1989**).

➤ **Réticulum cytoplasmique**

Le réticulum cytoplasmique renferme des enzymes qui catalysent des réactions pour détoxifier les drogues liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Schisler et Singh, 1989). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des radicaux libres (Morel et al., 1999).

De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production d'ERO.

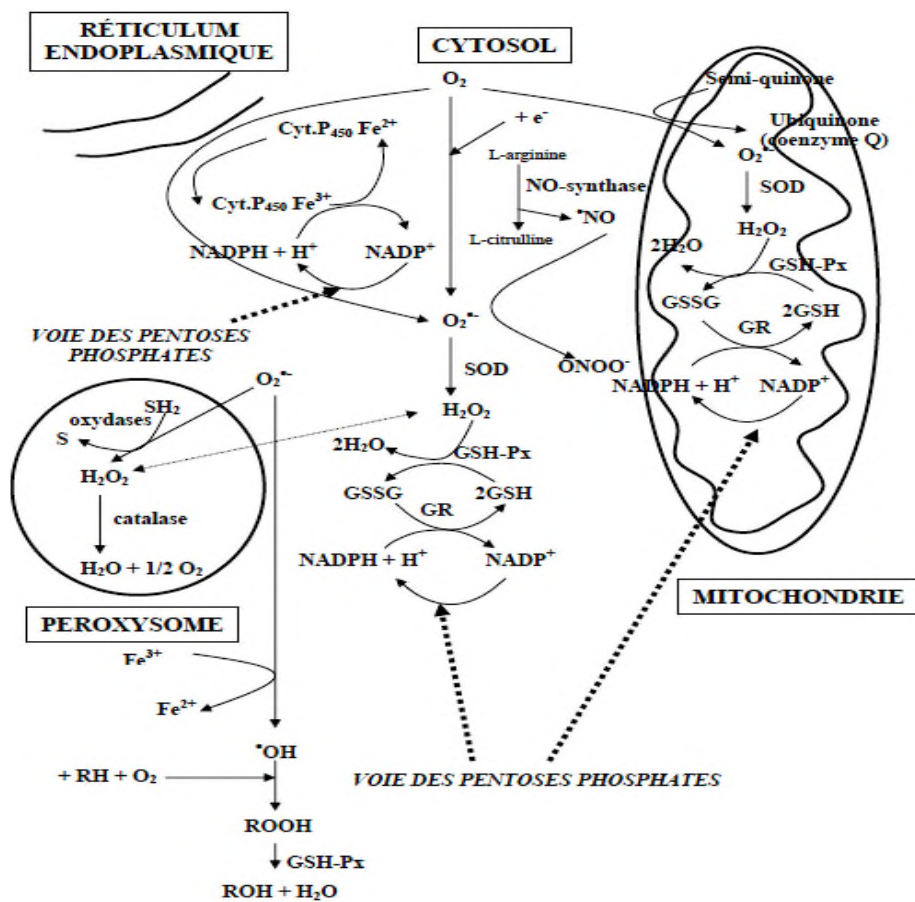


Figure 4 : Principales sources cellulaires des radicaux libres (Bonfond-Rousselot et al., 2003).

RH : acide gras polyinsaturé, *ROOH* : hydroperoxyde lipidique, *SH₂* : substrat réducteur, *S* : substrat oxydé, *SOD* : superoxyde dismutase, *GSH-Px* : glutathion peroxydase, *GR* : glutathion réductase, *GSH* : glutathion réduit, *GSSG* : glutathion oxydé.

2-3 DOMMAGES CELLULAIRES

La présence d'ERO a des conséquences potentiellement graves pour la cellule dont elles provoquent une peroxydation des lipides, une oxydation des protéines, des mutations de l'ADN, avec des pertes de fonction et d'intégrité (Costa, 2001). La réaction des ERO avec des lipides est considérée comme l'un des mécanismes les plus répandues des lésions cellulaires (Halliwell et Gutteridge, 1999).

2-3-1 PEROXYDATION DES LIPIDES

Les facteurs influençant l'oxydation des lipides sont nombreux : composition en acides gras ; nombres et positions des insaturations et la présence des pro-oxydations (les ions métalliques et les enzymes) (Hsieh et Kinsella, 1989). Ces différents facteurs favorisent le développement des réactions de peroxydation qui induisent la dégradation des propriétés biochimiques, et nutritionnelles de l'aliment (Costa, 2001). Il est largement admis que la peroxydation des lipides dans les aliments produits, est une réaction en chaîne impliquant trois étapes générales: initiation, propagation et terminaison (Figure 5).

- **Amorçage (initiation)** : Au cours de laquelle il y a génération des premiers radicaux alkyle (R°) à partir des acides gras insaturés (RH) (Villière et Genot, 2006).



L'initiateur (I) favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques (Favier, 2006 ; Valko *et al.*, 2006).

- **Propagation**: Au cours de laquelle les radicaux alkyles précédemment formés réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxyde (ROO°) (2). Ces derniers réagissent à leur tour avec des acides gras et forment des hydroperoxydes ($ROOH$) (3). (Villière et Genot, 2006).



Les hydroperoxydes (ROOH), sont des molécules instables qui sont des produits primaires de la réaction, donnant naissance à des produits secondaires sous l'effet de la chaleur ou des métaux (Halliwell et Gutteridge, 1999).

- **Terminaison** : Les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n'est pas un radical libre mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.

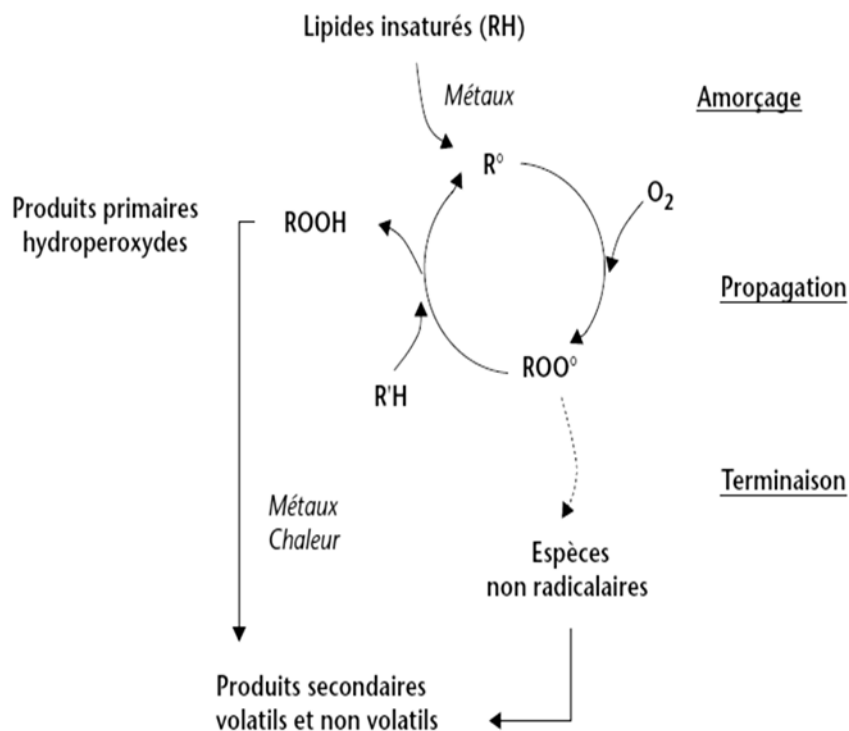
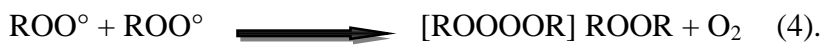


Figure 5: Représentation schématique du mécanisme réactionnel de la peroxydation des lipides (Villière et Genot, 2006).

2-4 STRESS OXYDANT

Le stress oxydant est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives d'oxygène, suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue d'ERO soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (Favier, 2003).

Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie-reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine-oxydase), d'une libération du fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine,...). Enfin, une alimentation pauvre en antioxydants contribue également à l'apparition de ce phénomène (**Pincemail et al., 2002**).

2-5 SYSTEME DE DEFENSE CONTRE LE STRESS OXYDANT

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres dérivés de l'oxygène. Les molécules produites cette réaction sont désignées pour le terme d'antioxydant et désignant toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle de substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell et Gutteridge 1990**). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Dans le système de défense antioxydant de notre organisme, on distingue des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.

2-5-1 SYSTEMES DE DEFENSE ENZYMATIQUES

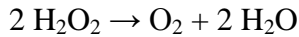
Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPX), capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives (Figure 6).

➤ SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)

Le SOD est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (**Halliwell et Gutteridge 1999**). Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zn-dépendante), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire. La structure de SOD est bien conservée lors de l'évolution et présente un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde et puis l'élimination de ce dernier (**Zelko et al., 2002**).

➤ CATALASE (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique contenant un groupe hème qui catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante:



L'action de la catalase a été découverte au début du 19^{ème} siècle par un français **Thénard, 1818**. (**Béguel et al., 2013**). Les 4 sous-unités protéiques de CAT contenant un groupement héminique avec Fe^{3+} lié au site actif dont chaque molécule a habituellement une molécule de NADPH, H^+ qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène. La dissociation des sous-unités résulte en une perte de l'activité de la catalase (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

➤ GLUTATHION SUPEROXYDE (GPX)

La glutathion peroxydase est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elle agit plus lentement que la catalase mais elle a une meilleure affinité pour le H_2O_2 que cette dernière. La GPX est donc essentielle à la décomposition du H_2O_2 produit de manière continue et à des niveaux physiologiques dans la cellule. Les GPX sont des enzymes sélénium-dépendantes ou sélénium-indépendantes et sont soit cytosoliques, comme c'est le cas de la première GPX identifiée (**Mills, 1957**), soit extracellulaires.

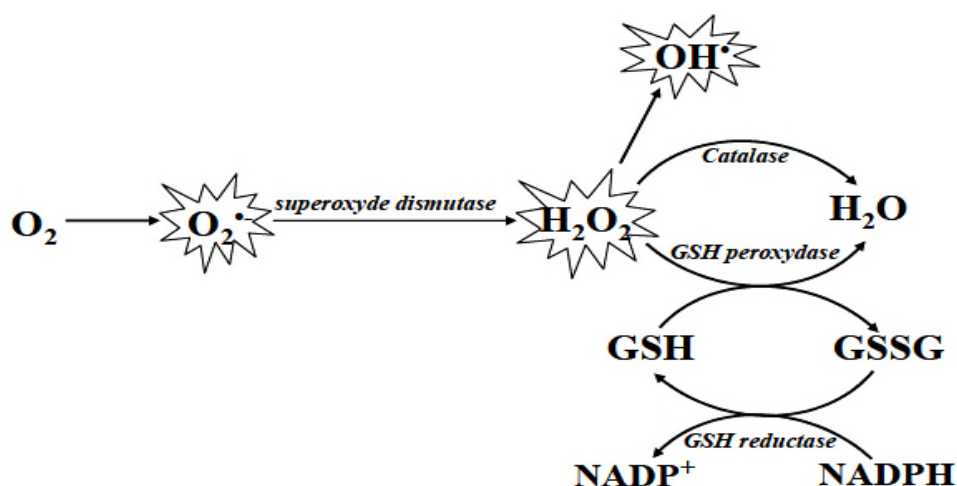


Figure 6 : Schéma de défenses antioxydantes enzymatiques.

2-5-2 SYSTEME DE DEFENSE NON ENZYMATIQUE

Les principaux antioxydants non-enzymatiques sont la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les oligo-éléments. Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire (Cadenas, 1989).

➤ VITAMINE E

La vitamine E ou α -tocophérol est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres (Probiox, 2005).

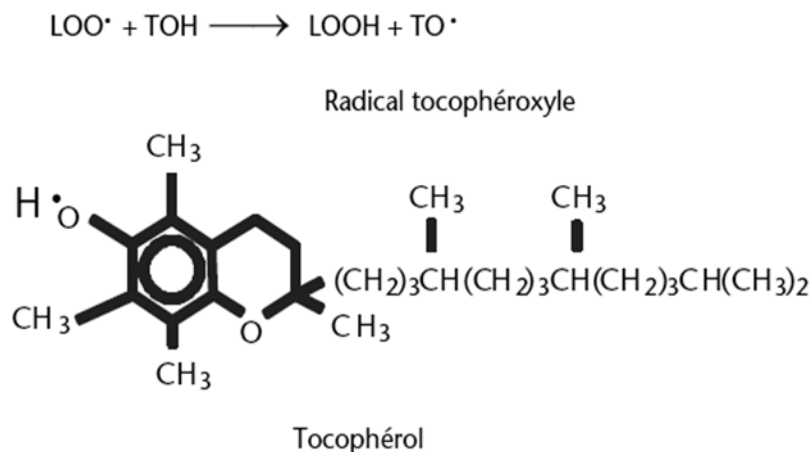


Figure 7 : Mécanisme d'action d'un antioxydant donneur d'hydrogène comme le tocophérol (Cillard et Cillard, 2006).

➤ VITAMINE C

La vitamine C ou acide ascorbique n'est pas synthétisée par l'organisme. C'est un excellent piègeur des ERO qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Cette molécule contient trois formes moléculaires les plus connus de Vitamine C sont : l'acide D-ascorbique, l'acide L-ascorbique et sa forme oxydée dite acide déshydroascorbique (DHA) dont ces deux dernières possèdent une activité biologique (Bourgeois, 2003). La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de Fe^{3+} en Fe^{2+} favorisant ainsi la réaction de Fenton et donc de manière indirecte

une action pro-oxydante. L'acide urique est issu du métabolisme des purines et peut réagir avec HO[•] (Ames *et al.*, 1981) et être régénéré par la vitamine C.

➤ CAROTENOIDES

Les caroténoïdes sont des molécules dont la structure chimique est constituée de 40 carbones qui agissent en tant qu'antioxydant en bloquant les radicaux libres (Collins, 2001). Leur potentiel antioxydant pour lutter contre la peroxydation lipidique a été démontré très tôt (Monaghan et Schmitt, 1932) et ils sont capables de réagir avec les radicaux libres de trois manières : par le transfert d'électron, d'hydrogène ou par la liaison avec le radical. Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (Hermes-Lima, 2005).

➤ OLIGO-ELEMENTS

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre les radicaux libres dont ces oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres (Tableau IV) (Médale, 2008). Les organismes aquatiques puisent ces oligo-éléments à la fois dans leur nourriture et dans l'eau, tel que les poissons qui sont une source majeure des minéraux environ 65% stocké chez les vertèbres (Lall, 1995).

Tableau IV : Les cofacteurs minéraux des principales enzymes antioxydantes (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Cofacteur	Enzyme antioxydante
Sélénium	Glutathion peroxydase
Cuivre et Zinc	Superoxyde dismutase Cu-Zn-SOD cytosolique
Manganèse	Superoxyde dismutase Mn-SOD mitochondriale
Fer	Catalase

Matériel et Méthodes

1- PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

La façade maritime de la wilaya de Bejaia recouvre environ 100 Km de côtes, alternant criques rocheuses et plages de sable fin d'est vers l'ouest. La région c'est un plateau continental peu étendu, avec une largeur moyenne de 1,5 Km (Leclaire, 1972). La zone d'étude qui est le golf de Bejaia se localise entre El Aouana à l'Est et par le Cap Bouake à l'Ouest.



Figure 8 : carte géographique du golf de Béjaia (Cadastre Béjaia).

2- MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Les poissons étudiés ont été pêchés et récupérés au niveau de port de pêche de Bejaia à la fin du mois d'octobre en 2015. Six individus d'une même espèce avec des tailles différentes ont été utilisés.

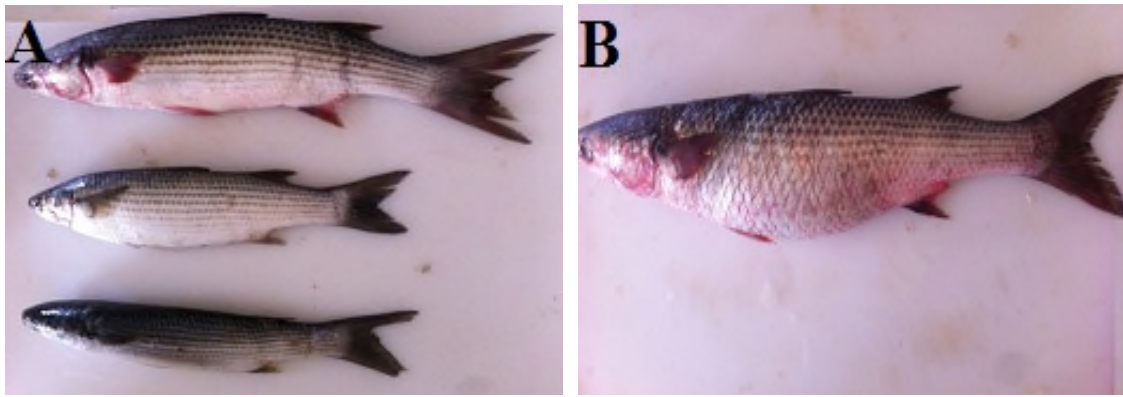


Figure 9 : Photographies originales présent au niveau du laboratoire pour les individus du mullet *Mugil cephalus*. A : trois individus du mullet aux différentes tailles ; B : femelle aux ovaires à maturité très avancée.

3- PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les individus étudiés ont été disséqués, afin de récupérer le muscle, les gonades et les œufs. Ces derniers ont été coupés en petit morceau et mis dans des boîtes de pétries recouvertes d'un papier cellophane troué pour l'aération.



Figure 10 : Photographies originales présent au niveau du laboratoire illustrent la dissection du poisson.

Les œufs utilisés dans cette étude ont été récupérés dans des gonades mûres extraites à partir de la femelle du *Mugil cephalus* recueillies en période de ponte (de mois d'octobre au mois de février), et les gonades immatures ont été dilacérées directement (Figure 11).

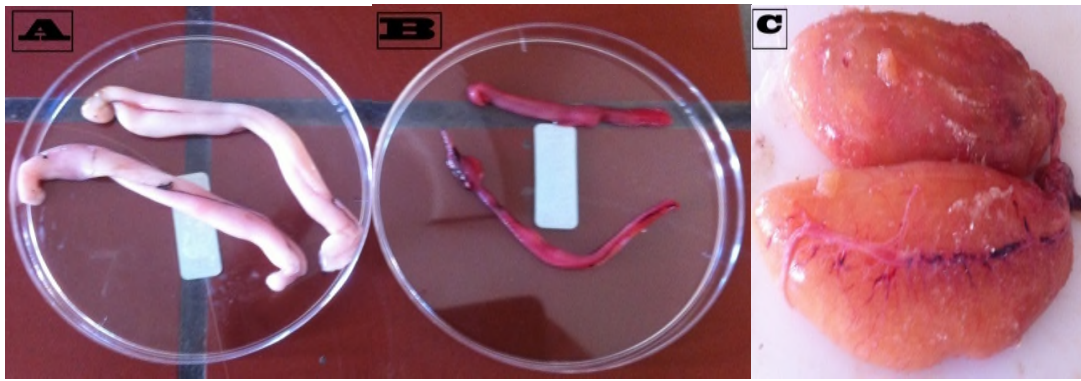


Figure 11: Photographies originales présent au niveau du laboratoire pour les gonades de *Mugil cephalus*. A : gonades mâles ; B : gonades femelles immature, C : gonades femelles mûres.

Les différentes dilacérations des trois organes du *Mugil cephalus*, ont été congelées pendant 48 heures (Figure 12, B), avant d'être lyophilisées entre 32 et 40 heures. Pour garder les échantillons bien séchés et éviter leur humidification, les échantillons lyophilisés ont été placés dans un dessiccateur (Figure 12, C).

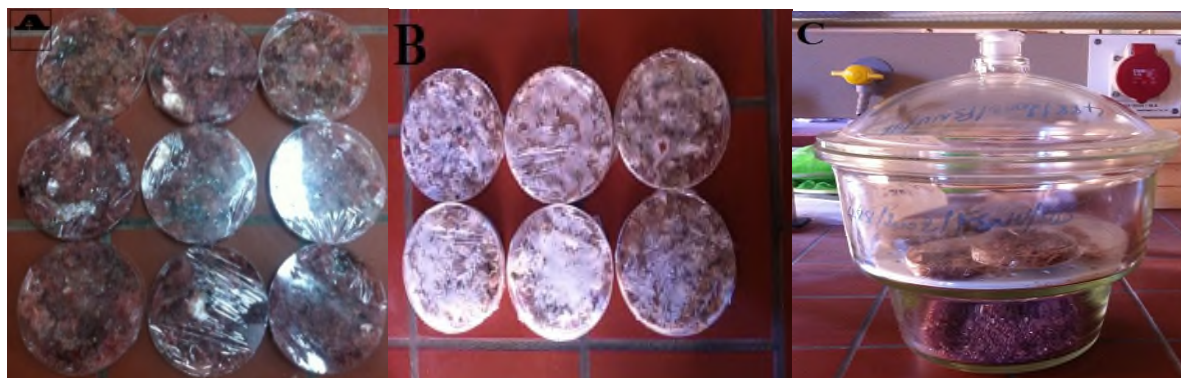


Figure 12 : Photographies illustrent la préparation de la matière sèche.

A : échantillon prêt pour la congélation ; B : des échantillons congelés ; C : des échantillons séchés.

Les échantillons lyophilisés et bien séchées, ont été broyés puis tamisés à l'aide d'un tamiseur de 500 μm , pour avoir une poudre bien homogène. La poudre obtenue pour chaque organe a été conservée à 4°C dans des sachets de congélation bien fermée (Figure 13).



Figure 13: Photographies illustrent les étapes de broyage et tamisage.

A : broyage des échantillons séchés ; B : tamisage de la poudre non homogène ; C : poudre fine homogène prête pour l'extraction.

4- EXTRACTION DES LIPIDES

L'extraction des lipides à partir de différents organes (muscles, œufs et gonades) du poisson mulot a été faite en utilisant comme solvants d'extraction le chloroforme et l'hexane, par macération ou en utilisant le Soxhlet.

4-1 EXTRACTION PAR MACÉRATION

Une quantité de 5 g de l'échantillon du *Mugil cephalus* a été mélangée avec 150 ml de solvant d'extraction (chloroforme ou hexane). Après 24 heures de macération, le mélange obtenu a été filtré et la solution contenant les lipides du muscle, des gonades ou des œufs a été évaporé, afin d'éliminer le solvant utilisé.

4-2 EXTRACTION PAR SOXHLET

L'extraction par Soxhlet a été réalisée à une température de 40°C. Une quantité de 5 g de l'échantillon du *Mugil cephalus* a été mise dans des cartouches à cellulose placées dans un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction chloroforme et hexane. Quand les ballons chauffent, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans les ballons, accompagné des substances extraites. Après 8 heures d'extraction, les solutions récupérées ont été évaporées.

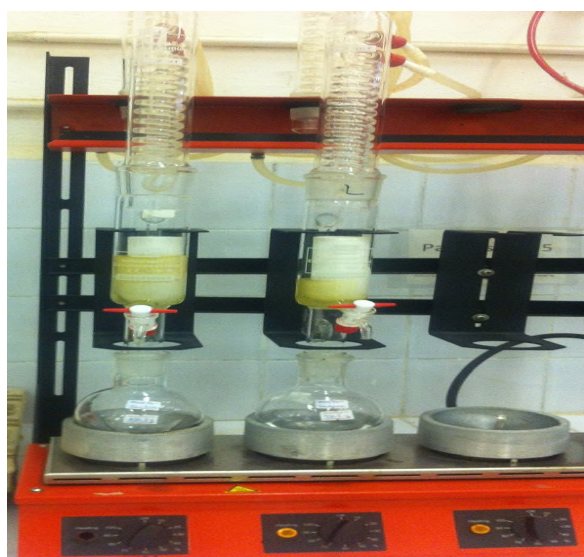


Figure 14 : Photographie du Soxhlet au cours de l'extraction.

Après l'évaporation des solvants, les extraits obtenus constitués de lipides ont été récupérés par le DMSO (Diméthylsulfoxyde) et conservés à 4°C pour utilisation ultérieure. Un total de 10 extraits a été obtenu (Tableau V).

Tableau V : Les différents extraits lipidiques du *Mugil cephalus* obtenus par macération et Soxhlet en utilisant le chloroforme et l'hexane comme solvant d'extraction.

Organes	Méthodes	Les solvants
Muscle	Macération	Chloroforme
		Hexane
	Soxhlet	Chloroforme
		Hexane
Œufs	Macération	Chloroforme
		Hexane
	Soxhlet	Chloroforme
		Hexane
Gonades	Macération	Chloroforme
	Soxhlet	Chloroforme

5- DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

L'activité antioxydante des extraits lipidiques du poisson mulot (*Mugil cephalus*) a été déterminée en utilisant cinq tests différents à savoir :

5-1 ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL DPPH

➤ Principe

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits lipidiques du poisson mulot (*Mugil cephalus*), nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (2,2 diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH (2,2 diphényl-1- picrylhydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le transformer en DPPH 2,2 Diphenyl-1- picryl hydrazine) de coloration jaune-verte dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

➤ Mode opératoire

L'effet scavenger du DPPH est déterminé par la méthode de **Kroyer et Hegedus, 2001**. 300µl d'extrait sont ajoutés à 2700µl de DPPH (60µM). L'absorbance a été lue à 517 nm après 2 heures d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (300µl méthanol+ 2700µl DPPH).

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (300µl extrait+2700µl DPPH).

5-2 POUVOIR REDUCTEUR DU FER

➤ Principe

Ce test est considéré comme un test direct et rapide pour la mesure du pouvoir réducteur des antioxydants, dans un milieu neutre. L'analyse du pouvoir réducteur, d'un antioxydant, est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe^{3+}), en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence des antioxydants réducteurs.

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Arabshahi-Delouee et Urooj, 2007**. 1ml d'extrait est additionné à 2,5ml de tampon phosphate (0,2M, 6,6) et 2,5ml de

ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20min, 2,5ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, 2,5ml du surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml du chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

5-3 TEST DE BLANCHISSEMENT DU B-CAROTÈNE COUPLE A L'AUTO-OXYDATION DE L'ACIDE LINOLEIQUE

➤ Principe

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de la qualité de ces produits (Bougatf *et al.*, 2009). Le test de blanchissement de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique est une méthode rapide basée principalement sur le principe que l'acide linoléique, qui est un acide gras insaturé, s'oxyde par les ERO produits par l'eau oxygénée (Nur alam *et al.*, 2013). Dans ce test l'activité antiradicalaire des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (disparition de sa couleur) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Kouamé *et al.*, 2009).

➤ Mode opératoire

Le test de blanchissement du β - carotène est estimé par la méthode de Sun et Ho, 2005. Une quantité de 2 mg du β -carotène est dissous dans 10 ml de chloroforme. 1 ml de cette solution est prélevé dans une fiole contenant préalablement 200 mg de Tween 20 et 20 μ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapor jusqu' à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau oxygénée diluée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à essai, 4 ml de l'émulsion du β -carotène/acide linoléique est additionnée à 200 μ l d'extrait. Après incubation dans un bain marie à 50°C pendant 120 min, l'absorbance des extraits est mesurée à 470 nm. L'activité antioxydante des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition de blanchissement du β -carotène en employant la formule suivante :

$$\% = [(A_{A(120)} - C_{C(120)}) / (C_{C(0)} - C_{C(120)})] * 100$$

$A_{A(120)}$: Représente l'absorbance en présence de l'extrait à t =120 mn.

$C_{C(120)}$: Représente l'absorbance du contrôle à t = 120 mn.

$C_{C(0)}$: Représente l'absorbance du contrôle a t = 0 mn.

5-4 ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL HYDROXYLE

➤ Principe

Le radical hydroxyle (OH^\bullet) est un radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre suivant la réaction de HABER WEISS (**Castro et Freeman, 2001**). Ce radical possède un électron libre avec un potentiel de réduction élevé lui permet de réagir avec les lipides, les protéines les polypeptides et l'ADN (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

➤ Mode opératoire

La méthode de désoxyribose adoptée dans cette étude est celle de **Halliwell et al., 1987**. Le mélange réactionnel contient les réactifs suivants : 0,4 ml de la solution tampon phosphate (50 mmol/L, pH = 7,4), 0,1 ml de l'extrait, 0,1 ml de l'EDTA (1,04 mmol/L), 0,1 ml de chlorure ferrique (1 mmol/L) et 0,1 ml de 2-désoxyribose (60 mmol/L). La réaction est commencée par l'addition de 0,1 ml de l'acide ascorbique (2 mmol/l) et 0,1 ml de peroxyde d'hydrogène (10 mmol/L). Après incubation à 37°C pendant 1 heure, 1 ml de l'acide thiobarbutirique (10 g/L) est ajouté dans le milieu réactionnel suivi, par 1 ml de l'acide chlorhydrique (25%). Les mélanges sont placés au bain marie à 100°C pendant 15 min. L'absorbance des solutions est mesurée à 532. La capacité du piégeage du radical hydroxyle est évaluée en pourcentage d'inhibition de l'oxydation de 2-désoxyribose par les radicaux hydroxyles. Le pourcentage du piégeage est calculé en basant sur la formule suivante:

$$(\%) = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 * 100$$

A_0 : Représente l'absorbance du contrôle sans extrait.

A_1 : Représente l'absorbance après l'addition de l'extrait et de désoxyribose.

A_2 : Représente l'absorbance de l'extrait sans désoxyribose.

5-5 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE TOTALE

➤ Principe

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Cette technique est basée sur la réduction d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène MoO_2^+ en

présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ molybdène MoO_2^+ dans un milieu acide.

➤ **Mode opératoire**

La capacité antioxydante totale des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.*, 1999**. Un volume de 0,4 ml de chaque extrait est mélangé avec 4 ml de solution du réactif (0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm.

6- ETUDE STATISTIQUE

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA MANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des résultats est prise à la probabilité $P < 0,05$. Toutes les données représentent la moyenne de trois essais \pm écart type. La corrélation entre les différents paramètres est définie par le coefficient de corrélation de Pearson (r).

Résultats et discussion

1- TAUX D'EXTRACTION DES LIPIDES DU POISSON *MUGIL CEPHALUS*

La présente étude a été consacrée à la détermination de la teneur en lipides des différents organes (muscle, gonades et œufs) du poisson *Mugil cephalus*, extraits par macération et Soxhlet, en utilisant comme solvants d'extraction le chloroforme et l'hexane.

La procédure de séchage, la granulométrie des particules, la température d'extraction, le temps de macération, le volume ainsi que la nature du solvant, constituent les paramètres susceptibles d'influencer le taux d'extraction et d'affecter ainsi les activités antioxydantes.

Une bonne méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt, en leur évitant toute modification chimique. Cependant, le rendement d'extraction des matières végétales dépend fortement de la nature du solvant d'extraction, en raison de la présence de différents composés bioactifs de différentes caractéristiques.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en lipides obtenues sont affectées par le solvant utilisé et la méthode appliquée pour l'extraction (Figure 15).

Les taux d'extraction des lipides des trois organes (muscle, œufs et gonades) du *Mugil cephalus*, ont été compris entre 16 et 34%. Ces résultats montrent que notre poisson est un poisson gras.

L'analyse des résultats de la présente étude a révélé que les œufs du *Mugil cephalus* ont présenté le plus grand rendement en lipides avec un pourcentage de 34 %, obtenu en appliquant la méthode de Soxhlet et en utilisant le chloroforme pour l'extraction. Tandis que l'extraction par macération, en utilisant le même solvant, a permis de donner un rendement en lipides de 30% dans les œufs. Le taux d'extraction des lipides des œufs (26%) obtenu avec l'hexane est plus important en appliquant la méthode de macération que celui obtenu avec la méthode de soxhlet dont le pourcentage est de 20%. Les teneurs en lipides des œufs du *Mugil cephalus* sont plus élevées que celles de la truite et le saumon qui représentent des pourcentages de 9,6 et 10,5%, respectivement (**Kassem Al-sayed, 2007**).

L'extraction des lipides à partir des gonades a été réalisée en utilisant que le chloroforme comme solvant d'extraction. Le rendement obtenu par le soxhlet (30%), est plus élevé que celui obtenu par macération (16,3%). Dans cette étude on a constaté que la meilleure méthode pour extraire les lipides dans les gonades des poissons est le soxhlet.

Les teneurs en lipides des gonades constatées dans la présente étude sont proches de celles rapportées par **Beddih et al., 2004**, dont les boutargues du *Mugil cephalus* contiennent 31,68% de lipides totaux.

L'analyse de ces résultats a montré que les plus faibles teneurs en lipides ont été révélées dans le muscle. L'extraction par le chloroforme a permis de donner un pourcentage de 16,8% pour les deux méthodes suivies pour l'extraction. Tandis que l'extraction par l'hexane a montré un taux d'extraction plus important en appliquant la méthode Soxhlet qu'en suivant la méthode de macération.

La faible teneur en lipides des muscles par rapport aux deux autres organes (gonades et œufs), constatée dans le présent travail, pourrait être expliquer par le fait que durant la période de la maturation des gonades, les réserves énergétiques stockées dans le muscle sous forme de lipides sont fortement mobilisées et transférées vers les gonades (**Médale, 2010**), ce qui a été confirmé par les rendements élevés des extraits lipidiques des gonades et des œufs.

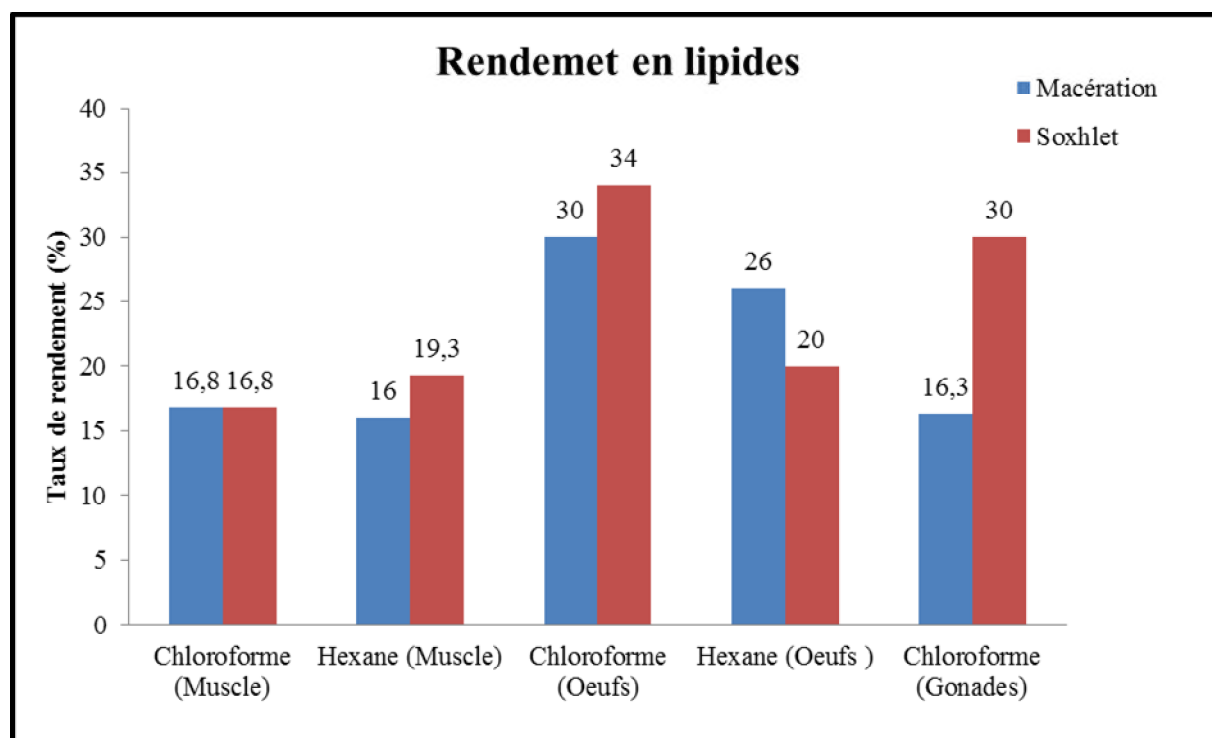


Figure 15 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur le rendement des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

2- ACTIVITE ANTIOXYDANTS

Afin d'étudier l'activité antioxydante des différents extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, cinq méthodes ont été employées : activité scavenger du radical DPPH, pouvoir réducteur du fer, activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène et l'activité scavenger du radical hydroxyle et activité antioxydante totale.

2-1 ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à agir en tant que piègeurs de radical en réduisant le DPPH par un transfert d'hydrogène (Milardovic *et al.*, 2006). Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

L'analyse statistique des résultats trouvés a révélé que les pourcentages d'inhibition du radical DPPH, présentent des différences significatives ($p < 0,05$) selon le solvant utilisé, la technique suivie pour l'extraction et selon l'organe étudié.

Les résultats obtenus de cette activité sont regroupés dans la figure 16. Les valeurs obtenus montrent que tous les extraits lipidiques des organes du poisson étudiés (muscle, œufs et gonades) sont capables de piéger le radical DPPH.

Les plus importantes activités antiradicalaires ont été constatées avec les extraits lipidiques du muscle préparés par le chloroforme et l'hexane et en appliquant la technique du Soxhlet pour l'extraction, avec des pourcentages d'inhibition de 66,56 et 59,80%, respectivement. Alors que les activités antiradicalaires vis-à-vis de DPPH les plus faibles ont été montrées par les extraits lipidiques des œufs, obtenus par le chloroforme et l'hexane et en utilisant la méthode Soxhlet pour l'extraction, avec des pourcentages d'inhibition de 31,27 et 34,41%, respectivement.

Pour les deux méthodes d'extraction testées (macération et Soxhlet) et en utilisant le chloroforme, l'étude statistique a montré que les extraits lipidiques des gonades du poisson ont présenté des activités antiradicalaires plus importantes que celles présentées par les extraits lipidiques des œufs.

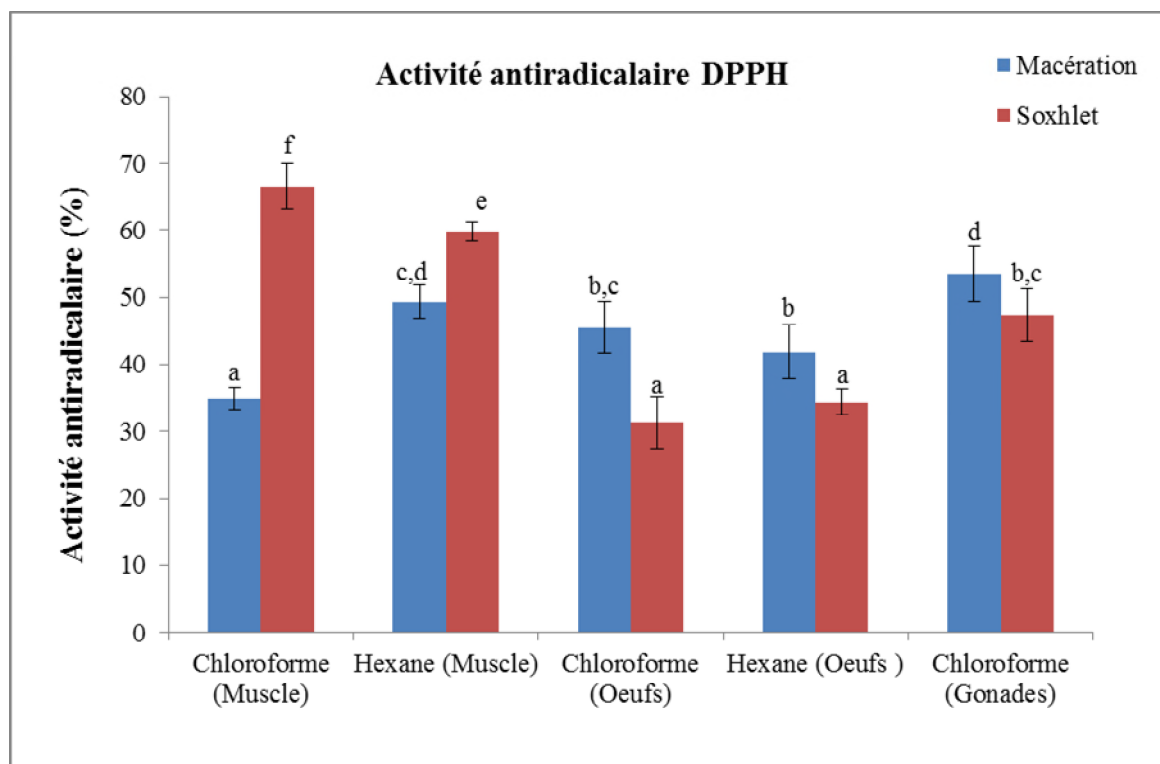


Figure 16 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

La vitamine E se trouve dans le corps de plusieurs espèces du poisson, stocké généralement dans le tissu musculaire (Medale *et al.*, 2008). La chair du poisson présente une importante activité antioxydante grâce à sa forte concentration en molécules antioxydantes tel que la vitamine E (α -tocophérol) (Probiox, 2005).

Selon Sau *et al.*, 2004 l'activité antiradicalaire vis à vis du DPPH constatée durant cette étude, pourrait être expliquée par la présence de vitamine E, qui réduit le taux d'oxydation lipidique chez les poissons et joue un rôle important dans le piégeage des radicaux libres par le rôle synergique de cette vitamine E avec de l'acide ascorbique dont cette interaction a été examinée chez certaines espèces de poissons, telles que la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), le saumon atlantique (*Salmosalar*) et l'esturgeon des lacs (*Acipenser fulvescens*). En outre cette activité antioxydant pourrait être liée à la nature et à la qualité des acides gras (nombre et position des insaturations), des extraits lipidiques issus des différents organes du mullet (Hsieh et kinsella, 1989).

Les caroténoïdes des poissons, tel que la vitamine A qui donnent à la chair sa couleur caractéristique rose-orangée (Medale *et al.*, 2008). Ces composés sont connus par leur forte activité antioxydante.

2-2 POUVOIR REDUCTEUR DU FER

Le pouvoir réducteur est la capacité qu'a un extrait à donner un électron et à réduire le fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Tepe *et al.*, 2005). Le pouvoir réducteur est confirmé par le changement de couleur jaune de la solution d'essai de la couleur vert à la couleur bleu.

Les pouvoirs réducteurs des extraits lipidiques de *Mugil cephalus* obtenus présentent des différences significatives ($p < 0,05$) selon le solvant, la méthode d'extraction et l'organe étudié (Figure 17).

L'analyse des résultats de l'activité réductrice du fer des extraits lipidiques des différents organes du poisson étudié, montre que l'extrait du muscle obtenu en utilisant l'hexane et le Soxhlet pour l'extraction, a présenté le pouvoir réducteur du fer le plus fort, avec une absorbance moyenne de 0,5, suivi par l'extrait lipidique du même organe préparé par le même solvant mais en appliquant la méthode de macération, avec une absorbance moyenne de 0,43. La même absorbance (0,43) a été trouvée avec l'extrait des gonades obtenu avec la méthode Soxhlet en utilisant le chloroforme comme solvant d'extraction.

Les pouvoirs réducteurs les plus faibles ont été présentés par les extraits des œufs obtenus suite à une extraction par l'hexane en utilisant le Soxhlet et le chloroforme en utilisant la macération, un avec absorbance moyenne de 0,14 et 0,15, respectivement, suivi de l'extrait chloroformique du muscle obtenu par Soxhlet et macération, avec des absorbances de 0,21 et 0,23, respectivement.

L'analyse des résultats de la présente étude a révélé que le pouvoir inhibiteur exercé par l'extrait lipidique du muscle est plus élevé que celui exercé par les autres organes (gonades et œufs). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que les lipides du muscle sont doués d'un potentiel réducteur plus fort que celui des lipides des gonades et des œufs.

Les différences significatives constatées entre les activités réductrices des différents organes du *Mugil cephalus*, pourraient être dues à la composition biochimique des lipides ainsi qu'à la nature et la structure des acides gras de chaque organe.

L'analyse statistique a montré que le pouvoir réducteur des extraits lipidiques du *Mugil cephalus* obtenus avec l'hexane est plus important que celui obtenu en utilisant le chloroforme comme solvant d'extraction.

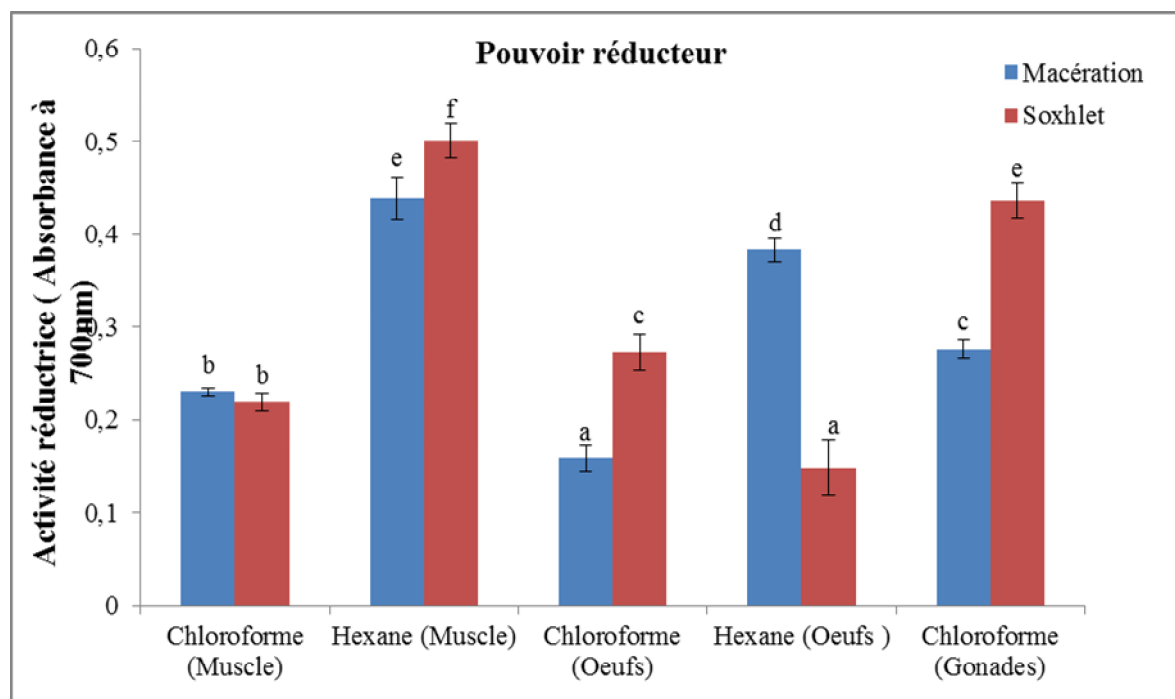


Figure 17: Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur le pouvoir réducteur des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

2-3 ACTIVITE INHIBITRICE DE BLANCHISSEMENT DU B-CAROTENE

Pour le système β -carotène le modèle des radicaux libres découle de l'oxydation de l'acide linoléique par l'attaque des molécules du β -carotène hautement insaturés, provoque la diminution de l'absorbance à 470 nm. La présence des antioxydants réduit l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les radicaux libres dérivés de l'acide et permet donc de prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Nur alam *et al.*, 2013).

Les résultats de cette étude ont montré que tous les extraits lipidiques du muscle, œufs, et des gonades du *Mugil cephalus*, ont inhibé le blanchissement du β -carotène par le piégeage des radicaux peroxydes générés (Figure 18).

En appliquant la technique de macération, l'activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène la plus élevée a été exercée par l'extrait chloroformique des gonades avec un pourcentage de 39,85%, suivi par les extraits lipidiques des œufs et du muscle préparés par l'hexane, dont les pourcentages d'inhibition sont 31,53 et 30,62%, respectivement. Tandis que les plus faibles activités inhibitrices de l'oxydation du β -carotène, ont été représentées par l'extrait chloroformique du muscle obtenu par macération et l'extrait chloroformique des œufs obtenu en utilisant la méthode de Soxhlet, dont les pourcentages d'inhibition sont 5,08 et 6,55%, respectivement.

L'analyse statistique a montré que les meilleures activités inhibitrices de l'oxydation ont été constatées avec les extraits obtenus par macération comme méthode d'extraction à partir des gonades du poisson *Mugil cephalus*.

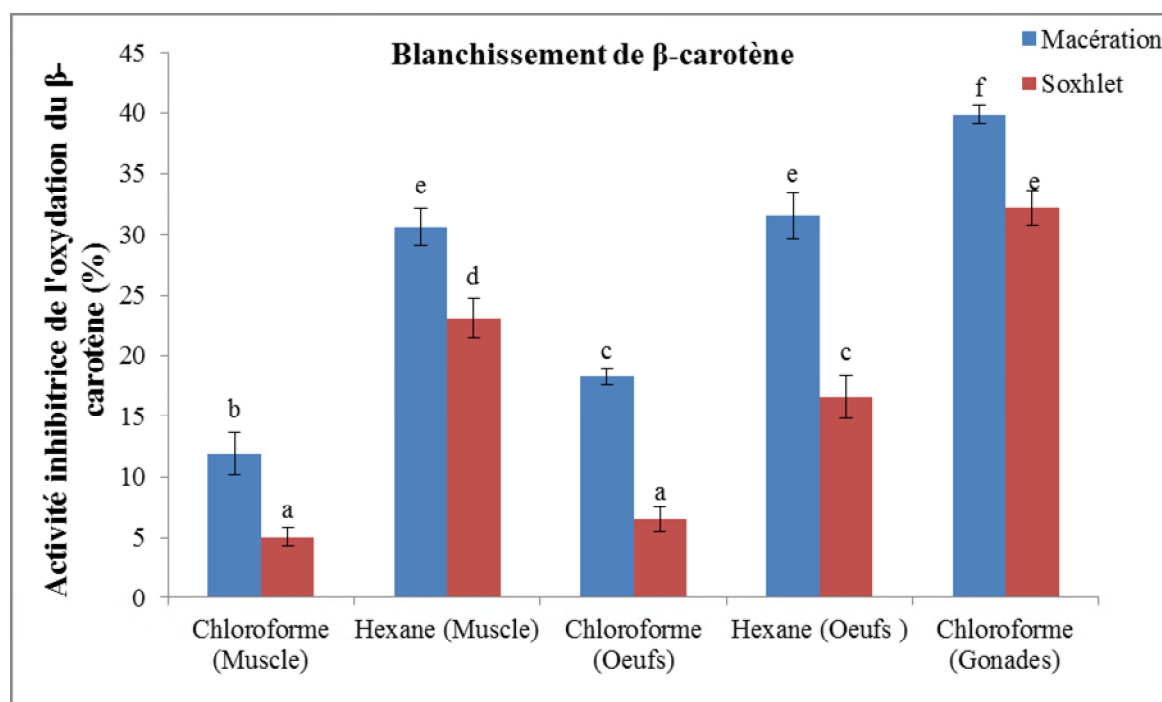


Figure 18: Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

L'activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène exercée par les différents extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, pourrait être liée à la qualité et à la nature des composés biochimiques des lipides contenus dans chaque extrait lipidique issus des trois organes

(muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*, qui peuvent modérer la dégradation du β -carotène causée par des réactions radicalaires. Cependant, des études récentes ont mis en évidence que la polarité et l'hydrophobicité des agents antioxydants sont des facteurs importants dans les systèmes de biomembranes (Terpinc *et al.*, 2009). C'est la raison par laquelle beaucoup de chercheurs de l'activité antioxydante choisissent le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplé à celle du β -carotène comme modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria *et al.*, 2006). En effet, toute substance chimique qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être considérée comme antioxydant.

Dans le système β -carotène/acide linoléique un autre paramètre semble intervenir; la polarité de l'extrait, Frankel et Meyer, 2000. ont proposé que les antioxydants apolaires exposent des propriétés antioxydantes plus importantes tel que les acides gras car ils sont concentrés au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi de prévenir la formation des radicaux lipidiques et l'oxydation du β -carotène. Alors que les antioxydants polaires restent dilués dans la phase aqueuse et sont ainsi moins efficaces dans la protection des lipides.

2-4 ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL HYDROXYLE

Le radical libre hydroxyle OH^\bullet est un composé très réactif. Il réagit avec de nombreuses espèces moléculaires qui se trouvent dans son voisinage tel que les lipides, entraînant ainsi de multiples dommages, il apparaît comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité par les radicaux libres (Guetteridge, 1993). Le test de l'activité scavenger du radical hydroxyle OH^\bullet est l'un des tests les plus communs pour évaluer la capacité du piégeage de ce dernier par les extraits, qui est basée principalement sur la dégradation du H_2O_2 en présence de métaux de transition sous leur forme réduite.

Les résultats obtenus à partir de ce test ont été regroupés dans la figure 19. L'analyse statistique de ces données, a révélé que tous les extraits lipidiques du poisson étudié, ont exercé un fort pouvoir inhibiteur du radical OH^\bullet , avec des pourcentages d'inhibitions compris entre 48 et 98%. Ces pourcentages présentent des différences significatives selon le solvant, la méthode d'extraction et l'organe testé.

L'importante activité scavenger du radical hydroxyle constatée dans le présent travail, pourrait résulter de la présence des molécules à activité antiradicalaire vis-à-vis de radical hydroxyle dans les extraits lipidiques des muscle, gonades et des œuf de *Mugil cephalus* tel que les vitamines, qui jouent un rôle important dans la protection des organismes vivants

contre la peroxydation lipidique, et les oligo-éléments tel que le sélénium qui est un agent antioxydant protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs, ces molécules se trouvent à des quantités plus importantes dans le tissu musculaire du poisson (Medale *et al.*, 2008).

Les extraits du muscle obtenus par macération et ceux des œufs obtenus par Soxhlet, en utilisant le même solvant d'extraction qui est l'hexane, ont donné le pourcentage de piégeage de radical hydroxyde le plus élevé avec des valeurs de 92 et 98%, respectivement. Les extraits chloroformiques des gonades obtenus par le Soxhlet et par macération, ont montré aussi une forte activité avec un pourcentage de piégeage de 90,58 et 85%, respectivement.

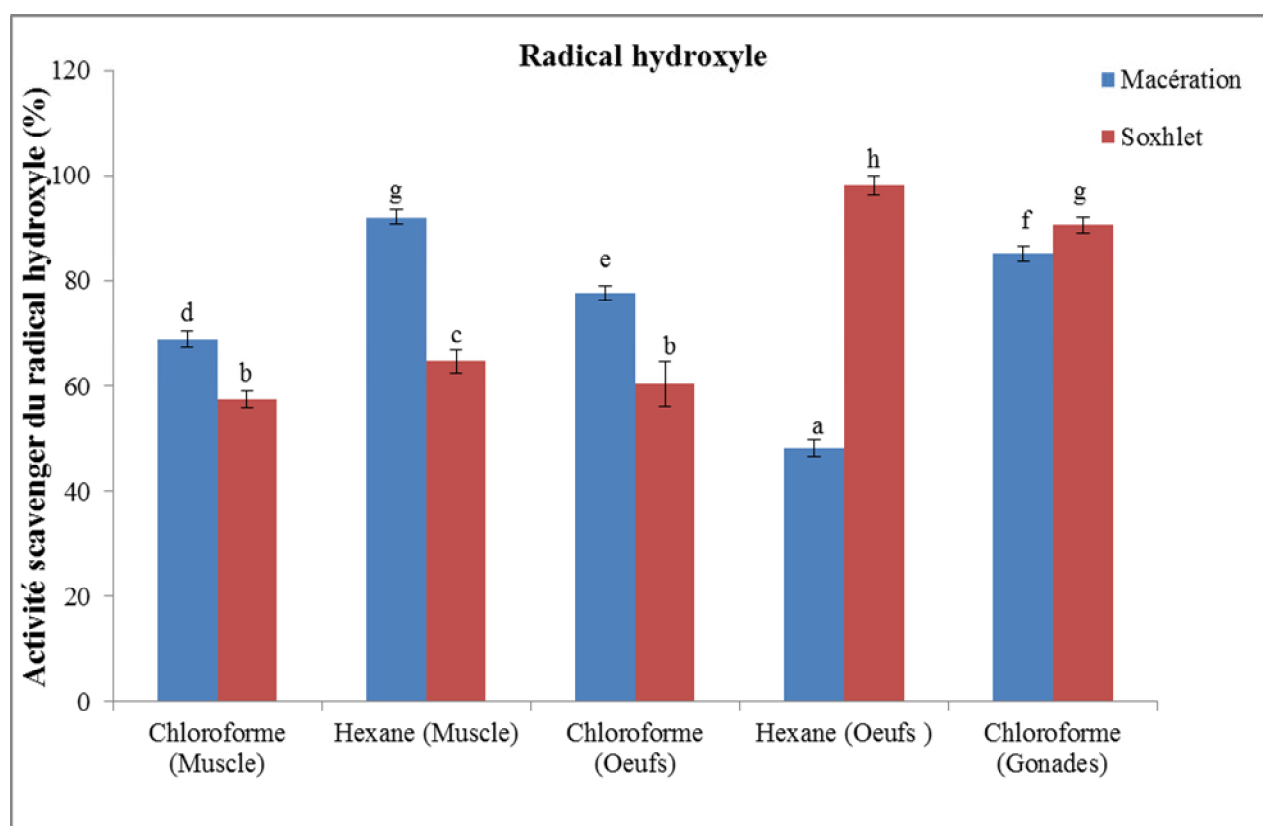


Figure 19 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité scavenger du radical hydroxyle des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Le pourcentage de piégeage le plus faible a été détecté avec l'extrait lipidique des œufs obtenu par macération en utilisant l'hexane, avec un pourcentage de 48%, suivi par les extrait lipidique du muscle obtenu en utilisant le chloroforme et le Soxhlet pour l'extraction avec un pourcentage de 57,5%, et par l'extrait des œufs préparé dans les mêmes conditions d'extraction, dont le pourcentage du piégeage est de 57%.

L'analyse globale des résultats de cette activité a montré que les extraits lipidiques des gonades présentent la plus grande capacité à piéger le radical hydroxyle.

2-5 ACTIVITE ANTIOXYDANTE TOTALE

Ce test est considéré comme un test direct utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, basé sur la capacité qu'a un extrait à donner un électron et à réduire l'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène MoO_2^+ . De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Tepe *et al.*, 2005).

L'analyse statistique des résultats de l'activité antioxydante totale du *Mugil cephalus* a montré que les extraits lipidiques étudiés ont présentés des différences significatives entre leurs activités réductrices du molybdates selon le solvant utilisé et la méthode suivie pour l'extraction et l'organe sélectionné pour extraire les lipides (Figure 20).

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits des trois organes du *Mugil cephalus* (muscle, œufs et gonades) ont exercé un pouvoir réducteur des ions molybdates, ceci pourrait s'expliquer par la présence de molécules présentant un potentiel réducteur dans le poisson *Mugil cephalus*.

L'étude statistique a montré que les extraits lipidiques du muscle préparés par la méthode soxhlet en utilisant les deux solvants d'extraction hexane et chloroforme, ont exercé l'activité réductrice du molybdate la plus élevée avec une absorbance moyenne de 1,00 et 0,92, respectivement. Suivi par les extraits chloroformiques des gonades obtenus en utilisant les deux méthodes d'extraction, le soxhlet et la macération, avec des absorbances moyennes de 0,77 et 0,67, respectivement.

Dans ce test tous les extraits des œufs ont montré une activité réductrice moins importante que celle exercée par les extraits du muscle et des gonades avec des absorbances moyennes allant de 0,12 à 0,30. Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence des molécules lipidiques ayant un potentiel réducteur plus fort dans les extraits lipidiques du muscle et des gonades du *Mugil cephalus* que celles des œufs.

La variation entre les activités antioxydantes totales des extraits lipidiques étudiés est en fonction de la nature et de la qualité des composants biochimiques des lipides (nombre et position des insaturations des acides gras) présents dans chaque extrait (Hsieh et kinsella, 1989).

L'analyse globale des résultats de l'activité antioxydante a montré que tous les extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, ont exercé une activité réductrice vis à vis des ions du fer et du molybdate et une activité antiradicalaire contre le radical synthétique DPPH, le radical hydroxyle et le radical peroxyde généré par l'oxydation de l'acide linoléique.

Les résultats de la présente étude ont révélé que les teneurs en lipides et les différentes activités réductrices et antiradicalaires du poisson testé, présentent des différences significatives selon le solvant et la méthode d'extraction et l'organe testé.

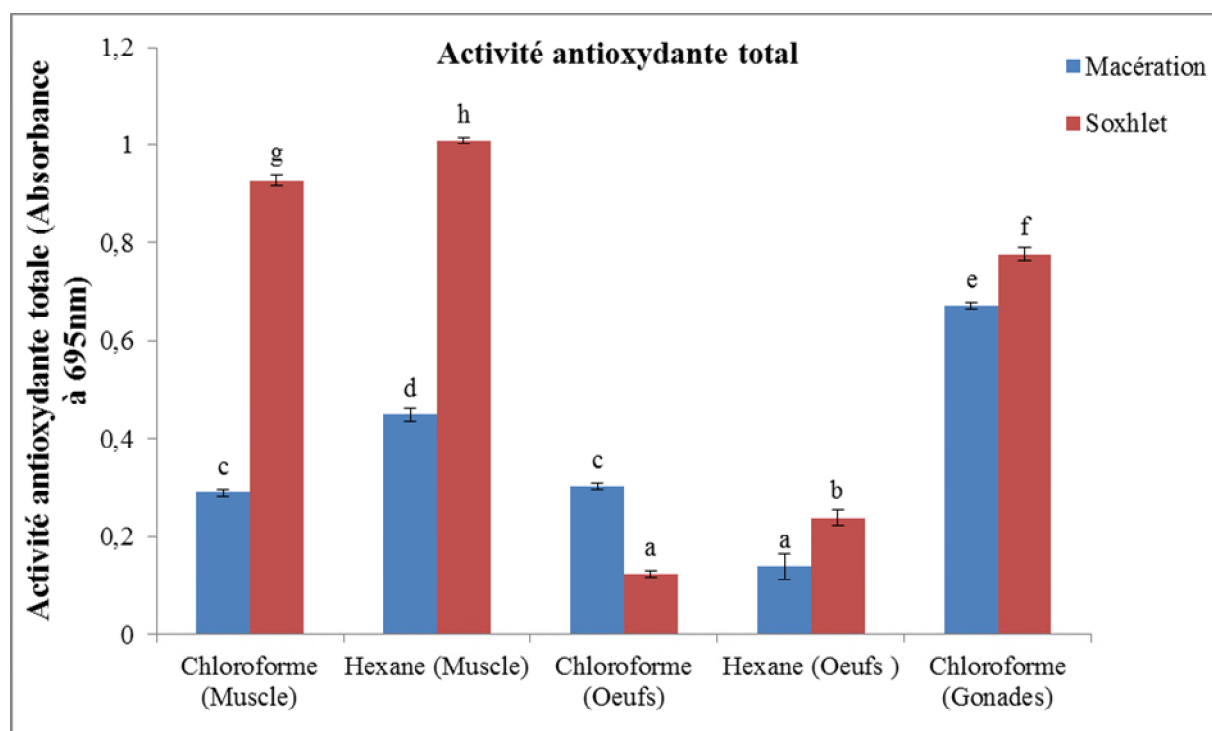


Figure 20 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante totale des lipides des organes (muscle, œufs et gonades) du poisson *Mugil cephalus*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Conclusion et Perspectives

CONCLUSION

Notre étude a été consacrée à la détermination de la teneur en lipides après leur extraction à partir de différents organes (muscle, œufs et gonades) du *Mugil cephalus*, en utilisant comme solvants d'extraction le chloroforme et l'hexane, par macération ou en utilisant le Soxhlet. Ainsi qu'à l'évaluation des activités antioxydantes de tous les extraits lipidiques obtenus, en appliquant plusieurs méthodes.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en lipides obtenues sont affectées par le solvant utilisé et la méthode appliquée pour l'extraction. L'analyse de ces résultats a révélé que les œufs du *Mugil cephalus*, obtenu en appliquant la méthode de Soxhlet et en utilisant le chloroforme pour l'extraction, ont présenté le rendement en lipides le plus élevé avec un taux de 34 %. Alors que le rendement le plus faible (16%) a été obtenu avec l'extrait lipidique du muscle obtenu par macération en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction.

Les résultats de la présente étude ont montré que l'activité antioxydante de tous les extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, ont exercé une activité réductrice vis à vis des ions du fer et du molybdate et une activité antiradicalaire contre le radical synthétique DPPH, le radical hydroxyle et le radical peroxyde généré par l'oxydation de l'acide linoléique.

L'étude statistique de l'activité antioxydante des extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, a révélé que les différentes activités réductrices et antiradicalaires du poisson testé, présentent des différences significatives selon le solvant et la méthode d'extraction utilisée et l'organe testé.

L'analyse des résultats de ce travail a révélé que la plus forte capacité de piégeage du radical DPPH (66,56%) a été présentée par l'extrait lipidique du muscle préparé par soxhlet en utilisant le chloroforme pour l'extraction.

L'étude de l'activité réductrice du *Mugil cephalus* a montré que l'extrait lipidique du muscle, obtenu par l'hexane en appliquant la technique Soxhlet pour l'extraction, a exercé le plus important pouvoir réducteur du fer et du molybdate, avec des absorbances moyennes de 0,5 et 1,0, respectivement.

La détermination de l'activité antioxydante du poisson étudié par le test de blanchissement du β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique, a montré que le meilleur pourcentage d'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène a été exercé par

l'extrait lipidique des gonades, préparé par macération en utilisant le chloroforme, avec un pourcentage d'inhibition de 39,85%.

L'évaluation de l'activité antiradicalaire vis-à-vis du radical hydroxyle a permis de révéler que l'extrait lipidique des œufs obtenus par soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction, avec un pourcentage d'inhibition de 98,16%.

L'analyse global des résultats de la présente étude a montré que la méthode la plus adéquate pour l'extraction des lipides du poisson étudié est le souvent le Soxhlet, la teneur lipidique la plus importante du poisson étudié se trouve au niveau de ses œufs, et la plus importante activité antioxydante a été présentée par le muscle du *Mugil cephalus*.

Les travaux réalisés nous permettent de dégager les perspectives suivantes :

- ✓ Etude de l'influence d'autres paramètres d'extraction sur les teneurs en lipides et leurs activités antioxydante.
- ✓ La détermination des composés actifs responsables de l'activité antioxydante du poisson *Mugil cephalus*.
- ✓ Evaluation des activités biologiques du *Mugil cephalus in vivo*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Ames, B.N., Cathcart, R., Schwiers, E. et Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78: 6858-6862.

Arabshahi-Delouee, Proceedings of the National Academy of Sciences S. and Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morusindica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102: 1233-1240.

B

Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9: 5-21.

Beaumont, A. et Cassier, P. (1998). *Biologie animal*. Troisième édition. Tom1. Paris: Dunod université. 954 p.

Beddih, M.L.A., El Cafsi, M., Marzouk, B., Zarrouk, K. et Romdhane, M.S. (2004). Etude comparative des lipides de la boutargue du mullet jaune (*Mugilcephalus*, Linné 1758) de l'Océan Atlantique : Nouakchott (Mauritanie) et de la Mer Méditerranéenne : Tunis (Tunisie). *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer*, 31 : 69-74.

Béguel, J.P., Huvet, A., Quillien, V., Lambert, C. et Fabioux, C. (2013). Study of the antioxidant capacity in gills of the Pacific oyster *Crassostreagigas* in link with its reproductive investment. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C*, 157: 63-71.

Bester, C. (2004). Ichthyology at the Florida Museum of Natural History. (On-line). Accessed 20/03/2016 at <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/StripedMullet/StripedMullet.html>.

Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P. et Delattre, J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. In Delattre, J., Durand, G. et Jardillier, J.C. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Paris : Médecine-sciences Flammarion. P. 59-81.

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. et Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelusmustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114:1198-1205.

Bourgeois, C. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. collection. Sciences et techniques agroalimentaires. Paris : Multon J.L. 708 p.

Buet, A., Barilloet, S. et Camilleri, V. (2002). Changes in oxidative stress parameters in fish as response to direct uranium exposure. *Radioprotection supplements*, 40: 151-155.

C

- Cadenas, E. (1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Review of Biochemistry*, 58: 79-110.
- Cadenas, E. et Davies, K.J.A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29: 222-230.
- Calder, P.C. (2004). N-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clinical science*, 107 (1): 1-11.
- Cardonna, L. (2000). Effect of salinity on the habitat selection and growth performance of Mediterranean flathead grey mullet *Mugilcephalus* (Osteichthyes, Mugilidae). *Estuarine, Coastal and shelf Science*, 50: 727-737.
- Castro, L. et Freeman, B.A. (2001). Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, 170: 161-165.
- Cillard J. et Cillard P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 13: 24-29.
- Collins, A. (2001). Carotenoids and genomic stability. *Mutation Research*, 475: 21-28.
- Costa, V. et Moradas-Ferreira, P. (2001). Oxydative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Aspects of Medicine*, 22: 217-246.

D

- Dastmalchi, K., Dorman, H.J.D., Kosar, M. et Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*.) extract. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 40: 239-248.
- Dumay, J. (2003). *Contribution à l'analyse de lipides issus de biomasses marines*, Travail de diplôme en vue de la recherche de molécules à activité biologique. Ecole Pratique des Hautes Etudes de Sorbonne, p.102.

E

- Eymard, S. et Genot, C. (2003). A modified xylenol orange method to evaluate formation of lipid hydroperoxides during storage and processing of small pelagic fish. *European Journal of Lipid and science technology*, 105: 497-501.

F

- FAO. (1985). Species identification sheets: MUGIL Vala 3. Indian Ocean: fishing area 51(W). 8 p.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologie humaines. *Annales pharmaceutique*, 64(6): 390-396.

Ferreira, I.C.F.R., Queiroz, M.J.R.P., Vilas-Boas, M., Estevinho, L.M., Begouin, A. and Kirsch, G. (2006). Evaluation of the antioxidant properties of diarylamines in the benzo [b] thiophene series by free radical scavenging activity and reducing power. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 16: 1384-1387.

Finkel, T. et Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408: 239-247.

Frankel, E.N. et Meyer, A.S. (2000). The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80:1925-1941.

G

Gutteridge, J.M.C. (1993). Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19: 141-1583.

H

Halliwell B. et Gutteridge J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth edition. Oxford: Oxford university Press. 707 p.

Halliwell, B. et Gutteridge, J.M. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press. 488 p.

Halliwell, B. et Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186: 1-85.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. et Arnoma, O.L. (1987). The deoxyribose method: A simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical. *Analytical Biochemistry*, 165: 215-219.

Hermes-Lima, M. (2005). Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K. B. Storey (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, NJ: Wiley-Liss, 319-368.

Housset, B. (1990). Aberrations du métabolisme et des acides nucléiques au cours du vieillissement. Rôle des radicaux libres. *La Revue de Médecine Interne*, 11: 62-66.

Hsieh, R. et Kinsella, J. (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food Research and Nutrition*, 33: 233-341.

Hu, W., Feng, Z., Eveleigh, J., Iyer, G., Pan, J., Amin, S., Chung, F.L. et Tang, M.S. (2002). The major lipid peroxidation product, *trans*-4-hydroxy-2-nonenal, preferentially forms DNA adducts at codon 249 of human p53 gene, a unique mutational hotspot in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 23: 1781-1789.

K

Kaschner, K., K. Kesner-Reyes, C., Garilao, J., Rius-Barile, T. R. et Froese. R. (2015). AquaMaps: Predicted range maps for aquatic species. World wide web electronic publication, www.aquamaps.org, Version 08/2015.

Kassem Al-sayed, M. (2007). Extraction, fractionnement et caractérisation des lipides polyinsaturés des œufs de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Travail du diplôme en vue de l'obtention du titre de docteur, spécialité procédés biotechnologique et alimentaire, institut national polytechnique de lorraine, P. 155.

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I.P., Simporé, J. et Nikiémaj, B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guierasenegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*, 32 (1- 2) : 9-23.

Kroyer, G. et Hegedus, H. (2001). Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2: 171-174.

L

Lall, S. (1995). Macro and trace elements in fish and shellfish. In :Ruiter, A. Fish and Fishery Products. Oxon (UK): CAB International. P. 187-213.

Leclaire, L. (1972). *La sédimentation holocène sur le versant méridional du bassin Algéro-Baléares*. Thèse doctorat d'état, Mémoires du muséum national d'histoire naturelle de Paris, p. 391.

Lecointre. G, Gallut. C, Chanet. B et Dattai, A. (2010). Du rififi chez les poissons. *Pour la science*, 390 : 56-63.

M

Margiela, M. (2012). Conso globe, l'encyclopédie du développement durable. (Online). Accessed 30/03/2016 at. [http:// www.encyclo-ecolo.com/Nouvelle_consommation](http://www.encyclo-ecolo.com/Nouvelle_consommation).

Médale, F. (2010). Pratiques d'élevage et qualité nutritionnelle des lipides des poissons. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 45(5): 267-273.

Médele, F., Leblanc, J.C. et Gros, P. (2008). Le poisson : quels enjeux pour sa consommation ? *La lettre scientifique de l'IFN (institut français pour la nutrition)*, (130) :1-20.

Milardovic , S., Ivekovic, D. et Grabaric, B.S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68: 175 -180.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mills, G.C. (1957). Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *The Journal of Biological Chemistry*, 229: 189-197.

Monaghan, B.R. et Schmitt, F.O. (1932). The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid. *The Journal of Biological Chemistry*, 96: 387-395.

Morel, L., Tian, X.H., Croker, B.P. et Wakeland, E.K. (1999). Epistatic modifiers of autoimmunity in a murine model of lupus nephritis. *Immunity*, 11: 131-139.

N

Nagendrappa, C.G. (2005). An appreciation of free radical chemistry-3 free radicals in diseases and health. *Resonance*, 10 (2): 65-73.

Nganguem, M. (2007). *Approche physico-chimique du pouvoir conservateur du sel: Cas du salage de Pseudotolithussenegalensis*. Maîtrise Professionnelle de Biotechnologie dans l'industrie agro-alimentaire del'université d'Abomey, p.11.

Nur Alam, M., Bristi, N. et Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, 21: 145-149.

O

Odum, W.E. (1966). *The food and feeding of the striped mullet, Mugilcephalus, in relation to the environment*. M.S. Thesis, Institute of Marine Sciences, University of Miami, Florida. p. 118.

P

Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J. et Huang, F. (2008). Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*DimocarpusLongan*Lour.) peel, *Food Chemistry*, 106: 1264-1270.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolique*, 16 : 233-239.

Prieto, P., Pineda, M. et Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *AnalyticalBiochemistry*, 269: 337-341.

Probiox. (2005). Le Stress Oxydant. consulté le 22/04/2016 : sur le lien : http://www.probiox.com/fr/html/body_stressoxydant.htm

R

Reiter, R.J., Tang, L., Garcia, J.J. et Munoz-Hoyos, A. (1997). Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *life science*, 60: 2255-2271.

S

- Sau, S.K., Paul, B.N., Mohanta, K.N. et Mohanty, S.N. (2004). Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeorohita*) fry. *Aquaculture*, 240 : 59-368.
- Schisler, N.J. et Singh, S.M. (1989). Effect of ethanol in vivo on enzymes which detoxify oxygen free Radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 7: 117-123.
- Seret, B. et Opic, P. (2011). *Poissons de mer de l'ouest africain tropicale*. Marseille : Institut de recherche pour le développement. 450 p.
- Siddhuraju, P. et Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata (L.) Walp*) seed extracts. *Food Chemistry*, 101: 10-19.
- Sun, T. et Ho, C.H. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 90: 743-749.

T

- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. et Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333-340.
- Terpinc, P., Bezjak, M. et Abramovic, H. (2009). A kinetic model for evaluation of antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*, 115: 740-744.
- Tessier, F. et Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science and Sports*, 10: 1-13.
- Texas Parks and Wildlife Department. (2005). (On-line). Accessed 05/02/2016 at <http://www.tpwd.state.tx.us/huntwild/wild/species/mullet/>.

Thénard, L.J. (1818). *Academie des Sciences, Traite de Chimie*. Paris : Crochard. 529 p.

V

- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncola, J., Izakovic, M. et Mazura, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 16 : 1-40.
- Villière, A. et Genot, C. (2006). Physico-chemical and olfactometric analysis of lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Oleagineux Corps Gras*, 13(2-3) : 152-159.

Y

- Yoshikawa, T., Yamamoto, Y. et Naito, Y. (2000). *Free radicals in chemistry, biology and medicine*. Londres: Oica International. 533 p.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J. et Harris, M. (2002). Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. *Food Chemistry*, 78: 457-461

Z

Zelko, I.N., Mariani, T.J. et Folz, R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3): 337-349.

Résumé

Notre étude a été consacrée à la détermination de la teneur en lipides après leur extraction à partir de différents organes (muscle, œufs et gonades) du poisson mulot, en utilisant comme solvants d'extraction le chloroforme et l'hexane, par macération ou en utilisant le Soxhlet. Ainsi qu'à l'évaluation des activités antioxydantes de tous les extraits lipidiques obtenus. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en lipides obtenues sont affectées par le solvant utilisé et la méthode appliquée pour l'extraction. L'analyse de ces résultats a révélé que les œufs du *Mugil cephalus* ont présenté le rendement en lipides le plus élevé, obtenu en appliquant la méthode de Soxhlet et en utilisant le chloroforme pour l'extraction. Les résultats de la présente étude ont montré que l'activité antioxydante de tous les extraits lipidiques du *Mugil cephalus*, ont exercé une activité réductrice vis à vis des ions du fer et du molybdate et une activité antiradicalaire contre le radical synthétique DPPH, le radical hydroxyle et le radical peroxyde généré par l'oxydation de l'acide linoléique. L'analyse global des résultats de la présente étude a montré que la méthode la plus adéquate pour l'extraction des lipides du poisson étudié est le souvent le Soxhlet, la teneur lipidique la plus importante du poisson étudié se trouve au niveau de ses œufs, et la plus importante activité antioxydante a été présentée par le muscle du *Mugil cephalus*.

Mots clés : *Mugil cephalus*, lipides, extraction, activité antioxydante.

Abstract

Our study was devoted to determinate the antioxidant activity of lipid extracted from different organs (muscle, eggs and gonads) of *Mugil cephalus*, following two different methods of extraction: maceration and Soxhlet, using two organic solvents in each one: chloroform and hexane. The results obtained show that the levels of lipids obtained are affected by the solvent and the method used for extraction. The analysis of these results showed that the eggs of *Mugil cephalus* present the higher yield of lipids, obtained by applying the Soxhlet method and chloroform solvent for the extraction. The results of this study showed that all lipid extracts of *Mugil cephalus*, exerted a reducing activity toward ions of iron and molybdate, and radical scavenging activity against the synthetic DPPH and hydroxyl radicals and peroxide radical generated by oxidation of linoleic acid. The overall analysis of the results of this study showed that the most appropriate method for the extraction of lipids of the studied fish is often the Soxhlet, the most important lipid content of the fish studied is at its eggs, also the most important antioxidant activity was presented by the muscle of *Mugil cephalus*.

Keywords: *Mugil cephalus*, lipids, extraction, antioxidant activity.

خلاصة

دراستنا هذه خصصت لتحديد نسبة الدهون بعد استخراجها من أعضاء مختلفة (العضلات والبيض والغدد التناسلية) من سمك البوري، وذلك باستخدام المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والهكسان، بتطبيق طريقة النقع أو باستخدام السوكسليت وكذلك تقييم نشاط المضاد للأكسدة في جميع مقتطفات الدهون المتحصل عليها. تظهر النتائج أن مستويات الدهون التي تم الحصول عليها تتأثر حسب المذيبات المستعملة والطريقة المستخدمة لاستخراجها. تحليل هذه النتائج أظهرت أن بيض *Mugil cephalus* يملك نسبة عالية من الدهون و التي تم الحصول عليها من خلال تطبيق أسلوب سوكسليت واستخدام الكلوروفورم. نتائج هذه الدراسة أظهرت أن جميع المستخلصات الدهنية لسمك *Mugil cephalus*، تمارس نشاطا ارجاعيا لأيونات الحديد والكربونات، كما تمارس نشاط الكسح الجذري ضد الجذرالبيروكسيلي والجذرالبيروكسيدي وكذلك جذر DPPH. كما ظهر التحليل الشامل لنتائج هذه الدراسة أن أنسب طريقة لاستخراج الدهون لدى الأسماك غالبا ما يكون السوكسليت، وأهم مصدر للدهون لدى الأسماك يتواجد علي مستوى بيوضها، كما أظهرت أن عضلات *Mugil cephalus* هي أهم مقر للنشاط المضاد للأكسدة .

كلمات البحث: *Mugil cephalus*، الدهون، عملية الاستخراج، النشاط المضاد للأكسدة