

Republique Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDRAHMANE MIRA de Béjaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Magister En Microbiologie Appliquée
Thème

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 confervoides et Ulva lactuca
de la cote de Béjaia

Présenté par: M^{elle} SAIDANI Karima

Devant le jury:

M ^r BENALLAOUA S.	Professeur (UAMB)	Président
M ^{me} BENABDESSELEM F.	Maitre de conférences A (UAMB)	Examinatrice
M ^r IGUEROUADA M.	Professeur (UAMB)	Examineur
M ^{me} BEDJOU F.	Maitre de conférences A (UAMB)	Promoteur
M ^r BALA EI-H.	Maitre de conférences A (UAMB)	Co-promoteur

2009/2010

Republique Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDRAHMANE MIRA de Béjaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Magister En Microbiologie Appliquée

Thème

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 confervoides et Ulva lactuca
de la cote de Béjaia

Présenté par: M^{elle} SAIDANI Karima

Devant le jury:

M ^r BENALLAOUA S.	Professeur (UAMB)	Président
M ^{me} BENABDESSELEM F.	Maitre de conférences A (UAMB)	Examinatrice
M ^r IGUEROUADA M.	Professeur (UAMB)	Examineur
M ^{me} BEDJOU F.	Maitre de conférences A (UAMB)	Promoteur
M ^r BALA EI-H.	Maitre de conférences A (UAMB)	Co-promoteur

2009/2010

Remerciements

Un agréable merci à tous ceux que je ne peux pas tous citer qui à un moment ou un autre, m'ont prodigué des conseils scientifiques, fourni une aide matérielle et technique, ou tout simplement humaine.

J'adresse toute ma reconnaissance à Ma promotrice M^{me} BEDJOU F. pour la liberté qu'elle m'a accordée dans la prise d'initiatives, pour la confiance qu'elle m'a témoignée et pour sa disponibilité, ses efforts et ses encouragements qui m'ont permis de mener à bien cette étude.

J'aimerai remercier aussi mon co-promoteur Mr BALA EI-H., d'avoir proposé ce projet et donc de m'avoir fait découvrir les algues.

Je tiens à exprimer ma gratitude, mon profond respect et mes remerciements aux membres de jury: Mr BENALLAOUA S. qui m'a fait honneur par sa présence en qualité de président de jury, M^{me}. BENABDESSELAM F. et Mr IGUEROUADA M. qui ont accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré de leur temps pour son évaluation.

Mes chaleureux remerciements vont également à Mr MOUSSLI pour avoir identifié mes algues et à Mr BEKDOUCHE, Mr SAHNOUNE et M^{lle} TOUATI pour leurs conseils et leur aide dans l'étude statistique.

J'aimerai aussi remercier Mr TAMANDJARI, Mr ATMANI et Mr ZAIDI, de m'avoir ouvert les portes de leurs laboratoires et qui m'ont permis de manipuler en tout aise.

Je souligne ma reconnaissance aux enseignants Mr Belhadi J., M^m Garout A., M^{lle} Bendali F., M^{lle} Ayouni K., M^{lle} Berboucha M., M^{lle} Lounis H., M^{lle} Chahir N., M^m Atmani D. M^{lle} Bougoufa K., M^{lle} Khemtèche S. pour leur aide, leurs précieux conseils, leur gentillesse et leur disponibilité.

L'ensemble des enseignants ayant contribué de près ou de loin à ma formation qu'ils trouvent à travers ces lignes l'expression de ma plus grande considération.

Mes vifs remerciements s'adressent aux techniciens et aux ingénieurs des laboratoires du bloc 12 (Karima, Salima, Nouara et Farouk) ainsi qu'au responsable de l'animalerie (Djamel) pour leurs très grandes aides.

Je ne remercierai jamais assez l'équipe de la récolte des échantillons d'algues marines: Mrs Tabli O., Moukrani S., Madi N., Sadi H., Bakli A. M^{lles} Touati N., Lincer F., Bakli S., Yousfi N. et Keramane B.

En fin je tiens à remercier mes collègues de travail Slimane, Nassim, Mohamed Khadidja et Karima pour leur inestimable aide et leur esprit d'équipe. Un immense merci s'adresse à mes copines Naima T., Sabrina B. et firdaousse L. avec elles j'ai partagé les moments les plus difficiles dans la réalisation de cette étude.

Un grand merci à tous !

Je dédie ce mémoire:

A la mémoire de ma tante Nora

A mes parents et mes grands-parents

A ma chère tante Khadidja

A mes frères

A tous les membres de ma famille

A tous mes ami(e)s

Sommaire

Liste des abréviations

Table des illustrations

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Algues marines

I.1.	Définition et position dans le règne végétal.....	3
I.2.	Distribution et classification.....	3
I.3.	Composition chimique.....	4
I.4.	Principales utilisations.....	5
I.4.1.	Utilisation alimentaire.....	7
I.4.2.	Utilisation industrielle	8
I.4.3.	Utilisation agricole.....	8
I.4.4.	Utilisations médicale et pharmaceutique.....	10

Chapitre II: Composés phénoliques

II.1.	Biosynthèse.....	11
II.2.	Structure et classification.....	13
II.2.1.	Principales classes de composés phénoliques.....	13
II.2.1.1.	Acides phénoliques.....	13
II.2.1.2.	Flavonoïdes.....	14
II.2.1.3.	Tannins.....	16
II.2.1.3.1	Tannins hydrolysables.....	16
II.2.1.3.2.	Tannins condensés.....	17
II.3.	Composés phénoliques des algues marines.....	17
II.3.1.	Polyphénols halogénés.....	17
II.3.2.	Phlorotannins.....	18
II.4.	Activités biologiques des composés phénoliques.....	20
II.4.1.	Activité antimicrobienne.....	20
II.4.1.1.	Mode d'action.....	20
II.4.1.1.1.	Acides phénoliques.....	20
II.4.1.1.2.	Flavonoïdes.....	21
II.4.1.1.3.	Tannins.....	22
II.4.2.	Activité antioxydante.....	23
II.4.2.1.	Espèces réactives de l'oxygène et le stress oxydant.....	23
II.4.2.2.	Mode d'action.....	25
II.4.2.2.1.	Acides phénoliques.....	25

II.4.2.2.2.	Flavonoïdes.....	26
II.4.2.2.3.	Tannins.....	27

Partie expérimentale: Matériel et méthodes

I.	Matériel végétal.....	28
II.	Extraction des composés phénoliques.....	30
III.	Dosages des composés phénoliques des extraits méthanoliques.....	30
III.1.	Dosage des phénols totaux.....	30
III.2.	Dosage des flavonoïdes.....	30
III.3.	Dosage des tannins.....	31
III.3.1.	Préparation des réactifs.....	31
III.3.2.	Formation du complexe protéine-tannins.....	31
III.3.3.	Détermination des tannins dans le complexe protéine-tannins.....	31
IV.	Activité antimicrobienne.....	32
IV.1.	Souches tests.....	32
IV.2.	Standardisation des inocula bactériens.....	32
IV.3.	Evaluation de l'effet antimicrobien.....	33
IV.3.1.	Antibiogrammes.....	33
IV.3.2.	Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	33
IV.3.3.	Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB).....	34
IV.3.4.	Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine <i>Rhodomela confervoides</i> à l'égard de <i>S. aureus</i> sur milieu liquide.....	34
V.	Activité antioxydante.....	35
V.1.	Pouvoir réducteur.....	35
V.2.	Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	35
V.3.	Activité scavenger du radical DPPH.....	36
VI.	Etude statistique.....	37

Partie expérimentale: Résultats et discussions

I.	Taux d'extraction et dosage des composés phénoliques.....	38
I.1.	Taux d'extraction des composés phénoliques.....	38
I.2.	Dosage des composés phénoliques.....	39
I.2.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	39
I.2.2.	Dosage des flavonoides.....	41
I.2.3.	Dosage des tannins.....	43
II.	Activité antimicrobienne.....	44
II.1.	Antibiogrammes.....	44
II.1.1.	Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif.....	44
II.1.2.	Activité antibactérienne à l'égard des Gram négatif.....	45
II.1.3.	Activité antifongique.....	52

II.2.	Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).....	57
II.3.	Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine <i>Rhodomela confervoides</i> à l'égard de <i>S. aureus</i> sur milieu liquide.....	62
III.	Activité antioxydante.....	63
III.1.	Pouvoir réducteur.....	63
III.2.	Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	64
III.3.	Activité scavenger du radical DPPH.....	65
	Conclusion	70
	Références bibliographiques	72
	Annexes	
	Glossaire	

Liste des abréviations

4CL: p-Coumarate CoA ligase
ACoAC: Acétyl CoA carboxylase
ADN: Acide **d**ésoxyribo-**n**ucléique
AG: Acide **g**allique
AOX: Antioxydant
AT: Acide **t**annique
ATCC: American Type Culture Collection
ATF: Antifongique
BA2H: Acides **b**enzoïque **2-h**ydroxylase
BHA: **B**utylhydroxy**a**nisol
BHT: **B**utylhydroxy**t**oluène
BP: **B**romophénol
BSA: Sérum Albumine Bovine
C₄H: Cinnamate **4-h**ydroxylase
CA-SFM: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
Cat: Catéchine
Cg: Catéchine **g**allate
CMI: Concentration Minimal Inhibitrice
CMB: Concentration Minimal Bactéricide
CLIP: Collection *Listeria* Institut Pasteur
COMT-1: Acides caféique O-**m**éthyltransférase
DBP: **D**ibromophénol
DPPH: 2,2-**D**iphényl-1-**p**icrylhydrazyle
EC: Epicatéchine
ECg: Epicatéchine **g**allate
EGC: Epigallocatechine
EGCg: Epigallocatechine **g**allate
Eq: Equivalent
ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène
FAS-I, II: Fatty acid synthase I, II
FSH: Ferulate **5-h**ydroxylase
Gt: Galloyl transférase
Gyr: Gyrase
IC₅₀: Concentration Inhibitrice à 50%
INCT: Institut National de Cartographie et de Télédétection
LMA: Laboratoire de Microbiologie Appliquée
NAR: Nalidixic Acid Resistant
NT: Non Testé
PG: Propylgallate
PLP: Protéines Liant la Pénicilline
Que: Quercétine
RL: Radicaux Libres

SARM: *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline

SDS: Sodium Dodécyl Sulfate

TBHQ: Tert-butylhydroquinone

TBP: Tribromophénol

TEA: Triéthanolamine

UAMB: Université Abderrahmane Mira de Béjaia

UFC: Unité Formant Colonie


UV-Vis: Ultraviolet-Visible

Liste des figures

Figure 1	Quelques structures chimiques des métabolites des algues marines.....	6
Figure 2	Photographie de quelques algues marines d'importance industrielle	9
Figure 3	Biosynthèse des composés phénoliques.....	12
Figure 4	Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 5	Structure chimique du 2,4,6-Tribromophenol.....	18
Figure 6	Structure chimique de lanosol.....	18
Figure 7	Structure de base de phlorotannins et de quelques phlorotannins.....	18
Figure 8	Espèces réactives de l'oxygène produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental	24
Figure 9	Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées.....	28
Figure 10	Photographies des espèces d'algues marines récoltées.....	29
Figure 11	Structure chimique du DPPH' et DPPH ₂	36
Figure 12	Représentation graphique du taux de polyphénols totaux dans les extraits d'algues marines étudiées	40
Figure 13	Représentation graphique du taux des tannins dans les extraits.....	43
Figure 14	Photographies de quelques zones d'inhibition obtenues par les extraits méthanoliques	56
Figure 15	Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine <i>Rhodomela confervoides</i> à l'égard de <i>S. aureus</i> sur milieu liquide.....	62
Figure 16	Représentation graphique du pouvoir réducteur des extraits d'algues marines étudiées et de quelques standards	63
Figure 17	Représentation graphique du pourcentage scavenger du peroxyde d'hydrogène par les extraits d'algues marines étudiées et de quelques standards.....	65
Figure 18	Activité scavenger du radical DPPH par les extraits d'algues marines étudiées à différentes concentrations.....	67
Figure 19	Activité scavenger du radical DPPH par les standards testés à différentes concentrations	67

Liste des tableaux

Tableau I	Les trois divisions d'algues et leurs pigments correspondants.....	4
Tableau II	Liste de certaines algues marines alimentaires.....	7
Tableau III	Liste de certaines algues marines exploitées commercialement et les hydrocolloïdes correspondants.....	9
Tableau IV	Les différentes classes de composés phénoliques.....	13
Tableau V	Structures de quelques polyphénols principaux.....	15
Tableau VI	Quelques composés phénoliques des algues marines avec leurs espèces productrices.....	19
Tableau VII	Maladies chroniques et aiguës caractérisées par un stress oxydatif accru, et thérapies génératrices de stress oxydatif.....	24
Tableau VIII	Caractéristiques botaniques des quatre espèces d'algues marines récoltées.....	29
Tableau IX	Tableau représentatif des différentes souches microbiennes testées.....	32
Tableau X	Taux d'extraction des composés phénoliques des algues marines étudiées	38
Tableau XI	Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des algues marines étudiées	46
Tableau XII	Activité antibactérienne de quelques standards polyphénols.....	47
Tableau XIII	Activité antifongique des extraits méthanoliques des algues marines étudiées.....	53
Tableau XIV	Activité antifongique de quelques standards polyphénols et d'un antifongique	54
Tableau XV	Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits d'algues marines étudiées sur les souches bactériennes testées.....	58
Tableau XVI	Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des standards polyphénols utilisés sur les souches bactériennes testées.....	58
Tableau XVII	Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits d'algues marines étudiées sur les souches fongiques testées.....	58
Tableau XVIII	Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des standards polyphénols et d'un antifongique utilisés sur les souches fongiques testées.....	58
Tableau XIX	Les IC ₅₀ des extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées et de quelques standards.....	67



Introduction

Introduction

En raison d'une demande croissante dans la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle, il ya un grand intérêt pour les organismes marins, spécialement les algues (**Gonzalez del Val et al., 2001**). Ces derniers sont riches en métabolites qui peuvent être des composés bioactifs (**Tüney, 2006; Al-Mola, 2009; Rajasulochana et al., 2009a**). Ce sont donc une source potentielle et prometteuse d'agents pharmaceutiques (**Genovese et al., 2009**).

Harder (1917) fut le premier à mettre en évidence des substances antimicrobiennes sécrétées par les algues (**Salvador et al., 2007; Shanmughapriya et al., 2008**). Toutefois, les agents antimicrobiens dans les extraits d'algues ne sont explorés que depuis les années 1950 (**Kajiwara et al., 2006**). De nombreuses espèces d'algues marines possèdent des substances bactéricides ou bactériostatiques. Parmi ces substances les terpènes, les phlorotannins, les stéroïdes, les composés phénoliques, les cétones et les alcanes halogénés, les polysulfures cycliques, les acides gras et l'acide acrylique (**Mtolera et Semesi, 1996; Taskin, 2007; Shanmughapriya et al., 2008; Patra et al., 2009**).

Les algues marines sont exposées à la lumière et à l'oxygène qui entraînent la formation de radicaux libres (RL) et d'autres agents oxydants (**Dykens et al., 1992; Ahn et al., 2004; Nahas et al., 2007; Zubia et al., 2007; Matanjun et al., 2008; Zubia et al., 2009**). Toutefois, l'absence de dommages oxydatifs dans les composants structurels (acides gras polyinsaturés) des algues et leur stabilité à l'oxydation lors du stockage suggèrent que leurs cellules possèdent des systèmes de défense antioxydants (**Nahas et al., 2007; Zubia et al., 2007; Matanjun et al., 2008; Zubia et al., 2009**).

De nombreux produits, ayant des propriétés antioxydantes, sont largement utilisés afin de minimiser les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans des cellules vivantes et de prévenir la dégradation oxydative des aliments (**Abd El-Baky et al., 2008**). Les antioxydants les plus largement utilisés sont synthétiques: propylgallate (PG), le butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) et le tert-butylhydroquinone (TBHQ) (**Senevirathne et al., 2006; Sreenivasan et al., 2007; Faten et Emad, 2009**). Cependant, ils sont soupçonnés d'être responsables des dommages du foie et de la cancérogenèse (**Senevirathne et al., 2006; Cho et al., 2007; Sreenivasan et al., 2007; Abd El-Baky et al., 2008; Faten et Emad, 2009**). Ainsi, un intérêt renouvelé pour la préservation

naturelle semble être stimulé par des préoccupations de sécurité alimentaire actuelle. Une augmentation de la production d'aliments peu transformés (**Kajiwara et al., 2006**), la diminution de l'efficacité et la résistance aux antibiotiques ont nécessité le développement de nouvelles alternatives (**Choudhury et al., 2005; Kandhasamy et Arunachalam, 2008**).

Il existe peu de données et d'études évaluant le potentiel antimicrobien et antioxydant des algues marines en Algérie. L'objectif du présent travail est de mettre en évidence *in vitro* les propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* de la cote de Béjaia (Algérie).

- ✓ La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique sur les algues marines, ainsi qu'un aperçu sur les composés phénoliques en général et ceux des algues marines en particulier. Les activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante) de ces composés sont aussi évoquées.
- ✓ La seconde partie du manuscrit est consacrée à la partie expérimentale, à savoir:
 - Extraction des composés phénoliques à partir des espèces d'algues marines récoltées;
 - Dosage des composés phénoliques de ces extraits;
 - Evaluation de leurs activités antimicrobiennes;
 - Evaluation de leurs activités antioxydantes.
- ✓ Enfin la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

A decorative rectangular frame with a double-line border and ornate corner flourishes. The text is centered within this frame.

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Algues marines

Les algues marines sont des plantes primitives qui poussent en abondance dans des eaux de mers allant jusqu'à 180 mètres de profondeur, dans les estuaires et dans les eaux stagnantes (Kumar *et al.*, 2009; Manivannan *et al.*, 2009). Les algues sont utilisées depuis longtemps comme nourriture, engrais et en médecine comme source de médicaments (Manivannan *et al.*, 2008; Shanmugam et Palpandi, 2008; Manivannan *et al.*, 2009). L'utilisation des algues marines dans l'alimentation humaine fait partie du style de vie de plusieurs pays d'Extrême-Orient et du pacifique, notamment au Japon. En moyenne, les Japonais consomment 1,4 kg d'algues par personne annuellement (Burtin, 2003; Ganesan *et al.*, 2008; Karacalar et Turan, 2008). Aujourd'hui les algues sont la matière première pour de nombreuses productions industrielles comme l'agar, les alginates et les carraghénanes (Manivannan *et al.*, 2008; Shanmugam et Palpandi, 2008; Manivannan *et al.*, 2009), mais elles continuent à être largement consommées comme aliments dans les pays asiatiques (Manivannan *et al.*, 2008; Manivannan *et al.*, 2009).

I.1. Définition et position dans le règne végétal

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

I.2. Distribution et classification

La masse principale de la végétation marine est formée par les algues (Naegelé et Naegelé, 1967). Quelques genres seulement de Phanérogames, de Bryophytes et de Lichens, participent pour une part relativement faible, au peuplement végétal des milieux aquatiques (Gayral, 1975). Les algues marines peuvent être planctoniques (Naegelé et Naegelé, 1967; Gayral, 1975; Barsanti et Gualtieri, 2006; Barsanti *et al.*, 2008), comme c'est le cas des

espèces microscopiques qui, passives ou douées de mobilité, se maintiennent en flottaison dans l'eau et constituent le phytoplancton (Gayral, 1975).

Elles peuvent être benthiques (Naegelé et Naegelé, 1967; Gayral, 1975; Barsanti et Gualtieri, 2006; Barsanti *et al.*, 2008), ce sont des algues de plus grandes tailles, flottantes ou fixées, constituant l'essentiel de la végétation benthique (phytobenthos) (Gayral, 1975). Les algues benthiques peuvent pousser sur des pierres (épilithiques), sur la boue ou du sable (épipeliques), sur d'autres plantes (épiphytes) ou sur des animaux (épizootiques) (Barsanti et Gualtieri, 2006; Barsanti *et al.*, 2008).

Les algues marines sont retrouvées dans les divisions Chlorophyta (algues vertes), Phaeophyta (algues brunes) et Rhodophyta (algues rouges) (Gayral, 1975; Polat et Ozogul, 2008; Kumar *et al.*, 2009; Manivannan *et al.*, 2009), différenciées par leur composition pigmentaire (Gayral, 1975) et par les caractères morphologiques et anatomiques (Manivannan *et al.*, 2009). Le tableau I représente les pigments correspondant à chaque division d'algue.

Tableau I: Les trois divisions d'algues et leurs pigments correspondants (Davis *et al.*, 2003).

Division	Pigment
Chlorophyta	Chlorophylle a,b; α -, β - et γ -carotènes et plusieurs xanthophylles.
Phaeophyta	Chlorophylle a,c; β -carotène et fucoxanthine et plusieurs autres xanthophylles
Rhodophyta	Chlorophylle a (quelque Florideophyceae); R- et C-phyco cyanine, allophyco cyanine; R- et B-phycoérythrine. α - et β -carotène et plusieurs xanthophylles.

I.3. Composition chimique

L'analyse chimique des algues a révélé qu'elles comportent des éléments divers et parmi eux beaucoup de protéines (60 à 70% des substances azotées) et des hydrates de carbone (40 à 60%) (Naegelé et Naegelé, 1967). Les algues sont riches en minéraux et oligoéléments tels que sodium, potassium, zinc, manganèse, fer, brome et iode. Elles sont aussi une excellente source de vitamines A, B₁, C, D E, riboflavine, niacine, acide pantothénique, acide folique et la vitamine B₁₂ (Dhargalkar et Pereira, 2005; Marfaing et Lerat, 2007; Dhargalkat et Verlecar, 2009). La figure 1 donne quelques structures chimiques des métabolites des algues marines.

Les métabolites bioactifs de la flore marine comprennent des phénols bromés (1-5), des hétérocycles oxygénés (6 et 7), des hétérocycles azotés (8), des hétérocycles azotés soufrés, des stérols (15-19), des terpènes, des polysaccharides (21-23), des peptides et des protéines (**Bhakuni et Rawat, 2005**). Vingt pour cent de ces composés sont produits par les macroalgues, avec près de 3000 produits, dont plus de la moitié de leurs métabolites secondaires sont des terpènes, stéroïdes, caroténoïdes, quinines prénylées, et hydroquinones formant la classe des isoprénoïdes, et environ un quart de composés sont des polyketides (**Maschek et Baker, 2008**).

La teneur en nutriments varie avec les espèces, la localisation géographique, la saison et la température (**Manivannan et al., 2008; Shanmugam et Palpandi, 2008; Kumar et al., 2009; Manivannan et al., 2009**). Les algues montrent de grandes variations du contenu en éléments nutritifs qui sont liés à plusieurs facteurs environnementaux tels que la température de l'eau, la salinité, la lumière et les nutriments. Ces paramètres varient en fonction de la saison et des changements des conditions écologiques pouvant stimuler ou inhiber la biosynthèse de plusieurs nutriments (**Manivannan et al., 2009**).

I.4. Principales utilisations

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

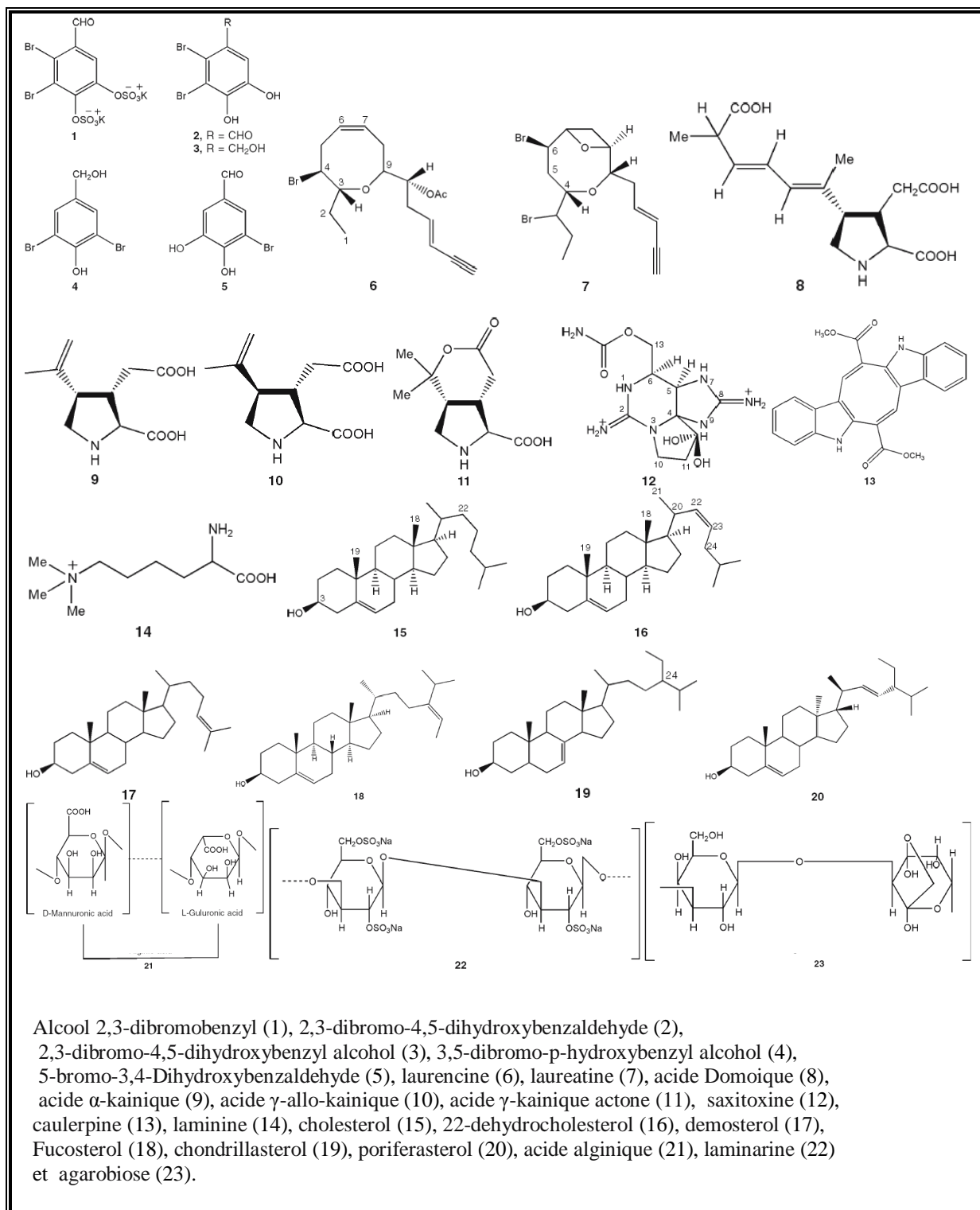


Figure 1: Quelques structures chimiques des métabolites des algues marines (Bhakuni et Rawat, 2005).

I.4.1. Utilisation alimentaire

Les algues sont consommées en Asie depuis l'aube de l'humanité (**Burtin, 2003; Marfaing et Lerat, 2007**). En Occident, cette consommation directe d'algues est plus récente. Des études épidémiologiques menées en Asie mettent en évidence une incidence plus faible des cancers du sein, du côlon et de la prostate liée à la consommation régulière d'algues. Ces résultats seraient en faveur du rôle possible de facteurs nutritionnels multiples, en particulier liés à la présence simultanée dans les algues de différents nutriments comme les protéines, polysaccharides plus ou moins sulfatés, minéraux et oligoéléments mais également métabolites secondaires tels que les polyphénols, caroténoïdes, stérols et bêtaïnes (**Marfaing et Lerat, 2007**). La France est le premier pays européen à établir une réglementation spécifique concernant l'utilisation des algues pour la consommation humaine en tant que substances alimentaires non traditionnelles (**Burtin, 2003**). Le tableau II représente quelques algues marines comestibles.

Tableau II: Liste de certaines algues marines alimentaires (**Barsanti et Gualtieri, 2006**).

Nom scientifique	Nom commun	Classe
<i>Chondrus crispus</i>	Pioca	Floridophyceae
<i>Porphyra spp.</i>	Nori/Laber/Zicai	Bangiophyceae
<i>Palmaria palmata</i>	Dulse	Floridophyceae
<i>Callophyllis variegata</i>	Carola	Floridophyceae
<i>Asparagopsis taxiformis</i>	Limu kohu	Floridophyceae
<i>Gigartina spp.</i>	Botelhas	Floridophyceae
<i>Gracilaria coronopifolia</i>	Limu manauea	Floridophyceae
<i>Gracilaria parvisipora</i>	Ogo	Floridophyceae
<i>Gracilaria verucosa</i>	Ogonori	Floridophyceae
<i>Sargassum echinocarpum</i>	Limu kala	Pheophyceae
<i>Dictyopteris plagiogramma</i>	Limu lipoa	Pheophyceae
<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakamé	Pheophyceae
<i>Laminaria spp.</i>	Kombu	Pheophyceae
<i>Nereocystis spp.</i>	Algue noire	Pheophyceae
<i>Hizikia fusiforme</i>	Hiziki/Hijiki	Pheophyceae
<i>Alaria esculenta</i>	Oniwakamé	Pheophyceae
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Mozuku	Pheophyceae
<i>Codium edule</i>	Limu wawal'iole	Bryopsidophyceae
<i>Enteromorpha prolifera</i>	Limu 'ele'ele	Ulvophyceae
<i>Ulva fasciata</i>	Limu palahalaha	Ulvophyceae
<i>Caulerpa lentillifera</i>	Limu Eka	Charophyceae
<i>Monostroma nitidum</i>	Aonori	Ulvophyceae

I.4.2. Utilisation industrielle

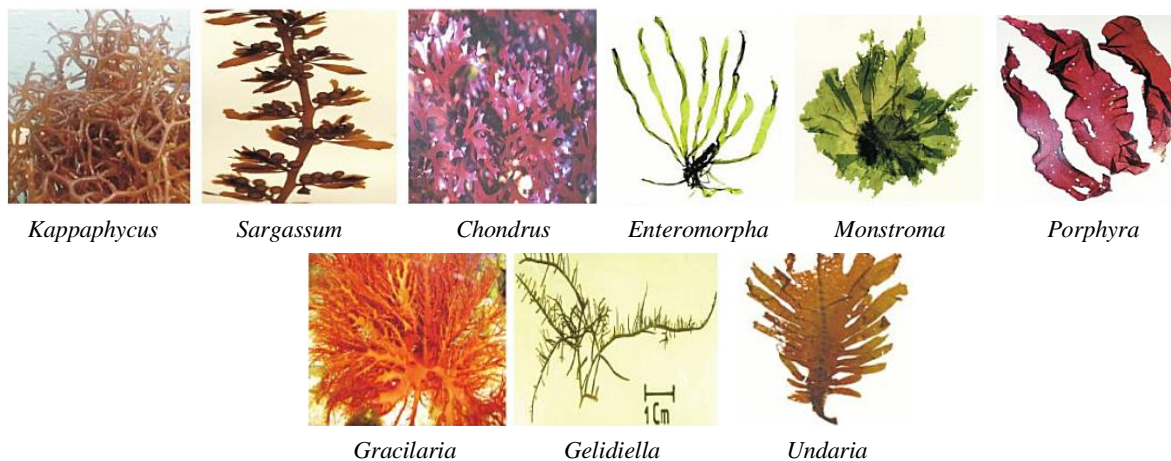
Si les algues sont utilisées à l'état naturel comme produit final pour l'alimentation et l'agriculture, c'est surtout leurs dérivés qui ont pris un immense intérêt industriel: ce sont les alginates, l'agar-agar et les carraghénanes (**Naegelé et Naegelé, 1967**). La forte affinité de ces polysaccharides à l'eau, les a qualifiés d'hydrocolloïdes (**Venugopal, 2009**). Ils sont extraits de différentes macroalgues rouges et brunes (**Naegelé et Naegelé, 1967; Barsanti et Gualtieri, 2006; Venugopal, 2009**). Ces hydrocolloïdes jouent un rôle important comme agents gélifiants, épaississants, texturants, stabilisants et émulsifiants (**Venugopal, 2009**). Le tableau III et la figure 2 représentent certaines algues marines commerciales.

I.4.3. Utilisation agricole

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

Tableau III: Liste de certaines algues marines exploitées commercialement et les hydrocolloïdes correspondants (Barsanti et Gualtieri, 2006).

Nom scientifique	Classe	Hydrocolloïde
<i>Gracilaria chilensis</i>	Floridophyceae	Agar
<i>Ahnfeltia plicata</i>	Floridophyceae	Agar/Carraghénanes
<i>Gelidium lingulatum</i>	Floridophyceae	Agar
<i>Pterocladia spp.</i>	Floridophyceae	Agar
<i>Hypnea spp.</i>	Floridophyceae	Agar
<i>Chondrus crispus</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Gigartina canaliculata</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Mazzaella laminaroides</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Sarcothalia crispata</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Eucheuma denticulatum</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Iridaea spp.</i>	Floridophyceae	Carraghénanes
<i>Laminaria hyperborea</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Laminaria digitata</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Laminaria japonica</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Laminaria saccharina</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Durvillea potatorum</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Ecklonia spp.</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Lessonia nigrescens</i>	Phaeophyceae	Alginate
<i>Lessonia trabiculata</i>	Phaeophyceae	Alginate

**Figure 2:** Photographie de quelques algues marines d'importance industrielle (Rao *et al.*, 2009).

I.4.4. Utilisations médicale et pharmaceutique

Les pays maritimes ont eu recours aux algues comme vermifuge, anesthésique et pommade pour le traitement de la toux, des blessures, la goutte et le goitre (**Dhargalkar et Pereira, 2005**). Sur le marché pharmaceutique environ 40 médicaments sont déjà fabriqués à partir de matières chimiques d'algues. En ce qui concerne l'agar-agar son usage est répandu dans la préparation de milieux de cultures nécessaires pour la microbiologie. Il est aussi employé avec succès dans le traitement de la constipation. Le carraghénane est administré contre les irritations du tube digestif et dans le cas d'une dysenterie. En pharmacologie, il est employé comme agent émulsionnant dans l'homogénéisation des huiles et comme l'agar, c'est un hémostatique efficace. L'alginate comme le carraghénane, joue un rôle dans la prévention des ulcères. Un médicament appelé communément « mousse de corse » est connu pour son usage comme excellent vermifuge contre les oxyures et les ascaris (**Naegelé et Naegelé, 1967**).

Chapitre II: Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un groupe de composés chimiques existant à la fois dans les plantes terrestres et dans les macrophytes aquatiques (**Toth et Pavia, 2001; Koivikko et al., 2008**). Ils sont synthétisés au cours du développement normal ainsi qu'en réponse aux conditions du stress telles que les infections, les blessures entre autres les rayonnements UV (**Naczk et Shahidi, 2004; Naczk et Shahidi, 2006**). Ils présentent dans leurs structures au moins un cycle aromatique lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (**Hennebelle et al., 2005**). Ils constituent un groupe de produits phytochimiques très diversifié (**Naczk et Shahidi, 2004; Naczk, 2006**), avec plus de 8000 variantes structurales, allant de molécules simples, telles que les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés, comme les tannins condensés (**Bravo, 1998; Martin et Andriantsitohaina, 2002; Lugasi et al., 2003; Rahman et al., 2006**). Les composés phénoliques, ne sont pas libres, ils se trouvent généralement sous forme d'esters, liés aux acides organiques, ou de glycosides, liés aux sucres (**Crozier et al., 2006; Vermerris et Nicholson, 2006**).

II.1. Biosynthèse

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies (**Bravo, 1998; Lugasi et al., 2003**):

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples;
- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones.

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**). La figure 3 illustre la biosynthèse des composés phénoliques.

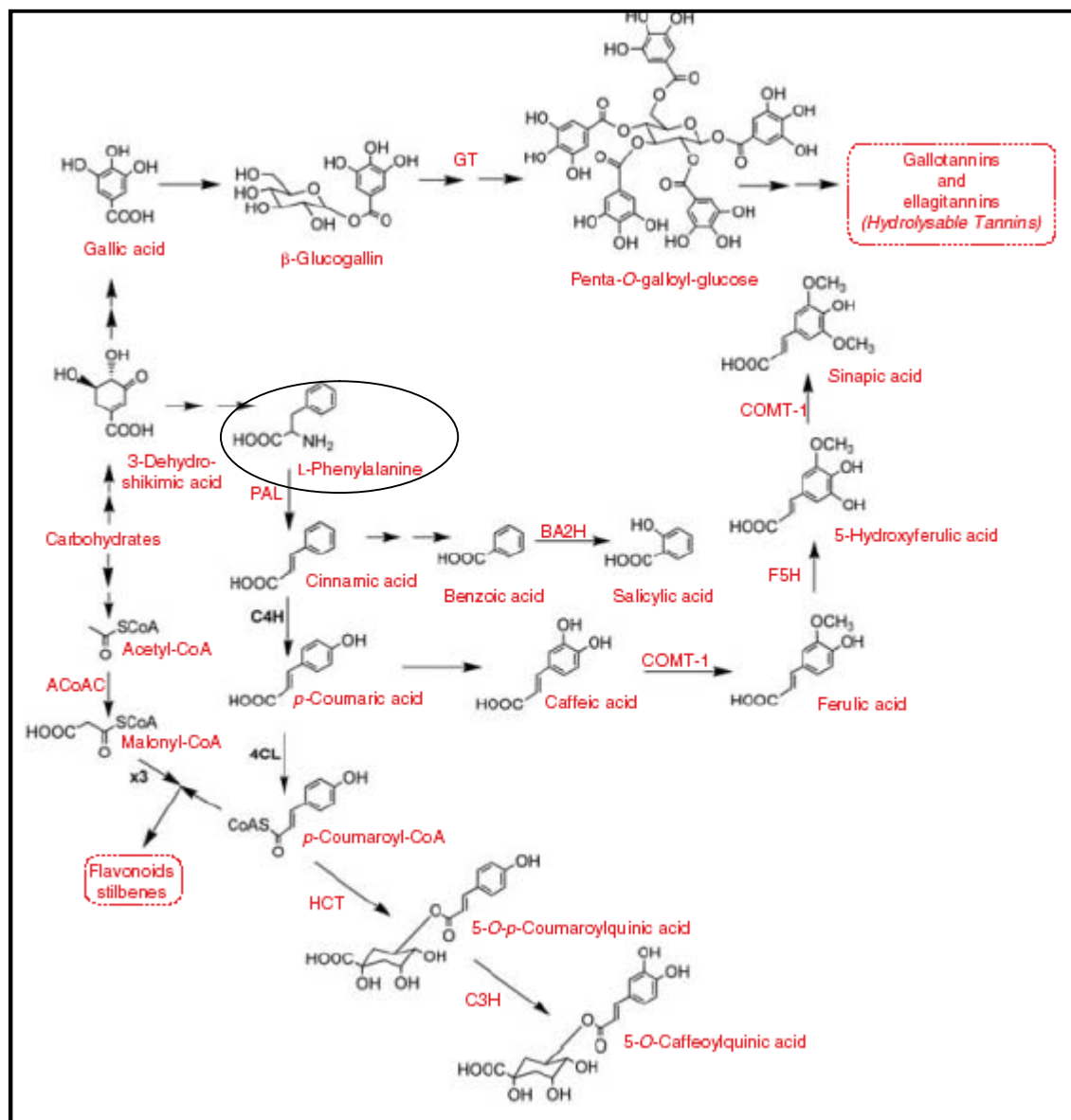


Figure 3: Biosynthèse des composés phénoliques (Crozier *et al.*, 2006).

4CL: p-Coumarate CoA ligase.

ACoAC: Acétyl CoA carboxylase.

BA₂H: Acides benzoïque 2-hydroxylase.

C₄H: Cinnamate 4-hydroxylase.

COMT-1: Acides caféique O-méthyltransférase.

F₅H: Ferulate 5-hydroxylase.

Gt: Galloyl transférase.

II.2. Structure et classification

Les composés phénoliques sont classés en groupe principal (tableau IV) qui se distingue par le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure du squelette de base (**Robards *et al.*, 1999; Michalak, 2006**). Les structures chimiques des principaux composés phénoliques sont représentées dans le tableau V.

Tableau IV: les différentes classes de composés phénoliques (**Balasundram *et al.*, 2006**).

Classe	Structure
Phénols simples, benzoquinones	C6
Acides hydroxybenzoïque	C6-C1
Acéthophenones, acides phenylacétique	C6-C2
Acides hydroxycinnamiques, phenylpropanoïdes (coumarins, isocoumarins, chromones, chromènes)	C6-C3
Napthoquinones	C6-C4
Xanthones	C6-C1-C6
Stilbenes, anthraquinones	C6-C2-C6
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6-C3-C6
Lignanes, neolignanes	(C6-C3) ₂
Biflavonoïdes	(C6-C3-C6) ₂
Lignines	(C6-C3) _n
Tannins condensés (proanthocyanidines ou flavolanes)	(C6-C3-C6) _n

II.2.1. Principales classes de composés phénoliques

II.2.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont subdivisés en deux groupes principaux, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Bravo, 1998; Balasundram *et al.*, 2006; Liu, 2007**):

Les hydroxybenzoates ont une structure générale de C6-C1 provenant de l'acide benzoïque. La variation dans la structure de chacun des acides hydroxybenzoïque réside dans les hydroxylations et les méthylations des cycles aromatiques (**Häkkinen, 2000**). Ils incluent les acides vanillique, syringique, p-hydroxybenzoïque et gallique (**Bravo, 1998; Balasundram *et al.*, 2006; Liu, 2007**). Ils sont souvent présents sous forme liée, généralement ce sont des composés de structures complexes comme les lignines et les tannins hydrolysables. Ils peuvent également dériver des sucres et acides organiques (**Liu, 2007**).

Les hydroxycinnamates (C6-C3) sont issus de la voie des phénylpropanoïdes (Crozier *et al.*, 2006). Les plus courants sont les acides p-coumarique, caféique et férulique (Bravo, 1998; Balasundram *et al.*, 2006; Crozier *et al.*, 2006; Liu, 2007). Ils sont présents principalement sous forme liée, par des liaisons ester, à des éléments structuraux de la paroi cellulaire tels que la cellulose, la lignine et les protéines (Liu, 2007). Ils représentent donc l'un des principaux groupes de composés phénoliques végétaux (Bravo, 1998).

II.2.1.2. Flavonoïdes

Le terme «flavonoïdes» est généralement utilisé pour décrire une très large gamme de produits naturels (Marais *et al.*, 2006) formés dans les plantes à partir des acides aminés aromatiques, la phénylalanine et la tyrosine, et du malonate (Pietta, 2000). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés (Erlund, 2004) qui comprennent un squelette de carbone C6-C3-C6, ou plus précisément une fonction phenylbenzopyrane (Marais *et al.*, 2006). Ils se composent de deux cycles benzéniques (A et B), qui sont reliés par un cycle pyrane (C) contenant de l'oxygène (Figure 4) (Erlund, 2004).

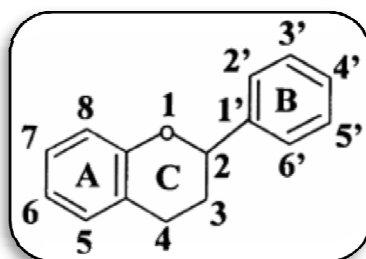
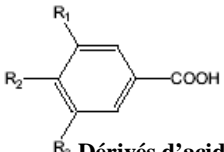
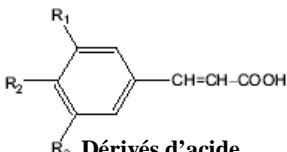
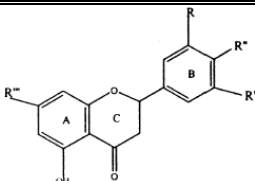
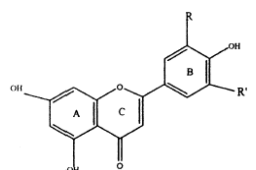
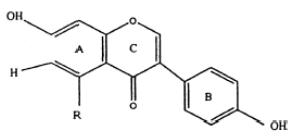
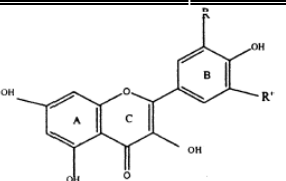
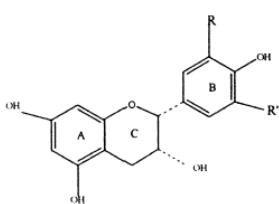
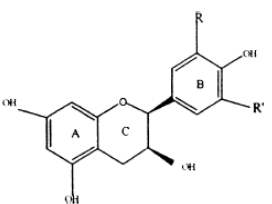
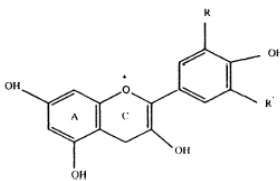
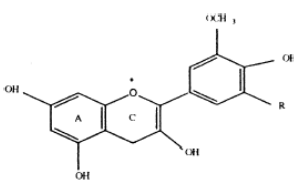
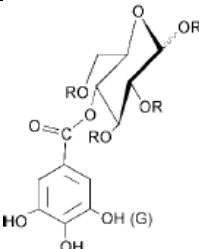
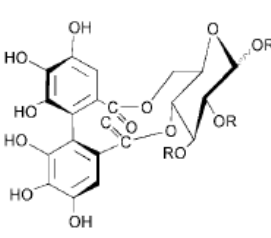
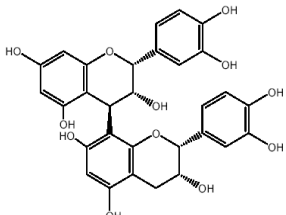
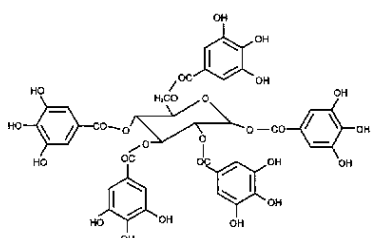


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes se retrouvent sous forme d'aglycones, des glycosides et des dérivés méthylés (Heim, 2002). Leur modification se fait par hydroxylation, méthylation, O-glycosylation des groupements hydroxyles ainsi que par C-glycosylation de l'atome de carbone du squelette flavonoïde (Stobiecki et Kachlicki, 2006).

Les différentes classes de flavonoïdes diffèrent par le degré d'oxydation et les modèles de substitution dans le cycle C (Pietta, 2000), dans l'emplacement du cycle aromatique B aux positions C-2 ou C-3 du cycle C (Stobiecki et Kachlicki, 2006). Des composés de la même classe diffèrent dans le modèle de substitution des cycles A et B (Pietta, 2000; Balasundram *et al.*, 2006). Ces substitutions peuvent impliquer l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (Balasundram *et al.*, 2006).

Tableau V: Structures de quelques polyphénols principaux.

 <p>Dérivés d'acide benzoïque</p> <p>$R_1=R_2=R_3=H$; acide benzoïque $R_1=R_3=H, R_2=OH$; acide p-hydroxybenzoïque $R_1=H, R_2=R_3=OH$; acide protocatechuique $R_1=CH_3O, R_2=OH, R_3=H$; acide vanillique $R_1=CH_3O, R_2=OH, R_3=CH_3O$; acide syringique $R_1=R_2=R_3=OH$; acide gallique</p>		 <p>Dérivés d'acide cinnamique</p> <p>$R_1=R_2=R_3=H$; acide cinnamique $R_1=R_3=H, R_2=OH$; acide p-coumarique $R_1=OH, R_2=R_3=H$; acide caféique $R_1=CH_3O, R_2=OH, R_3=H$; acide ferulique $R_1=CH_3O, R_2=OH, R_3=CH_3O$; acide sinapique</p>	
Liu, 2007			
 <p>Flavanone $R=R_1=H, R_{11}=R_{111}=OH$; Naringénine $R=OH, R_1=H, R_{11}=R_{111}=OH$; Eriodyctiol $R=R_1=OH, R_{11}=R_{111}=OH, 5-OH$; Eriodyctiol</p>	 <p>Flavones $R=R_1=H$; Apigénine $R=OH, R_1=H$; Lutéoline $R=R_1=OCH_3$; Tricétine</p>	 <p>Isoflavones $R=OH$; Genesteine $R=H$; Daidzeine</p>	 <p>Flavonols $R=R_1=H$; Kaempferol $R=OH, R_1=H$; Quercétine $R=R_1=OH$; Myricétine</p>
 <p>Flavanols $R=OH, R_1=H$; (-)-Epicatechine $R=R_1=OH$; (-) Epigallocatechine $R=OH, R_1=H$; (+)-Catechine $R=R_1=OH$; (+)-Galocatechine</p>	 <p>Flavanols $R=OH, R_1=H$; (+)-Epicatechine $R=R_1=OH$; (+) Epigallocatechine $R=OH, R_1=H$; (-)-Catéchine $R=OH, R_1=H$; (-)-Galocatechine</p>	 <p>Anthocyanidines $R=OH, R_1=H$; Cyanidine $R=R_1=OH$; Deiphinidine $R=R_1=OCH_3$; Malvidine $R=R_1=H$; Pelargonidine</p>	 <p>Anthocyanidines $R=H$; Peonidine $R=OH$; Petunidine</p>
Aruoma et al., 2003			
 <p>Gallotannin (Khanbabaee et Ree, 2001)</p>	 <p>Ellagitannin</p>	 <p>Procyanidine B₂ (Vermerris et Nicholson, 2006)</p>	 <p>Acide tannique (Bravo, 1998)</p>

Les flavonoïdes sont généralement classés en 3-hydroxyflavonoïdes (flavonols, anthocyanidines, leucoanthocyanidines, et catéchines) et en 3-désoxyflavonoïdes (flavanones et flavones) (Erlund, 2000). Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment: la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine (Ghedira, 2005).

II.2.1.3. Tannins

Le terme « tannins » a été utilisé à l'origine pour décrire des substances végétales capables de transformer des peaux d'animaux en cuirs (Cowan, 1999; Khanbabaee et Ree, 2001; Bennick, 2002; Koivikko, 2008; Rahim et Kassim, 2008). Aujourd'hui, le terme est largement utilisé pour décrire un sous-groupe de composés phénoliques qui sont produits sous forme de métabolites secondaires, par une multitude d'espèces végétales diversifiées. Leur poids moléculaire est de plus de 500 Daltons, ils sont solubles dans l'eau avec la capacité de précipiter les protéines (Hagerman *et al.*, 1998; Cowan, 1999; Toth et Pavia, 2001; Bennick, 2002; Koivikko *et al.*, 2005; Koivikko, 2008).

Les tannins sont généralement divisés en trois groupes chimiques distincts en fonction de leurs structures: les tannins hydrolysables, les tannins condensés et le troisième, groupe le moins connu, représenté par les phlorotannins (Hagerman *et al.*, 1998; Toth et Pavia, 2001; Chen et Hagerman, 2004a,b; Balasundram *et al.*, 2006; Koivikko, 2008).

II.2.1.3.1. Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un acide phénol (Hagerman et Bulter, 1989; Derbel et Ghedira, 2005). Ces métabolites peuvent se condenser, par oxydation, à d'autres molécules galloyl hexahydroxydiphenique formant ainsi des polymères de haut poids moléculaire (Bravo, 1998). Comme leur nom l'indique, ces tannins sont facilement hydrolysés par les acides, les alcalins, l'eau chaude et par l'action enzymatique, ce qui donne l'alcool polyhydrique et l'acide phénylcarboxylique (Bravo, 1998; Bennick, 2002). Selon la nature de ce dernier, les tannins hydrolysables peuvent être subdivisés en gallotannins, qui sont dérivées à partir de l'acide gallique, ou ellagitannins, qui sont issus de l'acide hexahydroxydiphenique (Bravo, 1998; Bennick, 2002; Rahim et Kassim, 2008).

Le plus connu des tannins hydrolysables est l'acide tannique, qui est un gallotannin composé d'une molécule de glucose pentagalloyl estérifié avec cinq unités d'acide gallique (**Bravo, 1998**).

II.2.1.3.2. Tannins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des oligomères ou des polymères dont l'unité est un flavan-3-ol (catéchine et épicatechine). La condensation oxydative se produit entre le carbone C-4 de l'hétérocycle et les carbones C-6 ou C-8 des unités adjacentes (**Bravo, 1998; Khanbabae et Ree, 2001; Vermerris et Nicholson, 2006; Rahim et Kassim, 2008**). L'hydrolyse des tannins condensés par chauffage dans l'acide produit des anthocyanes (**Hagerman et Bulter, 1989; Bennick, 2002; Vermerris et Nicholson, 2006**). Les tannins condensés les plus fréquemment décrits ont un poids moléculaire d'environ 5000 Da, bien que, des polymères à poids moléculaire supérieur à 30,000 Da ont été décrits (**Bravo, 1998; Bennick, 2002**).

II.3. Composés phénoliques des algues marines

II.3.1. Polyphénols halogénés

De nombreux composés bromés simples et complexes sont retrouvés dans l'environnement marin. Ces bromophénols (BP) sont des produits naturels dont les principaux constituants sont le 2,4-dibromophénol (2,4-DBP) et le 2,4,6-tribromophénol (2,4,6-TBP) (figure 5) (**Hassenklover et Bickmeyer, 2006**). Les producteurs primaires de 2,4-DBP et le 2,4,6-TBP sont les algues marines qui sont connues pour leurs composition en bromophénols simples synthétisés sous forme de métabolites secondaires (**Flodin et Whitfield, 1999; Hassenklover et Bickmeyer, 2006**).

Les algues rouges sont de grands producteurs de composés halogénés (**Maschek et Baker, 2008**). Les plus courants sont les haloterpènes suivi par les mono et les oligobromophénols (**Retz de Carvalho et Roque, 2004**). L'étude bibliographique a révélé que les algues marines rouges appartenant à la famille des Rhodomelaceae sont riches en composés phénoliques, en particulier les bromophénols (**Retz de Carvalho et Roque, 2004; Zhao et al., 2004; Oh et al., 2008; Wang et al., 2009**). Les algues marines vertes quant à elles sont connues pour leurs productions de composés similaires à ceux des algues rouges, mais sans halogénéation importante (**Maschek et Baker, 2008**).

L'algue marine *Ulva lactuca* contient une concentration très élevée en bromophénols (**Flodin et whitfield, 1999**) (2-BP, 4-BP, 2,4-DBP, 2,6-DBP (**Gribble, 2000**) et spécialement 2,4,6-TBP) (**Flodin et whitfield, 1999; Gribble, 2000**). Les bromophénols C-7 dihydroxyliques sont presque exclusivement détectés chez certaines espèces des ceramiales. Le plus largement distribué d'entre eux est le 2,3-dibromo-4,5-alcool dihydroxybenzyl (lanosol) (figure 6) retrouvé aussi chez quelques espèces d'algues brunes. Ils sont limités aux genres *Halopithys*, *Polysiphonia*, *Odonthalia*, *Rhodomela* et *Vidalia* et ne sont jamais retrouvés chez d'autres genres, comme *Laurencia* et *Chondria* (**Retz de Carvalho et Roque, 2004**).

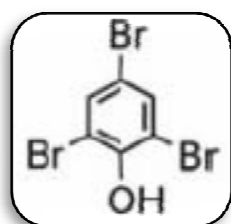


Figure 5: Structure chimique du 2,4,6-tribromophénol (**Crozier et al., 2006**).

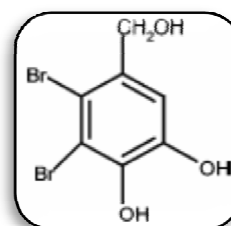


Figure 6: Structure chimique de lanosol (**Retz de Carvalho et Roque, 2004**).

II.3.2. Phlorotannins

Les phlorotannins représentent un sous-groupe de tannins répandus seulement chez les algues brunes (**Pavia et Toth, 2000; Koivikko et al., 2005; Koivikko et al., 2008; Maschek et Baker, 2008; Wang et al., 2008**), ils sont entièrement produits par une polymérisation d'unités de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzène) (**Targett et al., 1995; Arnold and Targett, 1998; Koivikko et al., 2005; Iken et al., 2007; Iken et al., 2009**) qui est un produit de la voie d'acétate-malonate (**Targett et al., 1995; Koivikko et al., 2005; Athukorala et al., 2006**). La taille des molécules de phlorotannins est très variable, allant jusqu'à plus de 650 kDa (**Targett et al., 1995; Wei et al., 2003**). Les phlorotannins sont classés en six groupes selon les variations de leur assemblage à partir de la polymérisation d'unités de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzène) (Figure 7): Fucols, phlorethols, fucophlorethols, fuhalols, isofuhalols et eckols qui diffèrent par le nombre de groupes hydroxyle et la nature chimique des liaisons (**Maschek et Baker, 2008**).

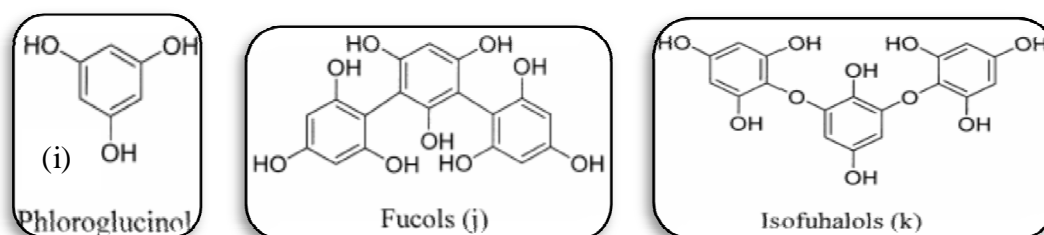
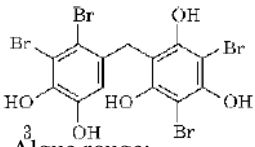
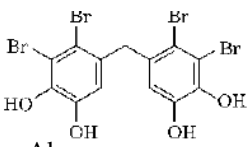
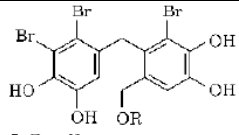
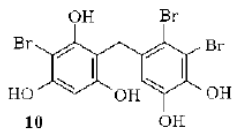
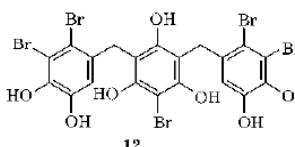
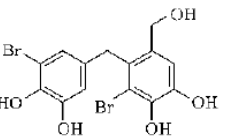
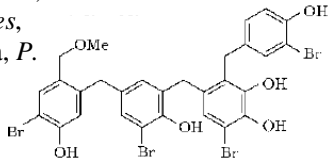
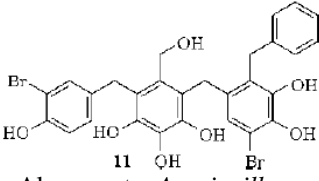
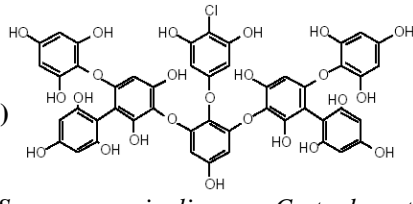
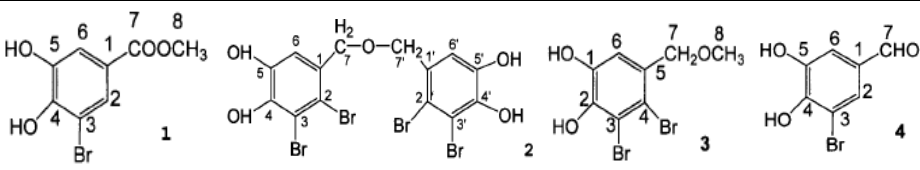
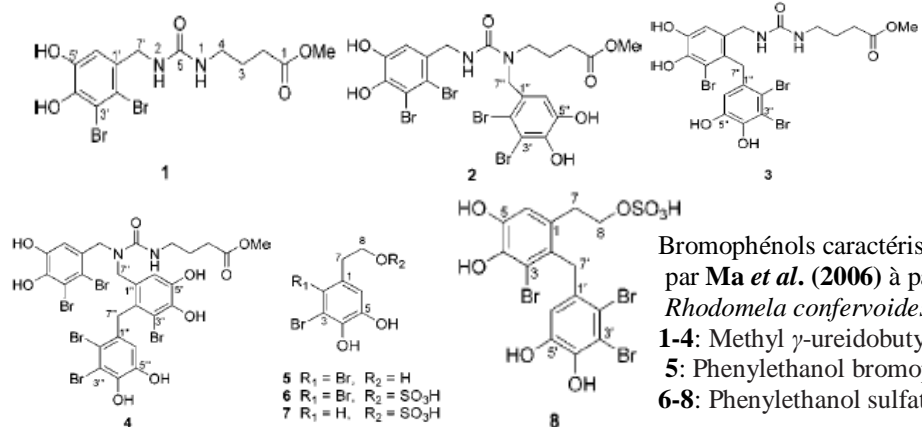


Figure 7: Structure de base de phlorotannins (i) et de quelques phlorotannins (**Maschek et Baker, 2008**).

Certains composés phénoliques d'algues marines sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI: Quelques composés phénoliques des algues marines avec leurs espèces productrices.

 <p>3 Algue rouge: <i>Rytiphlea tinctoria</i></p>	 <p>Algue rouge: <i>Rytiphlea tinctoria</i></p>	 <p>5. R = H 6. R = Me Algue rouge: R=H; <i>Rhodomela larix</i>. R=OH; <i>Rhodomela larix</i>, <i>Polysiphonia nigrescens</i>, <i>Rhodomela confervoides</i>, <i>Polysiphonia urceolata</i>, <i>P. brodiaei</i></p>	 <p>10 Algue rouge: <i>Vidalia obtusiloba</i>; Vidalols A</p>
 <p>12 Algue rouge: <i>Vidalia obtusiloba</i>; Vidalols B</p>	 <p>Algue verte: <i>Avrainvillea nigicans</i> ; 5'-hydroxyisoavrainvilleol</p>		 <p>Algue verte: <i>Avrainvillea rawsoni</i>; rawsonol</p>
 <p>11 Algue verte: <i>Avrainvillea rawsoni</i> ; isorawsonol</p>	 <p>(Dembitsky et Tolstikov, 2003) Algue brune: <i>Sargassum spinuligerum</i>, <i>Cystophora torulosa</i> ; chlorobisfucopentaphlorethol-A (Gribble, 2000)</p>		
 <p>Quatres bromophénols caractérisés par Lijun et al. (2005) à partir d'une algue rouge <i>Rhodomela confervoides</i> ; 1: Acid methyl ester 3-bromo-4, 5-dihydroxy benzoïque; 2: 2,3-dibromo-4, 5-dihydroxybenzyl; 3: 3, 4-dibromo-5-(methoxymethyl)- 1,2- benzenediol; 4: 3-bromo-4,5-dihydroxy- benzal-dehyde.</p>			
 <p>Bromophénols caractérisés pour la première fois par Ma et al. (2006) à partir d'une algue rouge <i>Rhodomela confervoides</i>. 1-4: Methyl γ-ureidobutyrate; 5: Phenylethanol bromophenol; 6-8: Phenylethanol sulfate bromophenols.</p> <p>5 R₁ = Br, R₂ = H 6 R₁ = Br, R₂ = SO₃H 7 R₁ = H, R₂ = SO₃H</p>			

II.4. Activités biologiques des composés phénoliques

Plus de 5000 polyphénols sont identifiés, plusieurs d'entre eux possèdent un large spectre de propriétés biologiques (Ullah et Khan, 2008). Ils sont décrits comme étant des antioxydants, anti-agrégants plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-thrombotiques, antitumoraux, vasodilatateurs, cardioprotecteurs et antimicrobiens (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001; Balasundram *et al.*, 2006).

II.4.1. Activité antimicrobienne

Les composés phénoliques sont des précurseurs des polymères structurels, ils servent de molécules de signalisation ou fonctionnent comme agents antimicrobiens (les phytoanticipines et les phytoalexines) (Hammerschmidt, 2005).

II.4.1.1. Mode d'action

Le mode d'action des polyphénols sur les microorganismes peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et carbohydrolases) ou d'autres interactions inactivant les adhésines microbiennes, les protéines de l'enveloppe cellulaire et des interactions non spécifiques avec des hydrates de carbone, etc (Cowan, 1999; Karou *et al.*, 2005; Mohamed *et al.*, 2009).

II.4.1.1.1. Acides phénoliques

L'action des phénols sur les microorganismes est liée au (x) site (s) et au nombre de groupements hydroxyles. En effet, l'augmentation d'hydroxylation augmente leur toxicité. En outre, les phénols les plus oxydés sont plus inhibiteurs. Les mécanismes responsables de leur toxicité comprennent une inhibition d'enzymes par les composés oxydés, par réaction de groupements sulfhydryles ou par des interactions non spécifiques avec des protéines (Cowan, 1999).

Les phénylpropanoïdes développent leur action contre les bactéries à travers l'interaction avec la membrane cellulaire, cette activité est due au caractère hydrophobe des hydrocarbures cycliques, ce qui leur permet d'interagir avec les membranes cellulaires et de s'accumuler dans la bicouche lipidique des bactéries.

Cette interaction provoque la fluidification de la membrane et son expansion, ce qui entraîne une diminution du gradient ionique transmembranaire (Calsamiglia *et al.*, 2007).

II.4.1.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes en réponse aux infections microbiennes (Ullah *et Khan*, 2008; Lopez-Lazaro, 2009). Il a été montré *in vitro*, que ce sont des substances antimicrobiennes efficaces contre une large gamme de microorganismes (Ullah *et Khan*, 2008).

L'action des flavonoïdes sur la cellule bactérienne est pléiotropique, c'est à dire qu'un même composé peut agir sur différentes cibles. Les flavonoïdes peuvent cibler la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, inhiber la synthèse de l'ADN et interférer avec des voies métaboliques (Cushnie *et Lamb*, 2005a).

Les catéchines s'intercalent entre les phospholipides membranaires et provoquent une réduction de la fluidité de la membrane, générant une inhibition de certaines fonctions membranaires (Huber *et al.*, 2003; Blanco *et al.* 2005; Stapleton *et al.* 2006; Stapleton *et al.* 2007). Ces composés sont aussi connus pour leur capacité à potentialiser les effets de certains antibiotiques (Blanco *et al.*, 2005). L'EGCg inhibe la pompe d'efflux Tet (K) impliquée dans la résistance des souches *S. aureus* aux tétracyclines ce qui restaure leur sensibilité. Il peut aussi agir en synergie avec les pénicillines et moduler la résistance de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) (Sudano-Roccaro, 2004). Comme il inhibe la pénicillinase conduisant à la restauration de l'activité de la pénicilline (Taganna *et Rivera*, 2008).

La synthèse de l'ADN peut être inhibée par certains flavonoïdes. La quercétine inhibe la topoisomérase II (ADN gyrase) d'*E. coli* en se liant à la sous unité GyrB (Cushnie *et Lamb*, 2005a). Le site de fixation de l'ATP et de la quercétine est chevauchant, il en résulte une inhibition de son activité ATPasique. La galangine (flavonol), un analogue structural de la 4-quinolone semble également avoir la topoisomérase IV comme cible (Cushnie *et Lamb*, 2006). Cette enzyme impliquée dans la décaténation est aussi inhibée par la rutine (Cushnie *et Lamb*, 2005a).

Les flavonoïdes interfèrent avec la voie de biosynthèse des acides gras, l'EGCg inhibe de façon compétitive les enzymes bactériennes de synthèse des acides gras Fab G et Fab I (bacterial fatty acid synthase) par liaison au site de fixation du cofacteur NAD(P)H, comme il inhibe aussi le complexe déjà formé; le FabG-NADPH (**Zhang et Rock, 2004**).

II.4.1.1.3. Tannins

La toxicité des tannins pour les microorganismes peut être liée à leur propriété astringente qui peut induire une complexation avec les enzymes ou les substrats, à leur action sur les membranes des microorganismes et à leur capacité à complexer les ions métalliques (**Akiyama et al., 2001**).

L'intégrité et la fonction de la membrane plasmique peuvent être affectées par les tannins, à des concentrations sub-inhibitrices d'acide tannique la respiration de *Cellvibrio fulvus* est inhibée (**Henis et al., 1964**). **Funtagawa et al. (2004)** ont rapporté l'effet bactéricide des tannins hydrolysables sur *Helicobacter pylori*, dû à leur agrégation avec la membrane cytoplasmique. **Jones et al. (1994)** ont démontré l'inhibition des protéases de *Streptococcus bovis* et de *Butyrivibrio fibrisolvens* par les tannins condensés, confirmant ainsi l'action des tannins sur les enzymes bactériennes.

II.4.2. Activité antioxydante

II.4.2.1. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (figure 8) regroupent non seulement des radicaux libres (RL) (**Berger, 2006; Koechlin-Ramonatxo, 2006**), c'est-à-dire des substances chimiques (atome ou molécule) qui possèdent un électron non apparié, ce qui lui confère une grande instabilité et une forte réactivité (**Ré et al., 2005**), tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) ou le radical hydroxyle ($^{\circ}OH$) mais également des dérivés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les hydroperoxydes (ROOH) (**Berger, 2006; Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

En situation physiologique, il y a un équilibre entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydants. Il faut souligner que les ERO peuvent d'ailleurs jouer un rôle physiologique important comme dans la phagocytose des bactéries par les macrophages (**Pincemail et al., 2002**) et la libération du monoxyde d'azote (NO) par l'endothélium, qui constitue un des mécanismes de régulation du tonus vasculaire. Les RL interviennent aussi dans la signalisation cellulaire (**Berger, 2006**). Toutefois, les ERO peuvent attaquer des macromolécules biologiques, à savoir, les lipides, les protéines et l'ADN (**Bandyopadhyay et al., 1999; McGrath et al., 2001; Masella et al., 2005**), provoquer l'oxydation et endommager la membrane, inactiver les enzymes et endommager l'ADN (**Masella et al., 2005**).

L'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants, présente un stress oxydant (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**) impliqué dans de nombreuses pathologies (Tableau VII) (**Moure et al., 2001; Pincemail et al., 2002**).



Figure 8: Espèces réactives de l'oxygène produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental (Deby-Dupont *et al.*, 2002).

Tableau VII: Maladies chroniques et aiguës caractérisées par un stress oxydatif accru, et thérapies génératrices de stress oxydatif (Berger, 2006).

Affections chroniques	Affections aiguës
Arthrite	Réaction inflammatoire
Arthrite rhumatoïde	Brûlures
Maladies auto-immunes	Traumatismes graves
Cancer	Ischémie-reperfusion
Cataracte	Insuffisance rénale aiguë
Coronaropathie	Pancréatites
Dégénérescence maculaire	Sepsis
Démence	Transplantation d'organes
Diabète sucré	Thérapies:
Hémochromatose	Ventilation mécanique avec FiO ₂ supérieure à 30 %;
Maladie de Keshan	Chirurgie majeure (ischémie-reperfusion);
Maladie de Parkinson	Dialyse (continue ou discontinue);
Maladie de radiation	Injection intraveineuse ou intramusculaire de fer;
Sclérose latérale amyotrophique	Transfusion sanguine

II.4.2.2. Mode d'action

Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle est présente à une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Berger, 2006**). L'intérêt des composés phénoliques a fortement augmenté en raison de leur capacité antioxydante et leurs possibles effets bénéfiques sur la santé humaine. Il s'agit notamment de la prévention du cancer, des maladies cardiovasculaires et d'autres troubles pathologiques (**Valko et al., 2006**).

Les activités chimiques des polyphénols en terme de leurs propriétés réductrices prédit leur potentiel pour une action antioxydante (**Rice-Evans et al., 1997**) due à leur capacité à piéger les ERO, donner des atomes d'hydrogène ou d'électrons, chélater les ions métalliques (**Tsao et Deng, 2004; Balasundram et al., 2006; Rodrigo et Bosco, 2006**) et moduler l'activité des enzymes (**Rodrigo et Bosco, 2006**). L'efficacité antioxydative des polyphénols dépend de leur structure chimique (**Hagerman et al., 1998; Moure et al., 2001**). Toutefois, sous certaines conditions, par exemple une forte concentration d'antioxydants phénoliques, la présence des métaux actifs (cuivre, fer) et un pH élevé, ils peuvent se comporter comme des prooxydants (**Valko et al., 2006**).

II.4.2.2.1. Acides phénoliques

Ce sont de puissants antioxydants qui peuvent piéger les ERO et chélater les métaux de transition (**Barreira et al., 2008**). Leur activité dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles en relation avec le groupement fonctionnel carboxylique.

✓ L'activité antioxydante des acides phénoliques augmente avec l'augmentation du degré d'hydroxylation, comme c'est le cas de l'acide gallique trihydroxylé, qui montre une activité antioxydante élevée.

✓ Les acides hydroxycinnamiques exhibent une activité antioxydante plus élevée comparée à celle des acides hydroxybenzoïques. L'activité élevée de l'acide hydroxycinnamique pourrait être due au groupement $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, qui assure une plus grande capacité de donation d'hydrogène et de stabilisation du radical que le groupement COOH dans les acides hydroxybenzoïques (**Balasundram et al., 2006**).

II.4.2.2.2. Flavonoïdes

Ces composés phénoliques sont des agents antioxydants capables de piéger les RL en agissant comme des donneurs d'hydrogène et d'électrons (**Pietta, 2000; Lugasi et al., 2003; Le et al., 2007**). Certains flavonoïdes peuvent aussi agir comme antioxydants par réaction directe avec les radicaux pour former des produits moins réactifs (**Le et al., 2007**). Ils chélatent les métaux et inhibent les réactions de Fenton et Haber-Weiss, qui sont des sources importantes d'ERO (**Pietta, 2000; Lugasi et al., 2003**). Quelques flavonoïdes sont aussi de forts inhibiteurs de certaines enzymes métaboliques qui génèrent des produits de radicaux libres telle que la cyclooxygénase, la monoaminoxidase, la xanthine oxydase, l'oxyde nitrique synthase (**Le et al., 2007**), l'aldose réductase, la protéine kinase C, la phospholipase A2 et la lipooxygénase (**Derbel et Ghedira, 2005**).

La relation structure-activité des flavonoïdes est plus compliquée que celle des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques en raison de la complexité relative des molécules de flavonoïdes. Certaines des caractéristiques structurelles et la nature des substitutions sur les cycles B et C déterminent l'activité antioxydante des flavonoïdes:

- (1) Le degré d'hydroxylation et les positions des groupements OH dans le cycle B, en particulier une structure orthodihydroxyl du cycle B (groupe catéchol) se traduit par une plus grande activité, elle confère une meilleure stabilité au radical aroxyl, par la délocalisation des électrons (**Pietta, 2000**);
- (2) La présence de groupements hydroxyles aux positions 3, 4 et 5 du cycle B (un groupe de pyrogallol) augmente l'activité antioxydante des flavonoïdes par rapport à ceux qui ont un groupement hydroxyle unique;
- (3) Une double liaison entre C-2 et C-3, conjuguée avec le groupement 4-oxo ou 3-OH du cycle C améliore la capacité scavenger des radicaux;
- (4) Une substitution de groupements hydroxyle du cycle B par des groupements méthoxyles modifie le potentiel d'oxydoréduction et affecte ainsi la capacité scavenger des radicaux (**Balasundram et al., 2006**).

II.4.2.2.3. Tannins

Les tannins sont des antioxydants souvent caractérisés par le pouvoir réducteur et les activités de piégeage (**Rahim et al., 2008; Zhang et Lin, 2008**). Les tannins condensés et hydrolysables sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (**Hagerman et al., 1998**). Les tannins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et les tannins condensés inhibent la formation des superoxydes. Ces composés polyphénoliques inhibent les activités enzymatiques de la protéine-kinase C et de la 5-lipoxygénase (**Derbel et Ghedira, 2005**).

Les capacités antioxydantes des tannins dépendent:

- (1) Du degré de leur état colloïdal;
- (2) De la faculté de clivage de la liaison interflavonoïdique ou de sa structure stéréochimique;
- (3) De la faculté d'ouverture du cycle pyranique (cycle C);
- (4) Du nombre de groupements OH sur les cycles A et B. Les composés avec une structure trihydroxyle dans le cycle B ont une plus grande activité antioxydante (**Rahim et al., 2008; Zhang et Lin, 2008**).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

Les échantillons d'algues marines sont collectés à partir de deux plages de la wilaya de Béjaia, *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* sont récoltées durant le mois de Mai 2009 à la plage dite Euch El-bez, située à environ 22 Km à l'ouest de la ville de Béjaia, ($36^{\circ} 49' 58,06$ N, $4^{\circ} 58' 05,17''$ E), tandis que *Cystoseira tamariscifolia* et *Rhodomela confervoives* sont récoltées durant le mois de Juillet, de la même année, à la plage de Boulimat, située à environ 20 Km à l'ouest de la ville de Béjaia ($36^{\circ} 49' 2,09$ N, $4^{\circ} 59' 22,19''$ E) (figure 9). Les échantillons sont transportés au laboratoire dans des sacs en polyéthylène. Ces algues sont identifiées au niveau du laboratoire de cryptogamie à l'université Abderrahmane Mira de Béjaia (UAMB). Les photographies des espèces d'algues marines récoltées sont présentées dans la figure 10 avec une description de ces espèces dans le tableau VIII.



Figure 9: Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées (INCT, 2000).

Ces échantillons sont nettoyés par lavage dans de l'eau douce afin d'éliminer les épiphytes, les nématodes et toute autre matière suspendue, et les crampons sont enlevés. Un dernier lavage avec de l'eau distillée est effectué. Après séchage à l'étuve à 40°C , ces algues sont coupées en petits morceaux, broyées en fine poudre par un broyeur (Kika Labortechnik) et par la suite tamisées pour obtenir une poudre de granulométrie inférieure à $63\ \mu\text{m}$. Les poudres sont mises dans des flacons opaques.

Tableau VIII: Caractéristiques botaniques des quatre espèces d'algues marines récoltées.

Figure 10: Photographies des espèces d'algues marines récoltées.	Description (Cabioc'h	Classification <i>et al., 1992).</i>
 <p><i>Cystoseira tamariscifolia</i></p>	<p>Algue brune avec un thalle cylindrique, dépourvus de tophules, rameaux portant de nombreux ramules courts et épineux, ferme et réceptacle.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>Fucales</i> Famille: <i>Cystoseiracées</i> Genre: <i>Cystoseira</i></p>
 <p><i>Padina pavonica</i></p>	<p>Algue brune avec un thalle en lame mince et souvent membraneux.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>Dictyotale</i> Famille: <i>Dictyotacées</i> Genre: <i>Padina</i></p>
 <p><i>Rhodobela confervoides</i></p>	<p>Algue rouge de grande taille (30 cm de haut), avec un Thalle cylindrique de quelques dixièmes de millimètres de diamètre, abondamment ramifiés.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Rhodophyta</i> Classe: <i>Rhodophyceae</i> Ordre: <i>Ceramiales</i> Famille: <i>Rhodobelacées</i> Genre: <i>Rhodobela</i></p>
 <p><i>Ulva lactuca</i></p>	<p>Algue verte avec un thalle en forme foliacée irrégulières, quelques fois lobées et découpées, à consistance relativement ferme, composés de deux couches de cellules accolées, et fixés au substrat par un petit disque.</p>	<p>Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Chlorophyta</i> Classe: <i>Ulvophyceae</i> Ordre: <i>Ulvales</i> Famille: <i>Ulvacées</i> Genre: <i>Ulva</i></p>

II. Extraction des composés phénoliques

Les polyphénols sont extraits par macération de 5 g de poudre dans 50 ml de méthanol absolu, sous agitation. Après 24 heures la solution est centrifugée (centrifugeuse SIGMA) à 2220 g pendant 10 minutes, le surnageant contenant les polyphénols est récupéré. Le culot subit deux extractions successives identiques à la première. A la fin les surnageants sont mélangés. Cette solution est filtrée, avec du papier filtre standard, et évaporée à sec sous vide par un rotavapeur (K-IKA Labortechnik), puis reconstituée, à une concentration de 100 mg/ml, dans le méthanol absolu et conservée dans des flacons fumés à 4°C (Cho *et al.*, 2007).

III. Dosage des composés phénoliques des extraits

III.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode utilisée est basée sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968).

La teneur en composés phénoliques totaux, des extraits d'algues préparés ci-dessus, est déterminée par une méthode spectrophotométrique décrite par Kuda *et al.* (2005b).

0,8 ml d'une solution de Folin-Ciocalteu à 10% sont ajoutés à 0,4 ml d'extrait. Après 3 minutes, 1,6 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 10% sont ajoutés. Ce mélange est laissé à l'obscurité pendant une heure à température ambiante. Des mesures d'absorbance sont enregistrées à 750 nm en utilisant un spectrophotomètre.

La catéchine est utilisée pour la préparation de la courbe standard (annexe I). Les résultats sont exprimés en équivalent mg de catéchine par gramme d'échantillon sec.

III.2. Dosage des flavonoïdes

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).

La teneur en flavonoïdes dans les extraits est déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode de **Djeridane *et al.* (2006)** basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium, ayant un maximum d'absorption à 430 nm.

1,5 ml d'échantillon dilué sont mélangés avec 1,5 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%. Après incubation à température ambiante pendant 15 min, l'absorbance du mélange est mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis (Shimadzu Uvmini.1240).

La quercétine est utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage (annexe I), et les teneurs en flavonoïdes sont donc exprimées en équivalent mg de quercétine par gramme de poudre.

III.3. Dosage des tannins

Dans cette étude, une méthode décrite par **Hagerman et Butler (1978)** est appliquée pour estimer la teneur en tannins. Le principe est la formation d'un précipité entre les tannins et la sérum albumine bovine (BSA). Ce précipité réagit avec le chlorure ferrique (FeCl_3) formant ainsi un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 510 nm (**Cai *et al.*, 2004**).

III.3.1. Préparation des réactifs (annexe II)

III.3.2. Formation du complexe protéine-tannins

2 ml de la solution de BSA préparée ci-dessus, sont ajoutés à 1 ml d'extrait dilué. Après 24 heures d'incubation à 4°C, une centrifugation à 3000 g pendant 15 minutes est réalisée.

III.3.3. Détermination des tannins dans le complexe protéine-tannins

4 ml de la solution SDS/TEA sont ajoutés au culot récupéré. 1 ml d'une solution FeCl_3 est par la suite ajouté. Après incubation pendant 15 minutes, une lecture au spectrophotomètre est réalisée à 510 nm.

L'acide tannique est utilisé pour la préparation de la courbe d'étalonnage (annexe I), et les teneurs en tannins sont donc exprimées en équivalent mg d'acide tannique par gramme de poudre.

IV. Activité antimicrobienne

IV.1. Souches tests

Les microorganismes testés pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits d'algues marines sont fournis par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée (L.M.A.) de l'UAMB. Le tableau IX montre les souches microbiennes testées.

Tableau IX: Tableau représentatif des différentes souches microbiennes testées.

Souches bactériennes		Souches fongiques	
Souche	Référence	Souche	Référence
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Aspergillus niger</i>	939N
<i>Listeria innocua</i>	CLIP74915		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	<i>Candida albicans</i>	ATCC 1024
<i>Escherichia coli</i>	N.A.R		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	*E47	<i>Mucor ramanianus</i>	NRRL 1829
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853		

ATCC: American Type Culture Collection ;

CLIP: Collection *Listeria* Institut Pasteur;

N.A.R: Nalidixic Acid Resistant;

*Résistant aux quinolones.

IV.2. Standardisation des inocula bactériens

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée. La taille de l'inoculum bactérien est un élément primordial contribuant de façon essentielle à la qualité des résultats de l'antibiogramme, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien. Ce dernier est préparé, dans de l'eau physiologique, à partir d'une culture pure de 18h. Cette suspension bactérienne est soumise à un balayage entre 380-780 nm afin de déterminer la longueur d'onde maximale de chaque souche. Une suspension bactérienne initiale, d'une opacité équivalente à une absorbance de 0,5 à différentes longueurs d'ondes de chaque suspension bactérienne, est préparée. Ensuite une série de dilutions décimales est réalisée dans de l'eau physiologique stérile (10^{-1} à 10^{-9}). Un volume de 0,1 ml de chaque dilution est ensemencé en surface (gélose PCA) se servant d'un râteau étaleur. Après incubation à 37°C pendant 24 heures un dénombrement est réalisé.

IV.3. Evaluation de l'effet antimicrobien

IV.3.1. Antibiogrammes

L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques est évaluée en utilisant la méthode de **Suay *et al.* (2000)**. Des spots de 25 μ l d'extrait sont appliqués à la surface des géloses Mueller Hinton préalablement ensemencées, par écouvillons, à partir de suspensions de souches tests de 10^8 UFC/ml pour les souches bactériennes et 10^6 spores/ml pour les souches fongiques (**Karabay-Yavasoglu *et al.*, 2007**). Les boîtes de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4°C pendant trois heures pour une pré-diffusion (**Bansemir *et al.*, 2006**). Des zones d'inhibition autour du point d'application de spot sont mesurées en millimètres après incubation à 37°C/24 heures pour les souches bactériennes et la levure, et à 28°C/48h pour les souches filamenteuses (**Karabay-Yavasoglu *et al.*, 2007**).

Le solvant d'extraction (méthanol absolu) est utilisé comme témoin négatif. La nystatine est testée comme témoin positif pour les souches fongiques. Des standards polyphénols (acide gallique, acide tannique, acide caféique, catéchine et la quercétine) sont également testés vis-à-vis de toutes les souches cibles.

IV.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI est définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après 18 à 24 heures d'incubation (**Caquet, 2004**). La CMI des extraits méthanoliques des souches tests est déterminée par la méthode de dilution en milieu solide décrite par **Tunçel et Nergiz (1993)**.

Une série de boîtes de Pétri est coulée par la gélose Mueller Hinton avec des concentrations d'extrait croissantes allant de 0,1 à 3 mg/ml. L'ensemencement, avec des suspensions (10^7 cellules/ml) des différentes souches à examiner, est effectué par 1 μ l, soit 10^4 cellules/spot (**CASF, 2009**). Un témoin négatif sans extrait (l'extrait est remplacé par du méthanol absolu) est réalisé et la nystatine est testée comme témoin positif pour les souches fongiques. Des standards acide caféique, acide gallique, acide tannique, catéchine et quercétine sont également testés. Après incubation à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et la levure, et à 28°C/48h pour les souches filamenteuses, une vérification d'une croissance (ou non) visible au niveau du spot est effectuée. La CMI correspond à la première concentration où aucune croissance n'est observée.

IV.3.3. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La CMB est définie comme la plus petite concentration aboutissant à une destruction notable des bactéries (0,01% de survivant) (Meyer *et al.*, 1994).

Des tubes de bouillon nutritifs sont ensemencés par des morceaux de géloses raclés la où aucune croissance n'est observée sur boîte de Pétri. Après incubation, une présence ou non d'un trouble est mentionnée. La CMB correspond à la première concentration où aucun trouble n'est observé.

IV.3.4. Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine *Rhodomela confervoides* à l'égard de *S. aureus* sur milieu liquide

Une méthode de dénombrement en surface décrite par Sousa *et al.* (2006) est réalisée pour évaluer l'effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine *Rhodomela confervoides* sur la croissance du *S. aureus* sur milieu liquide. Pour cela deux suspensions sont préparées, en présence et en absence (témoin) de l'extrait:

La suspension 1: Un volume du bouillon nutritif stérile est additionné avec l'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides*, la suspension est ensemencée avec une culture de *S. aureus* (10^8 UFC/ml) de manière à obtenir une solution finale (concentration de 0,1 mg/ml d'extrait) d'une charge bactérienne de 10^7 UFC/ml.

La suspension 2: Un tube témoin est réalisé en remplaçant l'extrait par le méthanol absolu.

Les deux cultures sont incubées à 37°C. Toutes les deux heures, durant les 24 h d'incubation, des dénombrements de *S. aureus* sur milieu PCA sont réalisés: une série de dilutions au 1/10 est réalisée pour chaque suspension, une gélose solide (PCA) coulée en boîte de Pétri est étalée par 0,1 ml de chaque suspension des deux séries de dilution à la surface de la gélose à l'aide d'un râteau étaleur.

V. Activité antioxydante

V.1. Pouvoir réducteur

Dans cet essai, la couleur jaune de la solution vire au vert ou au bleu par la conversion du complexe Fe^{3+} /ferricyanure au fer ferreux Fe^{2+} (Deore *et al.*, 2009). Cela dépend de la présence de réducteurs qui exposent un pouvoir antioxydant (Senevirathne *et al.*, 2006).

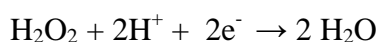
Le pouvoir réducteur est étudié en utilisant une méthode décrite par Zubia *et al.* (2007). 1ml d'extrait à deux concentrations différentes (1 et 0,5 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml du tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] à 1%. Le mélange est incubé dans un bain marie pendant 20 min à 50°C. 2,5 ml de cette solution sont mélangés avec 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, puis centrifugés pendant 10 min. Dans un tube à essai, une fraction de 2,5 ml à partir du surnageant est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml du chlorure ferrique ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 0,1%. L'absorbance du mélange ainsi obtenu est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à température ambiante.

L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard (annexe I) pour quantifier l'activité réductrice, et différents standards à 1 et 0,5 mg/ml (BHA, acide gallique, acide tannique et la quercétine) sont utilisés.

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques est exprimé en équivalent mg d'acide ascorbique.

V.2. Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le principe de cette méthode est la neutralisation du peroxyde d'hydrogène par les composés phénoliques de l'extrait et sa transformation en une molécule d'eau par un don d'électron comme indiqué dans la réaction suivante (Wang *et al.*, 2007):



La capacité des extraits d'algues marines à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée selon une méthode rapportée par Glüçin *et al.* (2003) dont le principe consiste en un suivi de la décroissance de la concentration du H_2O_2 par spectrophotométrie. Un volume de 2 ml d'extrait (1 et 0,5 mg/ml) et de contrôles positifs (BHA, acide gallique, acide tannique, catéchine et la quercétine) est ajouté à 1,2 ml d'une solution H_2O_2 (40 mM), qui est préparée dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). La concentration de H_2O_2 (coefficient d'extinction égale à $81 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) est déterminée

en mesurant l'absorbance à 230 nm avec un spectrophotomètre (Shimadzu Uvmini.1240) après un temps de réaction de 10 min.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du H}_2\text{O}_2 = [(A_c - A_e) / A_c] \cdot 100$$

Où:

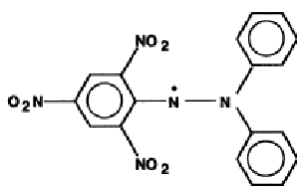
A_c : Absorbance du contrôle;

A_e : Absorbance de l'échantillon.

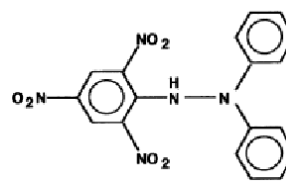
L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard (annexe I) pour quantifier l'activité réductrice du H_2O_2 et qui est exprimée en équivalent mg d'acide ascorbique.

V.3. Activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Le DPPH est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène (Yang *et al.*, 2008). La méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène et la formation de la forme non radicalaire DPPH-H (figure 11) (Gulçin *et al.*, 2006). La capacité de réduction des radicaux DPPH est déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm visuellement perceptible comme une décoloration du violet au jaune (Yang *et al.*, 2008). La réaction avec un antioxydant phénolique est comme suit:



1: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)



2: Diphenylpicrylhydrazine (non radical)

Figure 11: Structure chimique du DPPH[•] et DPPH₂ (Molyneux, 2004).

La capacité scavenger du radical DPPH, des extraits phénoliques, est mesurée selon le protocole rapporté par Sreenivasan *et al.* (2007). Un volume de 50 μl d'extrait (20-100 mg/ml) est ajouté à un volume de 5 ml d'une solution DPPH à 0,04%. Ce mélange est agité et laissé au repos. La décoloration, par rapport à un contrôle, est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm après incubation à température ambiante, à l'obscurité, pendant 30 minutes.

Différents antioxydants (0,5-0,03 mg/ml), de synthèse (BHA), naturels (Vitamine C) et des standards polyphénols (acide gallique, acide tannique et la quercétine) sont utilisés comme contrôles positifs.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(A_c - A_e) / A_c] \cdot 100$$

Où:

Ac: Absorbance du contrôle ;

Ae: Absorbance de l'échantillon

La concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) est définie comme la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical DPPH initial de 50% (**Ismail et Hong, 2002**). Les valeurs de l'IC₅₀ sont déterminées à partir du tracé graphique de l'activité par rapport à une gamme de concentration d'extraits d'algues marines. Leur activité est calculée par le pourcentage de DPPH piégé en utilisant la formule ci-dessus.

VII. Etude statistique

Pour pouvoir faire une étude statistique, trois échantillons sont récoltés pour chaque espèce d'algue marine étudiée. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type. Les données sont analysées en utilisant une analyse de variance (ANOVA). Des différences significatives (p<0,05) entre les moyennes sont déterminées par le test LSD (Low Significant Difference). Le logiciel utilisé est STATISTICA 5.5.

Résultats et discussions

Résultats et discussions

I. Taux d'extraction et dosage des composés phénoliques

I.1. Taux d'extraction des composés phénoliques

Le taux d'extraction ainsi que la nature des composés extraits sont influencés par les conditions de l'extraction, à savoir le type de solvant, la taille des particules, l'état du matériel végétal et les conditions thermiques de l'extraction (Chavan *et al.*, 2000; Mukhopadhyay *et al.*, 2005; Naczki et Shahidi, 2006; Lim et Murtijaya, 2007). Le temps de macération et le volume du solvant sont aussi des paramètres qui affectent le taux d'extraction (Eloff, 1998; Hayouni *et al.*, 2007).

Dans notre travail, nous avons opté pour le méthanol comme solvant d'extraction, car les solvants alcooliques (éthanol, méthanol) donnent de meilleurs taux d'extraction et sont hautement sélectifs pour les polyphénols (Sipgno *et al.*, 2007).

En outre, dans le but d'augmenter le taux d'extraction, une poudre très fine ($< 63 \mu\text{m}$) est utilisée. Selon Pinelo *et al.* (2005) et Sipgno *et al.* (2007) la granulométrie de la poudre est un paramètre important dans la mesure où la réduction de la taille des particules augmente la surface de contact avec le solvant. Les taux d'extraction des composés phénoliques sont représentés dans le tableau X.

Tableau X: Taux d'extraction des composés phénoliques des algues marines étudiées.

Espèce d'algue marine	Taux (%)
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	$6,76 \pm 0,088^b$
<i>Padina pavonica</i>	$2,34 \pm 0,025^a$
<i>Rhodomela confervoides</i>	$6,36 \pm 0,069^b$
<i>Ulva lactuca</i>	$19,21 \pm 0,637^c$

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Parmi les extraits méthanoliques des quatre espèces d'algues marines étudiées, *Ulva lactuca* représente le taux d'extraction le plus élevé ($19,21 \pm 0,637\%$), suivi de *Cystoseira tamariscifolia* ($6,76 \pm 0,088\%$) et *Rhodomela confervoides* ($6,36 \pm 0,069\%$), ces deux espèces ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$). *Padina pavonica* enregistre le taux d'extraction le plus faible ($2,34 \pm 0,025\%$).

Cho et al. (2007) ont constaté un taux d'extraction par le méthanol (5,51%) d'une algue brune *Sargassum siliquastrum* inférieur à celui qu'on a obtenu concernant *Cystoseira tamariscifolia* (6,76%) et supérieur à celui de *Padina pavonica* (2,34%). **Devi et al. (2008)** ont enregistré un taux d'extraction de 3,5% dans un extrait méthanolique de l'algue brune *Padina gymnospora*. Ce taux d'extraction est légèrement supérieur à celui qu'on a trouvé pour *Padina pavonica* (2,34%). Parmi les extraits méthanoliques de trois algues marines brunes étudiées par **Chandini et al. (2008)**, *Padina tetrastomatica* a révélé un taux d'extraction de 12,31%, très élevé par rapport à celui qu'on a trouvé pour *Padina pavonica* (2,34%). Toutefois, notre algue *Cystoseira tamariscifolia* a donné un taux d'extraction (6,76%) supérieur aux deux autres algues brunes testées par ces auteurs, *Turbinaria conoides* (5,76%) et *Sargassum marginatum* (5,45%).

Des taux d'extraction inférieurs à celui qu'on a obtenu pour *Rhodomela confervoides* (6,36%) sont enregistrés par **Ganesan et al. (2008)** concernant des extraits méthanoliques de trois algues marines rouges étudiées par ces auteurs, *Acanthophora spicifera* (5,01%), *Gracilaria edulis* (3,98%) et *Eucheuma kappaphycus* (2,85%). **Duan et al. (2006)** ont observé un taux d'extraction (12,1%) dans l'extrait d'une algue rouge, *Polysiphonia urceolata*, presque doublement supérieur à celui qu'on a trouvé concernant notre algue rouge.

Matanjun et al. (2008) ont montré des taux élevés concernant les extraits méthanoliques de deux algues vertes *Caulerpa lentillifera* (30,86%) et *Caulerpa racemosa* (26,70%) par rapport à celui qu'on a trouvé pour *Ulva lactuca* (19,21%). Toutefois des taux inférieurs à nos résultats, sont retrouvés par ces auteurs pour les algues rouges *Eucheuma cottonii* (2,25%) et *Eucheuma spinosum* (1,88%) et l'algue brune *Sargassum polycystum* (4,05%).

I.2. Dosage des composés phénoliques

I.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des quatre espèces d'algues marines étudiées, exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de poudre (mg Eq Cat/g), sont représentées dans la figure 12.

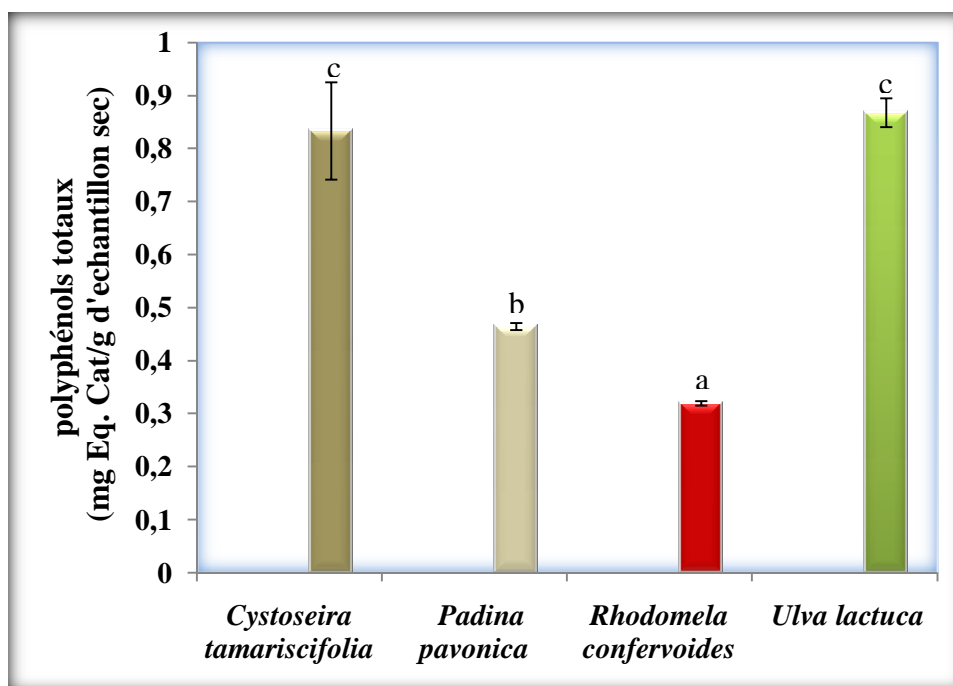


Figure 12: Représentation graphique du taux de polyphénols totaux dans les extraits d'algues marines étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques de l'algue verte *Ulva lactuca* ($0,87 \pm 0,027$ mg Eq Cat/g de poudre) et de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* ($0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g de poudre) ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$). Ces deux algues montrent les meilleurs taux en polyphénols totaux suivi par *Padina pavonica* ($0,46 \pm 0,006$ mg Eq Cat/g de poudre). *Rhodomela confervoides* se montre la moins riche avec un taux de $0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g de poudre. L'étude réalisée par **Matanjun et al. (2008)** a révélé que les algues brunes et vertes sont plus riches en composés phénoliques que les algues rouges. Ce résultat est similaire à celui obtenu dans notre étude.

Des teneurs en polyphénols totaux supérieures à celles qu'on a obtenues sont observées par **Chew et al. (2008)** dans des extraits méthanoliques de l'algue brune *Padina antillarum* (12,40 mg Eq AG/g de poudre) et de l'algue rouge *Caulerpa racemosa* (0,965 mg Eq AG/g de poudre). Par contre l'extrait méthanolique de l'algue verte *Kappaphycus alvarezzi* a montré une teneur (0,284 mg Eq AG/g de poudre) inférieure à celle qu'on a constaté pour *Ulva lactuca* (0,87 mg Eq Cat/g de poudre).

L'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* a révélé une teneur en polyphénols totaux (0,83 mg Eq Cat/g de poudre) supérieure à l'algue étudiée par **Kuda et al. (2005a)** ayant observé une teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique de l'algue brune *Scytosiphon lomentaria* de 0,42 mg Eq Cat/g de poudre. Cette teneur est légèrement inférieure à celle qu'on a trouvé concernant *Padina pavonica* (0,46 mg Eq Cat/g de poudre).

Des teneurs supérieures à celles qu'on a noté sont observées par **Kuda et al. (2005b)**, dans les extraits éthanoliques des algues brunes *Scytosiphon lomentaria* (0,61 mg Eq Cat/g de poudre) et *Nemacystus decipiens* (0,64 mg Eq Cat/g de poudre) et l'algue rouge *Porphyra spp.* (0,88 mg Eq Cat/g de poudre). Toutefois, une teneur en polyphénols totaux (0,18 mg Eq cat/g de poudre) inférieure à nos résultats est aussi constatée, par ces mêmes auteurs, pour l'algue brune *Papenfussiella kuromo*.

La variation dans les taux en composés phénoliques entre nos algues marines et celles de ces auteurs pourrait être attribuée aux conditions d'extraction ainsi qu'aux milieux et la saison de la récolte. **Stirk et al. (2007)** ont rapporté que les conditions environnementales sont capables d'altérer les concentrations en métabolites secondaires malgré que les types des composés sont génétiquement fixés. En fait, la production des composés phénoliques par les algues marines est influencée par plusieurs facteurs: extrinsèques (la profondeur, la lumière, la salinité, les nutriments et la pression des herbivores) et intrinsèques (type, âge et étape de reproduction) (**Zubia et al., 2007**).

I.2.2. Dosage des flavonoïdes

Des valeurs négatives sont enregistrées concernant le dosage des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées. Cela indique que probablement ces espèces sont dépourvues en ces composés, ou bien ils sont présents mais à l'état de traces. **Bravo (1989)** et **Crozier et al. (2006)** ont signalé que les flavonoïdes sont largement répandus dans le règne végétal, à l'exception des algues. **Rausher (2006)** a rapporté que plusieurs génomes d'algues sont séquencés et aucun ne contient des cadres de lecture ouverts, qui présentent une homologie avec les séquences codantes pour les enzymes des flavonoïdes. Toutefois, **Meenakshi et al. (2009)** ont observé des teneurs en flavonoïdes de 1,35 et 2,02 mg Eq AG/g de poudre dans les extraits méthanoliques à 75% d'*Ulva lactuca* et de *Sargassum wightii*, respectivement.

Les travaux menés par **Yoshie et al. (2000)**, **Yoshie et al. (2002)** et **Gunji et al. (2007)** sur des algues marines du Japon ont révélé la présence de flavonoïdes.

Afin d'estimer la distribution de la catéchine dans les algues marines du Japon **Yoshie et al. (2000)** ont réalisé une étude sur 27 algues. L'analyse par HPLC a détecté des concentrations élevées en épigallocatechine (EGC), tandis que l'épigallocatechine gallate (EGCg), l'épicatéchine gallate (ECg) et l'épicatéchine (EC) sont des composants mineurs.

Ces auteurs ont rapporté que l'algue brune *Padina arborescens* et *Padina minor* contiennent les concentrations les plus élevées en EGCg avec des teneurs respectivement de 0,68 et 0,49 mg/g. L'algue rouge *Porphyra yezoensis* contient la catéchine et l'ECg à des concentrations de 36 ± 4 et 32 ± 4 mg/g, respectivement. D'autres algues rouges, *Chondrus verrucosus* et *Actinotrichia fragilis* ne contiennent pas de catéchines. L'ECg n'a pas été détecté dans les neuf algues rouges étudiées. Ces auteurs ont rapporté l'absence de catéchine gallate (Cg), ECg et EGCg dans les six algues vertes examinées, par contre la catéchine est détectée dans deux algues vertes dont la teneur la plus élevée (3,33 mg/g) est observée pour *Acetabularia ryukyuensis*.

Les résultats obtenus par HPLC ont révélé l'absence de la catéchine, l'EC, la Cg, l'ECg, l'EGCg, la rutine, la quercitrine, la lutéoline, la quercétine, l'apigénine, le kaempférol et baicaleine dans les deux algues marines vertes, *Halimeda macroloba* et *Halimeda opuntia*, étudiées par **Yoshie et al. (2002)**. Cependant, *Halimeda macroloba* possède 28 mg d'EGC et 1,88 mg de catéchol, en revanche, *Halimeda opuntia* contient 12,7 mg et 0,384 mg de chacun de ces composés.

Les extraits éthanoliques de six algues marines étudiées par **Gunji et al. (2007)** ont montré des teneurs en flavonoïdes comprises entre 0,5 et 3 mg Eq morine/g de poudre pour les algues brunes et entre 3,4 et 4,5 mg Eq morine/g de poudre pour les algues vertes. **Cox et al. (2010)** ont enregistré des valeurs en flavonoïdes, dans des extraits d'algues marines d'Irlande, allant de 7,66 à 42,5 mg Eq Que/g d'extrait. L'algue brune, *Himantalia elongata*, possède une teneur plus élevée que les autres algues brunes étudiées. Les algues rouges *Palmaria palmata* et *Chondrus crispus* ont révélé les teneurs les plus faibles.

I.2.3. Dosage des tannins

Les teneurs en tannins exprimées en microgramme d'équivalent acide tannique par gramme de poudre ($\mu\text{g Eq AT/g}$) sont représentées dans la figure 13.

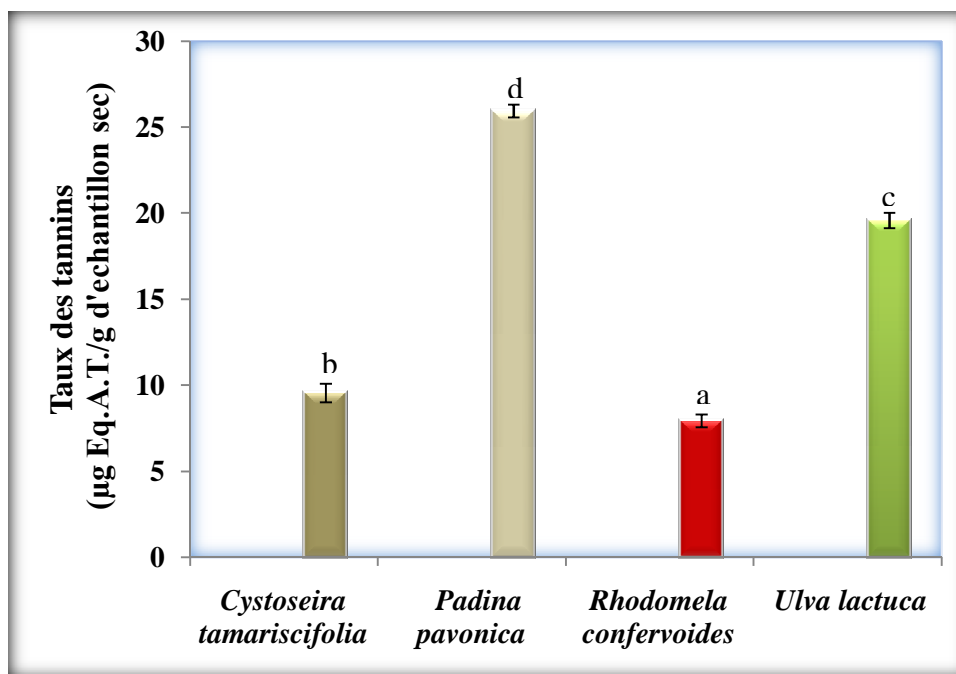


Figure 13: Représentation graphique du taux des tannins dans les extraits d'algues marines étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Des différences significatives ($p < 0,05$) sont révélées entre les quatre extraits méthanoliques d'algues marines étudiées. La teneur la plus élevée est notée chez l'algue brune *Padina pavonica* ($25,91 \pm 0,37 \mu\text{g Eq AT/g}$ de poudre) suivie d'*Ulva lactuca* ($19,59 \pm 0,44 \mu\text{g Eq AT/g}$ de poudre) et *Cystoseira tamariscifolia* ($9,57 \pm 0,55 \mu\text{g Eq AT/g}$ de poudre). Comme pour les polyphénols totaux, l'algue rouge enregistre la plus faible teneur en tannins ($7,95 \pm 0,38 \mu\text{g Eq AT/g}$ de poudre).

Nos résultats sont inférieurs à ceux observés par **Cox et al. (2010)**, qui ont obtenu des teneurs en tannins allant de 3,19 à 38,34 mg Eq Cat/g d'extrait. Ces auteurs ont enregistré des valeurs élevées chez les algues brunes suivi des algues vertes. Les algues rouges présentent les valeurs les plus faibles, cela est en accord avec notre étude.

II. Activité antimicrobienne

L'objectif de ce travail est d'évaluer et comparer la capacité des différentes algues marines de la cote de Béjaïa à produire des composés bioactifs présentant un intérêt thérapeutique potentiel. La production de l'activité antimicrobienne est considérée comme un indicateur de la capacité des algues marines de synthétiser des métabolites secondaires bioactifs (**Gonzalez del Val et al., 2001; Shanmughapriya et al., 2008**).

II.1. Antibiogrammes

Dans la présente étude, des extraits méthanoliques de quatre algues marines sont testés vis-à-vis de six bactéries, deux champignons filamenteux et une levure. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité: Résistant: $D < 8$ mm, intermédiaire: $15 \text{ mm} \geq D \geq 8$ mm et sensible: $D > 15$ mm (**Bansemir et al., 2006**). L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques des quatre espèces d'algues marines étudiées est résumée dans le tableau XI et XIII et la figure 14.

II.1.1. Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif

L'étude statistique a montré une différence significative ($p < 0,05$) entre les extraits méthanoliques de *Padina pavonica* et *Rhodomela confervoides* vis-à-vis de *B. subtilis*. L'algue rouge possède le meilleur effet inhibiteur à l'encontre de cette souche, qui s'est révélée la plus sensible avec une zone d'inhibition de 24 mm à une concentration de 0,312 mg/25 μ l. Quant à l'extrait méthanolique de l'algue *Padina pavonica*, il n'a pas d'effet inhibiteur à l'égard de *B. subtilis* à de faibles concentrations (0,312 et 0,156 mg/25 μ l) par contre à 1,25 mg/25 μ l il exerce une bonne activité avec une zone d'inhibition de 19 mm et une activité intermédiaire (9 mm) à une concentration de 0,625 mg/25 μ l. Aucune zone d'inhibition n'est observée pour les extraits méthanoliques des algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Ulva lactuca* contre ce bacille Gram positif.

Les quatre extraits méthanoliques des algues marines étudiées ont inhibé la croissance de *S. aureus* avec des zones d'inhibition allant de 11 à 18 mm, la zone d'inhibition la plus large est obtenue pour l'extrait de *Cystoseira tamariscifolia* à une concentration de 1,25 mg/25 μ l. Par contre à des concentrations de 0,625 et 0,312 mg/25 μ l, elle exerce un effet inhibiteur similaire à celui de l'algue rouge à 0,625 et 0,156 mg/25 μ l. Les extraits de *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* à la concentration 1,25 mg/25 μ l ont donné des zones d'inhibition de 16 mm. L'étude statistique n'a révélé aucune différence significative entre ces deux algues à 1,25 mg/25 μ l et *Padina pavonica* à 0,625 et 0,312 mg/25 μ l.

Ulva lactuca s'est montrée la moins active, elle n'a donné aucune zone d'inhibition à une concentration de 0,156 mg/25 µl, mais à des concentrations plus élevées, elle a enregistré une activité inhibitrice avec des diamètres de 13 mm et 16 mm.

Concernant la souche *L. innocua*, les zones d'inhibition les plus larges, allant de 19 à 20 mm, sont obtenues pour l'extrait de *Rhodomela confervoides*. Toutefois, l'étude statistique n'a pas montré de différences significatives ($p < 0,05$) entre cette algue et *Cystoseira tamariscifolia* à 1,25 et 0,625 mg/25 µl. Cette souche se montre résistante à l'extrait méthanolique de *Padina pavonica* à partir de 0,625 mg/25 µl. Par contre à 1,25 mg/25 µl elle exerce une activité intermédiaire dont le diamètre de la zone d'inhibition est de 13 mm avec une différence non significative ($p < 0,05$) avec l'extrait d'*Ulva lactuca* à 0,312 et 0,156 mg/25 µl. L'analyse statistique a révélé qu'entre cette algue verte à 1,25 et 0,625 mg/25 µl et *Cystoseira tamariscifolia* à 0,312 et 0,156 mg/25 µl, il n'y a aucune différence significative ($p < 0,05$).

II.1.2. Activité antibactérienne à l'égard des Gram négatif

La souche *E. coli* s'est révélée sensible aux extraits méthanoliques étudiées avec des zones d'inhibition allant de 12 à 18 mm. Les meilleurs effets inhibiteurs sont relevés pour *Rhodomela confervoides* et *Cystoseira tamariscifolia* à l'encontre de cette souche, avec aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les extraits de ces deux algues aux mêmes concentrations. *Padina pavonica* à 0,125 mg/25 µl a développé la zone d'inhibition la plus étroite (12 mm), mais à une concentration de 0,625 et 0,156 mg/25 µl, elle s'est montrée plus active avec une zone d'inhibition de 16 mm similaire à celle développée par *Cystoseira tamariscifolia* à 0,312 mg/25 µl. Quant à l'algue verte, à 1,25 mg/25 µl elle présente une zone d'inhibition de 14 mm avec une différence non significative ($p < 0,05$) entre cette algue verte et *Padina pavonica* à 0,312 mg/25 µl vis-à-vis de cette souche, mais à partir de 0,625 mg/25 µl elle n'est plus active.

Aucune différence significative n'est observée entre les extraits d'*Ulva lactuca* et de *Padina pavonica* vis-à-vis de *K. pneumoniae*, celle-ci s'est montrée résistante à ces deux algues qui n'ont développé aucune zone d'inhibition. *Cystoseira tamariscifolia* et *Rhodomela confervoides* exercent les meilleures activités avec des zones d'inhibition allant de 12 à 19 mm. La zone d'inhibition la plus large est obtenue avec l'extrait de *Cystoseira tamariscifolia* à 0,156 mg/25 µl, alors que la plus étroite est observée avec l'extrait de l'algue rouge à cette concentration.

Mais à 1,25 mg/25 µl, *Rhodomela confervoides* a donné une zone d'inhibition (17 mm) plus large que celle développée par *Cystoseira tamariscifolia* (15 mm) à la même concentration avec des différences significatives ($p > 0,05$). A des concentrations intermédiaires (0,625 et 0,312 mg/ 25 µl), l'étude statistique n'a pas révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre ces deux algues à l'encontre de cette souche.

Tous les extraits méthanoliques des algues marines étudiées sont actifs sur *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibition allant de 12 à 18 mm, à l'exception de l'extrait de l'algue verte qui à 0,625 mg/25 µl ne présente aucun effet inhibiteur contre cette souche. Cependant, cette algue à une concentration de 1,25 mg/25 µl, est dotée d'un pouvoir inhibiteur similaire avec *Rhodomela confervoides* à des concentrations de 1,25 à 0,156 mg/25 µl, *Padina pavonica* à 0,625 et 0,312 mg/25 µl et *Cystoseira tamariscifolia* à 0,312 et 0,156 mg/25 µl avec aucune différence significative ($p < 0,05$). Cette dernière algue, à 1,25 mg/25 µl, a enregistré la meilleure activité inhibitrice vis-à-vis de cette souche.

Tableau XI: Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des algues marines étudiées.

Algue marine	Dilution (mg/25µl)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)					
		<i>B. subtilis</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>p. aeruginosa</i>
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	1,25	00,00±00,00 ^a	19,67±00,57 ^{kl}	18,33±00,57 ^{jk}	18,00±00,00 ^{mn}	15,67±00,57 ^{lg}	18,00±00,00 ^{lmn}
	0,625	00,00±00,00 ^a	17,66±00,57 ^{gh}	15,67±00,57 ^{ef}	17,00±00,00 ^{jk}	17,00±00,00 ^{hij}	17,66±00,57 ^{kl}
	0,312	00,00±00,00 ^a	16,67±00,57 ^f	15,33±00,57 ^{de}	16,00±00,00 ^h	17,00±00,00 ^{hij}	16,33±00,57 ^{jk}
	0,156	00,00±00,00 ^a	17,00±00,00 ^g	14,67±00,57 ^d	18,00±00,00 ^{mn}	19,33±00,57 ^k	15,67±00,57 ^{ghi}
<i>Padina pavonica</i>	1,25	19,33±00,57 ^f	13,00±00,00 ^c	13,33±00,57 ^c	12,33±00,57 ^e	00,00±00,00 ^a	12,33±00,57 ^b
	0,625	09,33±00,57 ^b	00,00±00,00 ^a	16,33±00,57 ^{lg}	16,33±00,57 ^{hi}	00,00±00,00 ^a	15,33±00,57 ^{gh}
	0,312	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	16,66±00,57 ^{gh}	14,00±00,00 ^f	00,00±00,00 ^a	16,33±00,57 ^{ij}
	0,156	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	12,66±00,57 ^c	16,00±00,00 ^h	00,00±00,00 ^a	13,33±00,57 ^b
<i>Rhodomela confervoides</i>	1,25	22,67±00,57 ^{ig}	20,33±00,57 ^f	16,33±00,57 ^{lg}	18,33±00,57 ^{no}	17,33±00,57 ^{ij}	16,33±00,57 ^{ij}
	0,625	22,33±00,57 ^f	18,00±00,00 ^h	15,66±00,57 ^{ef}	17,33±00,57 ^{kl}	16,33±00,57 ^{gh}	14,67±00,57 ^{ef}
	0,312	24,00±00,00 ^{kl}	18,00±00,00 ^h	11,33±00,57 ^b	16,00±00,00 ^h	16,33±00,57 ^{gh}	16,33±00,57 ^{ij}
	0,156	23,33±00,57 ^{ek}	19,33±00,57 ^{jk}	15,67±00,57 ^{ef}	18,67±00,57 ^o	12,33±00,57 ^d	15,67±00,57 ^{ghi}
<i>Ulva lactuca</i>	1,25	00,00±00,00 ^a	16,33±00,57 ^f	16,00±00,00 ^{efg}	14,33±00,57 ^f	00,00±00,00 ^a	15,00±00,00 ^{efg}
	0,625	00,00±00,00 ^a	16,33±00,57 ^f	13,00±00,00 ^c	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a
	0,312	00,00±00,00 ^a	13,00±00,00 ^c	13,00±00,00 ^c	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a
	0,156	00,00±00,00 ^a	13,00±00,00 ^c	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a	00,00±00,00 ^a

* A noter que le témoin négatif (méthanol absolu) n'a montré aucune activité.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type (n=3).

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la même colonne ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Les résultats illustrés dans le tableau XII indiquent que les standards polyphénols utilisés sont tous actifs vis-à-vis des souches bactériennes testées. On remarque que les meilleures zones d'inhibition sont développées par l'acide caféique (37 mm), suivi de l'acide gallique (27 mm) et de l'acide tannique (27 mm) à une concentration de 1,25 mg/25 µl à l'égard de *S. aureus*. A cette concentration, l'acide tannique exerce un effet inhibiteur, avec un diamètre d'inhibition de 25 mm, contre *B. subtilis* avec des différences non significatives entre ce standard et l'acide caféique à 1,25 mg/25 µl ainsi que la quercétine à 0,312 mg/25 µl. La souche *L. innocua* s'est révélée plus sensible à l'acide gallique (28 mm) et l'acide caféique (24 mm) avec une différence significative ($p > 0,05$). Ce dernier standard s'est montré le plus actif vis-à-vis de *K. pneumoniae* avec des diamètres d'inhibition de 17 à 23 mm.

Tableau XII: Activité antibactérienne de quelques standards polyphénols.

Standard polyphénol	Dilution (mg/25 µl)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)					
		<i>B. subtilis</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>p. aeruginosa</i>
Acide caféique	1,25	25,00±00,00 ^{mm}	24,33±00,57 ⁿ	37,33±00,57 ^r	24,00±00,00 ^q	23,33±00,57 ^l	23,33±00,57 ^r
	0,625	22,33±00,57 ^{hi}	24,67±00,57 ⁿ	25,67±00,57 ^p	26,33±00,57 ^r	22,67±00,57 ^l	24,33±00,57 ^s
	0,312	23,33±00,57 ^{gk}	18,33±00,57 ^{hi}	19,33±00,57 ^l	17,33±00,57 ^l	19,00±00,00 ^k	18,33±00,57 ^{mm}
	0,156	17,67±00,57 ^{de}	19,00±00,00 ^j	19,33±00,57 ^l	16,66±00,57 ^{jk}	17,33±00,57 ^{ij}	18,00±00,00 ^{lmm}
Acide gallique	1,25	20,67±00,57 ^g	28,33±00,57 ^o	27,33±00,57 ^q	20,00±00,00 ^p	19,33±00,57 ^k	18,67±00,57 ^{no}
	0,625	19,33±00,57 ^f	22,67±00,57 ^m	24,33±00,57 ^o	18,33±00,57 ^{no}	19,33±00,57 ^k	21,33±00,57 ^q
	0,312	18,33±00,57 ^e	20,33±00,57 ^l	15,33±00,57 ^{de}	18,33±00,57 ^{no}	16,67±00,57 ^{hi}	19,33±00,57 ^{op}
	0,156	15,33±00,57 ^c	19,00±00,00 ⁱ	17,33±00,57 ^{hi}	16,33±00,57 ^{hi}	17,33±00,57 ^{ij}	16,00±00,00 ^{hij}
Acide tannique	1,25	25,33±00,57 ⁿ	20,33±00,57 ^b	27,33±00,57 ^q	24,00±00,00 ^q	14,33±00,57 ^e	26,33±00,57 ^r
	0,625	24,66±00,57 ^{lmm}	15,33±00,57 ^e	24,33±00,57 ^o	17,67±00,57 ^{lm}	15,33±00,57 ^r	27,33±00,57 ^u
	0,312	21,67±00,57 ^h	18,33±00,57 ^{hi}	15,33±00,57 ^{de}	18,00±00,00 ^{mm}	17,67±00,57 ^j	21,33±00,57
	0,156	19,67±00,57 ^{lg}	15,00±00,00 ^{de}	17,33±00,57 ^{hi}	17,00±00,00 ^k	14,33±00,57 ^e	17,67±00,57 ^{lmq}
Catéchine	1,25	20,33±00,57 ^g	18,33±00,57 ^{hi}	20,33±00,57 ^m	17,00±00,00 ^k	17,33±00,57 ^{ij}	17,33±00,57 ^{kl}
	0,625	19,33±00,57 ^f	19,33±00,57 ^{jk}	18,33±00,57 ^{jk}	09,33±00,57 ^d	16,67±00,57 ^{hi}	15,33±00,57 ^{gh}
	0,312	18,33±0,57 ^e	20,00±00,00 ^{kl}	18,00±00,00 ^j	06,33±00,57 ^c	19,33±00,57 ^k	16,67±00,57 ^{jk}
	0,156	18,33±00,57 ^e	19,00±00,00 ^j	19,00±00,00 ^{kl}	04,00±00,00 ^b	18,67±00,57 ^k	14,33±00,57 ^e
Quercétine	1,25	17,33±00,57 ^d	14,33±00,57 ^d	17,33±00,57 ^{hi}	17,33±00,57 ^{kl}	12,00±00,00 ^d	18,33±00,57 ^{mm}
	0,625	20,33±00,57 ^g	20,00±00,00 ^k	22,33±00,57 ⁿ	15,33±00,57 ^g	17,33±00,57 ^{ij}	20,00±00,00 ^p
	0,312	25,00±00,00 ^{mm}	16,33±00,57 ^{hi}	19,33±00,57 ^l	18,00±00,00 ^{mm}	11,00±00,00 ^c	23,33±00,57 ^r
	0,156	24,33±00,57 ^{lm}	18,33±00,57 ^{hi}	19,00±00,00 ^{kl}	16,00±00,00 ^h	14,00±00,00 ^b	23,33±00,57 ^r

* A noter que le témoin négatif (méthanol absolu) n'a montré aucune activité.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type (n=3).

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la même colonne ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Les résultats obtenus avec la catéchine, l'acide gallique, l'acide caféique et la quercétine sur *E.coli*, sont en accord avec les résultats obtenus par **Rodriguez-Vaquero et al. (2007b)**. Contrairement à nos résultats, ces auteurs n'ont pas observé de zone d'inhibition avec la catéchine et l'acide caféique, à l'encontre de *K. pneumoniae*, ceci pourrait être dû à la différence dans la taille de l'inoculum utilisé qui est de 2×10^9 UFC/ml. La sensibilité de *K. pneumoniae* et des autres souches vis-à-vis de la catéchine et des acides tannique, gallique et caféique est révélée par **Taguri et al. (2006)**.

Contrairement à nos résultats, **Rauha et al. (2000)** n'ont pas observé d'effets inhibiteurs des acides gallique et caféique à l'égard d'*E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilis*. Cela pourrait être dû à leur faible concentration testée (0,5 mg/500 µl). La quercétine a inhibé la croissance de toutes les espèces étudiées (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) par ces auteurs. Ce résultat est similaire à celui obtenu dans notre étude.

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ($p < 0,05$) entre l'extrait méthanolique de *Padina pavonica*, à une concentration de 1,25 mg/25 µl et la catéchine (1,25 mg/25 µl), l'acide gallique et l'acide tannique, à une concentration de 0,625 mg/25 µl vis-à-vis de *B. subtilis*. *Rhodomela confervoides*, à 0,625 mg/25 µl, exerce un effet inhibiteur similaire à celui de l'acide caféique à la même concentration et à celui de l'acide tannique (0,312 mg/25 µl) avec une différence non significative ($p < 0,05$) contre cette souche. Par contre à 0,312 mg/25 µl, cette algue possède une activité inhibitrice meilleure sur cette souche avec aucune différence significative ($p < 0,05$) avec l'acide caféique à la même concentration.

A l'encontre de *L. innocua*, la quercétine à 0,312 mg/25 µl exerce un effet inhibiteur similaire à celui d'*Ulva lactuca* à 1,25 mg/ 25 µl et celui de *Cystoseira tamariscifolia* à 0,312 et 0,156 mg/ 25 µl. l'étude statistique n'a pas révélé de différences significatives entre les standards quercétine à 1,25 mg/25 µl, acide gallique et catéchine à 0,312 mg/ 25 µl et les algues *Cystoseira tamariscifolia* et *Rhodomela confervoides* à 1,25 mg/ 25 µl, contre cette souche.

Contre la souche *S. aureus*, *Padina pavonica* à 0,625 mg/25 µl exerce une activité inhibitrice identique à celle de la quercétine à 1,25 mg/25 µl et de l'acide tannique et acide gallique à 0,156 mg/25 µl. Ces deux derniers standards, à une concentration de 0,312 mg/25 µl ont présenté des zones d'inhibition avec le même diamètre que *Cystoseira tamariscifolia* (à 0,625, 0,312 et 0,156 mg/25 µl), *Rhodomela confervoides* (à 0,625 mg/25 µl) et *Ulva lactuca* (à 1,25 mg/25 µl).

Aucune différence significative n'est observée entre *Cystoseira tamariscifolia* à 1,25 mg/25 µl et les standards polyphénols acide caféique (0,312 et 0,156 mg/25 µl), acide gallique (1,25 mg/25 µl), acide tannique (0,156 mg/25 µl) et quercétine (1,25 mg/25 µl) contre *P. aeruginosa*. A une concentration plus faible (0,156 mg/25 µl), cette algue et l'algue rouge exercent des effets inhibiteurs similaires avec l'acide gallique à la même concentration et la catéchine à 0,625 mg/25 µl. *Padina pavonica* n'a montré aucune différence significative ($p < 0,05$) avec la catéchine et l'algue rouge à la même concentration (0,625 mg/25 µl) à l'égard de *P. aeruginosa*. L'algue verte, à une concentration de 1,25 mg/25 µl, a révélé une activité inhibitrice similaire avec l'algue rouge et *Padina pavonica* à 0,625 mg/25 µl et la catéchine à 0,625 et 0,156 mg/25 µl, vis-à-vis de cette souche.

Cystoseira tamariscifolia, à 0,156 mg/25 µl, exerce une activité inhibitrice sur *K. pneumoniae*, qui n'est pas différente significativement ($p < 0,05$) avec l'acide gallique (0,625 µg/25 µl), l'acide caféique (1,25 et 0,312 mg/25 µl) et la catéchine (0,312 et 0,156 mg/25 µl). *Rhodomela confervoides*, à 0,156 mg/25 µl, a enregistré un effet similaire avec celui de la quercétine (1,25 mg/25 µl) vis-à-vis de cette souche. Par contre à des concentrations plus élevées cette algue s'est révélée plus active avec un effet inhibiteur similaire avec les polyphénols purs catéchine (1,25 et 0,625 mg/25 µl), acide tannique (0,312 mg/25 µl), acide caféique (0,156 mg/25 µl), acide gallique (0,312 et 0,156 mg/25 µl) ainsi qu'avec l'algue *Cystoseira tamariscifolia* à 0,625 et 0,312 mg/25 µl.

L'algue rouge, à 1,25 et 0,156 mg/25 µl, n'a montré aucune différence significative ($p < 0,05$) avec l'acide gallique (0,625 et 0,312 mg/25 µl), l'acide tannique (0,312 mg/25 µl) et la quercétine (312 mg/25 µl), ainsi qu'avec *Cystoseira tamariscifolia* à 1,25 et 0,156 mg/25 µl à l'encontre de *E. coli*. Par contre à des concentrations intermédiaires (0,625 et 0,312 mg/25 µl), ces deux algues exhibent des activités inhibitrices à l'égard de cette souche avec des diamètres d'inhibition similaires à ceux enregistrés par la catéchine (1,25 mg/25 µl), l'acide caféique (0,625 mg/25 µl), l'acide tannique (0,156 mg/25 µl) et la quercétine (1,25 mg/25 µl). Aucune différence significative n'est enregistrée entre *Padina pavonica* à 0,625 mg/25 µl et les acides caféique et gallique à 0,156 µg/25 µl, ainsi qu'entre cette algue (0,625 et 0,156 mg/25 µl) et la quercétine (0,156 mg/25 µl) à l'égard de *E. coli*.

D'après l'analyse des résultats obtenus, *Rhodomela confervoides*, suivi de *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* ont enregistré des activités antibactériennes vis-à-vis des six souches testées. **Bansemir et al., (2006)** et **Salvador et al. (2007)**, en étudiant l'activité antibactérienne de plusieurs espèces d'algues marines, ont rapporté que les algues rouges exercent de fortes activités antibactériennes. Parmi les trois groupes d'algues marines étudiés par **Kumar et al. 2008**, les algues vertes sont les moins actives. Cela est en accord avec nos observations. **Kandhasamy et Arunachalam (2008)** et **Karthikaidevi et al. (2009)**, au contraire, ont rapporté que les algues vertes sont les plus actives comparées aux deux autres groupes d'algues.

Une fréquence élevée de l'activité, à l'égard des Gram positif, est observée dans la plupart des études, sur les activités antimicrobiennes des algues marines, rapportées dans la littérature (**Tuney et al., 2006; Taskin et al., 2007; Kandhasamy et Arunachalam, 2008; Kumar et al., 2008; Abou-Elela et al., 2009; Chiheb et al., 2009**). Toutefois, dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différences remarquables dans la susceptibilité entre les bactéries Gram positives et Gram négatives. Cependant, des résultats similaires avec notre étude sont rapportés par **Salvador et al. (2007)**, **Shanmughapriya et al. (2008)**, **Rajasulochana et al. (2009b)** et **Cox et al. (2010)**.

Gonzalez del Val et al. (2001), ont rapporté que l'extrait méthanolique de *Padina pavonica* a montré une activité antibactérienne seulement contre *B. subtilis*. Nos résultats montrent qu'à 0,625 mg/25 µl l'extrait méthanolique de *Padina pavonica*, exerce une activité vis-à-vis d'*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *B. subtilis*. **Tuney et al. (2006)**, ont rapporté que les extraits méthanolique, acétonique et diéthyl étherique de *Padina pavonica* n'ont pas d'activité antibactérienne par contre l'extrait éthanolique exerce un effet inhibiteur faible vis-à-vis de *E. coli*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa*.

Kandhasamy et Arunachalam (2008) ont mis en évidence l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de *Padina tetrastomatica* contre *K. pneumoniae*, *E. aerogens*, *M. luteus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *B. subtilis*. Ces auteurs ont rapporté la résistance d'*E. coli* et *S. faecalis*. Dans notre étude, l'algue *Padina pavonica* s'est révélée inactive vis-à-vis de *K. pneumoniae* par contre c'est *E. coli* qui s'est montré sensible. **Chiheb et al. (2009)** ont observé que *Cystoseira tamariscifolia* et *Padina pavonica* ont révélé de faibles activités (10 mm) contre les souches *E. coli* et *K. pneumoniae* mais une forte activité contre *S. aureus* (>20 mm).

L'extrait hexanique d'une algue rouge (*Gracilaria*) étudiée par **Lima-Filho et al. (2002)** a inhibé seulement la croissance de *Bacillus subtilis*. En revanche, Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides* a inhibé la croissance de toutes les souches bactériennes testées. Ce résultat est similaire avec ceux trouvés par **Rajasulochana et al. (2009b)**. Ces auteurs ont montré que les extraits méthanoliques des espèces d'algues rouges ont inhibé la croissance des bactéries *Pseudomonas fluorescense*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* et *Proteus mirabilis*.

Parmi les 13 espèces chlorophyceae testés par **Chiheb et al. (2009)**, l'extrait d'*Ulva lactuca* possède le diamètre d'inhibition le plus large vis-à-vis de *S. aureus* (30 mm) et d'*E. coli* (16 mm). **Kandhasamy et Arunachalam (2008)** ont montré que l'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* exerce une activité contre *S. aureus* (17mm), *B. subtilis* (14 mm), *P. aeruginosa* (13 mm) et *K. pneumoniae* (12 mm). Contrairement à notre étude, l'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca*, à 0,625 mg/25 µl, n'exerce aucune activité sur ces espèces bactériennes sauf sur *S. aureus* (13 mm). Mais à 1,25 mg/25 µl il exerce une bonne activité contre *S. aureus* (16 mm) et *L. innocua* (16 mm). Ces auteurs ont rapporté l'effet négatif de cet extrait sur *E. coli* ce qui est en accord avec notre résultat qui montre qu'à 0,156 et jusqu'à 0,625 mg/25 µl *Ulva lactuca* n'a pas d'effet inhibiteur à l'égard de cette souche. Toutefois, à 1,25 mg/25 µl cet extrait exerce une activité intermédiaire vis-à-vis de cette souche.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la différence entre nos résultats et ceux obtenus dans des études antérieures. Parmi ces facteurs, la variabilité intraspécifique de la production de métabolites secondaires liée à des variations saisonnières (**Karabay-Yavasoglu et al. 2007; Rajasulochana et al., 2009b**). Plusieurs auteurs ont expliqué que les différences entre les résultats sont dues aux protocoles et aux solvants d'extraction (**Karabay-Yavasoglu et al., 2007; Kandhasamy et Arunachalam, 2008; Shanmughapriya et al., 2008; Abou-Elala et al., 2009; Rajasulochana et al., 2009b**) ainsi qu'à la différence des méthodes utilisées (**Karabay-Yavasoglu et al., 2007; Kandhasamy et Arunachalam, 2008; Rajasulochana et al., 2009b**).

II.1.3. Activité antifongique

En plus de l'activité antibactérienne, nos extraits provoquent aussi l'inhibition de la croissance de la levure et des deux champignons filamenteux testés. D'après le tableau XIII on note que l'extrait méthanolique de *Padina pavonica* est le plus actif vis-à-vis de la levure *C. albicans* avec des zones d'inhibition allant de 24 à 26 mm. Suivi de *Rhodomela confervoides* avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 24 mm aux concentrations 0,625 et 0,312 mg/25 µl, elle ne présente aucune différence significative avec *Padina pavonica* à 0,312 mg/25 µl. L'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* s'est montré le moins actif avec des zones d'inhibition de 14 et 12 mm respectivement à 1,25 et 0,625 mg/25 µl. A de faibles concentrations, il possède un effet inhibiteur meilleur qui ne présente pas de différences significatives ($p < 0,05$) avec l'extrait de *Cystoseira tamariscifolia* aux mêmes concentrations, cette algue brune à des concentrations de 1,25 et de 0,625 mg/25 µl est plus active qu'*Ulva lactuca*.

Concernant les champignons filamenteux, *M. ramaniannus* s'est montré sensible aux quatre extraits méthanoliques étudiés avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 26 mm. *Rhodomela confervoides* et *Cystoseira tamariscifolia* sont dotées d'un pouvoir antifongique élevé, elles ont développé des zones d'inhibition respectivement de 24 à 26 mm et de 18 à 22 mm à l'encontre de ce champignon. *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* sont moins actives, elles ont révélé des diamètres d'inhibition (15 à 19 mm) similaires aux mêmes concentrations.

On constate aussi d'après le tableau XIII que l'extrait méthanolique de *Padina pavonica* exerce la meilleure activité inhibitrice, par rapport aux trois autres algues, vis-à-vis d'*A. niger* avec des zones d'inhibition allant de 18 à 20 mm, suivi d'*Ulva lactuca* qui a donné une zone d'inhibition de 15 mm à 0,625 mg/25 µl mais à 1,25 mg/25 µl elle a enregistré des diamètres d'inhibition de 11 mm similaires à ceux obtenus par l'algue rouge à toutes les concentrations testées. *A. niger* est le champignon filamenteux le plus résistant, avec des zones d'inhibition de 8 mm pour *Cystoseira tamariscifolia*.

Tableau XIII: Activité antifongique des extraits méthanoliques des algues marines étudiées.

Algue marine	Dilution (mg/25 µl)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
		<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>M. ramiannus</i>
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	1,25	16,67±00,57 ^{cd}	08,00±00,00 ^b	21,00±00,00 ^e
	0,625	17,33±00,57 ^{de}	08,00±00,00 ^b	19,00±00,00 ^c
	0,312	16,33±00,57 ^c	08,00±00,00 ^b	18,00±00,00 ^b
	0,156	17,67±00,57 ^{ef}	08,00±00,00 ^b	19,00±00,00 ^c
<i>Padina pavonica</i>	1,25	26,00±00,00 ^k	18,00±00,00 ⁱ	15,00±00,00 ^a
	0,625	25,00±00,00 ^j	20,00±00,00 ^k	19,00±00,00 ^c
	0,312	24,00±00,00 ⁱ	19,00±00,00 ^j	15,00±00,00 ^a
	0,156	25,00±00,00 ^j	20,00±00,00 ^k	22,00±00,00 ^f
<i>Rhodomela confervoides</i>	1,25	23,00±00,00 ^h	11,00±00,00 ^d	26,00±00,00 ^j
	0,625	24,00±00,00 ⁱ	11,00±00,00 ^d	25,00±00,00 ⁱ
	0,312	24,00±00,00 ⁱ	11,00±00,00 ^d	24,00±00,00 ^h
	0,156	22,00±00,00 ^g	11,00±00,00 ^d	25,00±00,00 ⁱ
<i>Ulva lactuca</i>	1,25	14,33±00,57 ^b	11,00±00,00 ^d	15,00±00,00 ^a
	0,625	12,33±00,57 ^a	15,00±00,00 ^g	19,00±00,00 ^c
	0,312	16,33±00,57 ^c	13,00±00,00 ^f	15,00±00,00 ^a
	0,156	18,33±00,57 ^f	13,00±00,00 ^f	22,00±00,00 ^f

* A noter que le témoin négatif (méthanol absolu) n'a montré aucune activité.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type (n=3).

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05).

Gonzalez del Val et al. (2001) ont testé la sensibilité de *C. albicans* MY1055, *Saccharomyces cerevisiae* W303 et *Aspergillus fumigatus* MF5668 vis-à-vis de 40 espèces algales maritimes: seules l'algue verte *Cyrtosira barbata* et l'algue rouge *Asparagopsis taxiformis* exercent des effets antifongiques à l'égard de ces trois souches fongiques. Ces auteurs ont rapporté l'effet négatif de *Padina pavonica*. Contrairement à ceci, les quatre espèces d'algues marines étudiées dans ce travail ont enregistré des activités antifongiques. **Tuney et al. (2006)** ont rapporté un effet inhibiteur vis-à-vis de *C. albicans* par l'extrait éthanolique de *Padina pavonica*, par contre l'extrait méthanolique, acétonique et diéthyl étherique se sont montrés inactifs. Ces auteurs ont aussi enregistré des activités antifongiques à l'encontre de cette souche avec seulement les extraits éthanolique et diéthyl étherique des espèces *Ulva rigida* et *Cystoseira mediterranea*. Contrairement à ces résultats, dans notre étude les extraits méthanoliques ont tous révélé une activité antilevurienne.

Comme les souches bactériennes, les souches fongiques sont aussi sensibles aux standards polyphénols utilisés comme le montre le tableau XIV.

Tableau XIV: Activité antifongique de quelques standards polyphénols et d'un antifongique.

Standard polyphénol	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Dilution (mg/25 µl)	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>M. ramaniannus</i>
Acide caféique	1,25	16,67±00,57 ^{cd}	12,00±00,00 ^e	29,00±00,00 ^m
	0,625	17,33±00,57 ^e	12,00±00,00 ^e	27,00±00,00 ^k
	0,312	16,33±00,57 ^c	12,00±00,00 ^e	23,00±00,00 ^g
	0,156	17,67±00,57 ^{ef}	12,00±00,00 ^e	23,00±00,00 ^g
Acide gallique	1,25	32,67±00,57 ^{op}	10,00±00,00 ^c	41,00±00,00 ^s
	0,625	30,33±00,57 ⁿ	10,00±00,00 ^c	40,00±00,00 ^r
	0,312	21,67±00,57 ^g	10,00±00,00 ^c	39,00±00,00 ^q
	0,156	17,33±00,57 ^{de}	10,00±00,00 ^c	39,00±00,00 ^q
Acide tannique	1,25	38,67±00,57 ^s	25,00±00,00 ⁿ	28,00±00,00 ^l
	0,625	34,33±00,57 ^q	26,00±00,00 ^o	25,00±00,00 ⁱ
	0,312	32,33±00,57 ^o	21,00±00,00 ^l	21,00±00,00 ^e
	0,156	30,33±00,57 ⁿ	20,00±00,00 ^k	21,00±00,00 ^e
Catéchine	1,25	40,33±00,57 ^t	00,00±00,00 ^a	43,00±00,00 ^t
	0,625	38,33±00,57 ^s	00,00±00,00 ^a	41,00±00,00 ^s
	0,312	36,33±00,57 ^r	00,00±00,00 ^a	40,00±00,00 ^r
	0,156	33,33±00,57 ^p	00,00±00,00 ^a	39,00±00,00 ^q
Quercétine	1,25	28,67±00,57 ^{lm}	16,00±00,00 ^h	15,00±00,00 ^a
	0,625	29,33±00,57 ^m	16,00±00,00 ^h	18,00±00,00 ^b
	0,312	28,33±00,57 ^l	16,00±00,00 ^h	20,00±00,00 ^d
	0,156	28,33±00,57 ^l	16,00±00,00 ^h	21,00±00,00 ^e
Nystatine (ATF)	1,25	NT	NT	NT
	0,625	18,33±00,00 ^f	19,00±00,00 ^j	38,00±00,00 ^p
	0,312	21,67±00,57 ^g	20,00±00,00 ^k	36,00±00,00 ^o
	0,156	21,67±00,57 ^g	23,00±00,00 ^m	33,00±00,00 ⁿ

NT: Non testé

* A noter que le témoin négatif (méthanol absolu) n'a montré aucune activité.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type (n=3).

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05).

D'après le tableau XIV, on constate des différences significatives ($p > 0,05$) entre les contrôles positifs testés vis-à-vis d' *A. niger* qui s'est révélé le plus résistant avec des zones d'inhibition de 10 mm pour l'acide gallique et 12 mm pour l'acide caféique, quant à la catéchine, elle n'a aucun effet inhibiteur. La quercétine par contre exerce la meilleure activité à l'encontre de ce champignon avec une zone d'inhibition de 16 mm. Contrairement à *A. niger*, *M. ramaniannus* se montre plus sensible, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 43 mm pour la catéchine et 41 mm pour l'acide gallique. L'acide tannique et l'acide caféique ont révélé des zones d'inhibition, respectivement, de 21 à 28 mm et de 23 à 29 mm vis-à-vis de ce champignon. *C. albicans* s'est montré sensible aux standards polyphénols utilisés surtout pour la catéchine (33 à 40 mm), l'acide tannique (30 à 38 mm) et la quercétine (28 à 29 mm). Cependant, aucune différence significative ($p < 0,05$) n'est observée entre l'acide gallique et l'acide caféique à 0,625 et 0,156 mg/25 μ l ainsi qu'entre l'acide tannique à 1,25 μ g/25 μ l et la catéchine à 0,625 mg/25 μ l contre cette levure. L'antifongique testé (nystatine) a montré des zones d'inhibition de 18 à 21 mm vis-à-vis de *C. albicans* et de 19 à 23 mm vis-à-vis d'*A. niger*. Une fois de plus, *M. ramaniannus* s'est montré plus sensible (34 à 38 mm).

L'acide caféique exerce des activités inhibitrices similaires à celles de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* vis-à-vis de *C. albicans*. L'extrait méthanolique de *Padina pavonica* à 1,25 mg/25 μ l possède un effet inhibiteur similaire au standard quercétine aux concentrations 1,25, 0,312 et 0,156 mg/25 μ l contre cette levure. Pour *A. niger*, les algues marines étudiées exercent des effets inhibiteurs meilleurs que la catéchine. L'acide gallique s'est révélé moins actif que *Rhodomela confervoides*, *Ulva lactuca* et *Padina pavonica*. Cette dernière algue a montré des zones d'inhibition plus larges que la quercétine à toutes les concentrations testées mais à 0,156 et 0,625 mg/25 μ l les diamètres d'inhibition sont similaires à celles de l'acide tannique à 0,156 mg/25 μ l contre ce champignon. Quant à *M. ramaniannus*, l'algue rouge a enregistré un effet inhibiteur meilleur que la quercétine. L'acide tannique à 0,625 mg/25 μ l exhibe une activité inhibitrice similaire avec cette algue à 0,625 et 0,156 mg/25 μ l à l'égard de ce champignon. Ce dernier standard à des concentrations de 0,312 et 0,156 mg/25 μ l et la quercétine à 0,156 mg/25 μ l ont développé les mêmes diamètres d'inhibition que l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia*.

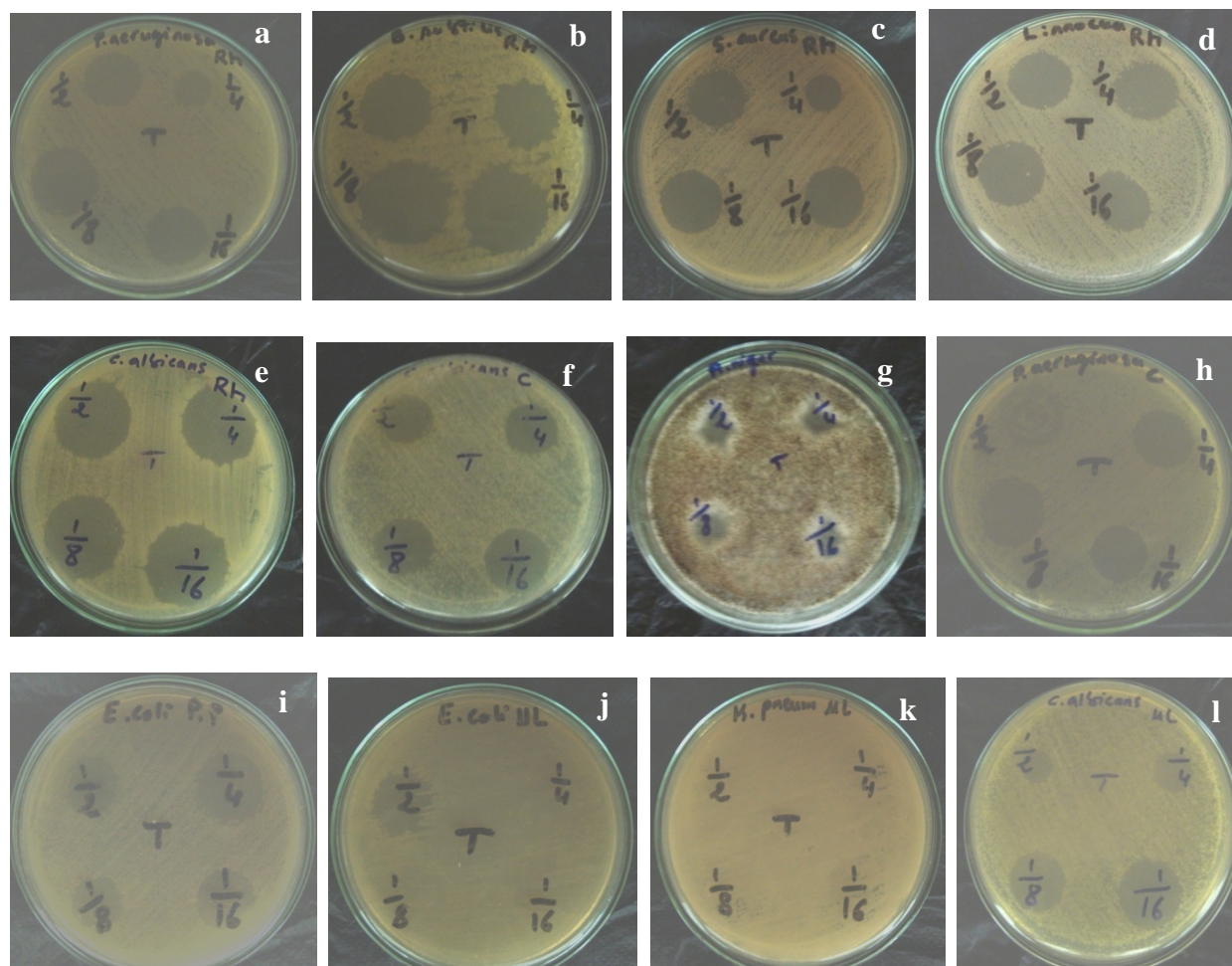


Figure 14: Photographies de quelques zones d'inhibition obtenues par les extraits méthanoliques: *Rhodomedela confervoides* contre *P. aeruginosa* (a), *B. subtilis* (b), *S.aureus* (c) et *C. albicans* (e); *Cystoseira tamariscifolia* contre *Candida albicans* (f), *Aspergillus niger* (g) et *P. aeruginosa* (h); *Padina pavonica* contre *E. coli* (i) et *Ulva lactuca* contre *E. coli* (j), *K. pneumoniae* (k) et *C. albicans* (l).

Dans cette étude, les extraits méthanoliques des quatre algues marines exercent des activités antibactériennes et antifongiques. Ces activités pourraient être attribuées aux composés phénoliques et résultent probablement de l'action d'un ou de plusieurs composés avec un large spectre d'activité ou bien d'un effet synergique entre ces composés. Cette activité antimicrobienne pourrait aussi refléter la variabilité des métabolites secondaires de nos algues marines. Selon **Mtolera et Semesi (1996)**, **Taskin (2007)**, **Shanmughapriya et al. (2008)** et **Patra et al. (2009)**, parmi les composés des algues marines ayant l'activité antimicrobienne les terpènes, les phlorotannins, les stéroïdes, les composés phénoliques, les cétones et les alcanes halogénés, les polysulfures cycliques, les acides gras et l'acide acrylique peuvent être comptés.

II.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB)

On note d'après le tableau XV que les meilleures activités antibactériennes des extraits méthanoliques sont exercées vis-à-vis de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* pour les quatre algues marines étudiées et vis-à-vis de *B. subtilis* seulement pour l'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides*. Cette algue s'est montrée la plus active par des valeurs CMI et CMB respectivement de 0,25 et 0,3 mg/ml vis-à-vis de *S. aureus* et de 0,5 et 0,8 mg/ml vis-à-vis de *B. subtilis*. Quant aux autres souches bactériennes, il y'a absence d'effet inhibiteur pour les quatre extraits méthanoliques et ceci jusqu'à une concentration de 3 mg/ml.

Xu et al. (2003) ont testé les bromophénols de l'algue rouge *Rhodomela confervoides*, ils ont trouvé que le composé di-(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) éther possède le meilleur effet inhibiteur contre les sept souches testées avec des CMI inférieures à 0,7 mg/ml vis-à-vis de *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Il se pourrait que notre extrait comporte ce composé d'où son activité élevée par rapport aux autres extraits malgré son taux faible en composés phénoliques.

On constate aussi d'après le tableau XV que les valeurs des CMI et des CMB des extraits méthanoliques de *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* vis-à-vis de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* sont aux alentours de 1,2 et 1,4 mg/ml. Ces extraits possèdent des effets inhibiteurs bactériostatiques à 1,2 mg/ml. *Cystoseira tamariscifolia* à 1,4 mg/ml, *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* à 1,2 mg/ml exhibent des effets inhibiteurs bactéricides contre *S. aureus*. Par contre la CMB de *Padina pavonica* et *Ulva lactuca* vis-à-vis de *P. aeruginosa* est de 1,4 mg/ml. *Cystoseira tamariscifolia* et *Rhodomela confervoides* exposent des valeurs CMI égales à celles des CMB (1,2 mg/ml) à l'égard de *P. aeruginosa*.

Les CMI, révélées par l'extrait de notre algue *Ulva lactuca*, sont supérieures aux CMI enregistrées pour cette espèce d'algue étudiée par **Abd El-Baky et al. (2008)**, elles sont de 0,4 mg/ml pour toutes leurs souches bactériennes testées (*B. subtilis*, *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*). Cela pourrait être dû au taux élevés en composés phénoliques (4,6 mg Eq AG/g de poudre) par rapport au taux qu'on a trouvé concernant cette algue (0,87 mg Eq Cat/g de poudre).

Tableau XV: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits d'algues marines étudiées sur les souches bactériennes testées.

Algue marine	CMI/CMB (mg/ml)					
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>p. aeruginosa</i>
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	NT/NT	>3/>3	1,2/1,4	>3/>3	>3/>3	1,2/1,2
<i>Padina pavonica</i>	>3/>3	>3/>3	1,2/1,2	>3/>3	NT/NT	1,2/1,4
<i>Rhodomela confervoides</i>	0,5/0,8	>3/>3	0,25/0,3	>3/>3	>3/>3	1,2/1,2
<i>Ulva lactuca</i>	NT/NT	>3/>3	1,2/1,2	>3/>3	NT/NT	1,2/1,4

NT: Non testé.

Tableau XVI: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des standards polyphénols utilisés sur les souches bactériennes testées.

Standard polyphénol	CMI/CMB (mg/ml)					
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. innocua</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>p. aeruginosa</i>
Acide caféique	0,4/0,8	>3/>3	0,2/0,4	0,5/1	0,5/1	>3/>3
Acide gallique	0,4/0,8	0,1/0,1	0,1/0,2	0,5/0,7	0,5/>3	0,1/0,1
Acide tannique	0,1/0,5	0,2/0,2	0,2/0,5	>3/>3	>3/>3	0,1/0,2
Catéchine	0,7/0,9	>3/>3	0,7/0,7	0,7/0,8	0,7/1	>3/>3
Quercétine	>3/>3	>3/>3	>3/>3	>3/>3	>3/>3	>3/>3

Tableau XVII: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits d'algues marines étudiées sur les souches fongiques testées.

Algue marine	CMI/CMF (mg/ml)		
	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>M. ramaniannus</i>
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	2,2/3	2,8/3	1,8/2
<i>Padina pavonica</i>	0,6/1,2	1,2/1,2	0,1/1,2
<i>Rhodomela confervoides</i>	0,1/1	1,2/1,2	0,1/1,2
<i>Ulva lactuca</i>	0,6/1,2	1,2/1,2	0,1/1,2

Tableau XVIII: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des standards polyphénols et d'un antifongique utilisés sur les souches fongiques testées.

Standard polyphénol	CMI/CMF (mg/ml)		
	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>M. ramaniannus</i>
Acide caféique	0,6/1,2	1,2/1,2	0,1/0,1
Acide gallique	0,6/1,2	>3/>3	0,4/1
Acide tannique	0,1/0,4	1,8/1,8	0,1/0,1
catéchine	0,8/1	NT/NT	0,6/1,2
quercétine	>3/>3	>3/>3	1,2/1,2
Nystatine (ATF)	<0,1/<0,1	<0,1/<0,1	<0,1/<0,1

NT: Non testé.

On remarque d'après le tableau XVI, que l'acide gallique et l'acide caféique ont le même effet inhibiteur sur *B. subtilis* avec des CMI et CMB de 0,4 et 0,8 mg/ml. La souche *S. aureus* est la plus sensible avec des CMI et CMB de 0,1 et 0,2 mg/ml pour l'acide gallique et de 0,2 et 0,4 mg/ml pour l'acide caféique. La bactérie Gram positive la plus résistante est *L. innocua* pour l'acide caféique, la catéchine et la quercétine. Ce dernier standard phénolique, à 3 mg/ml, n'a pas d'activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées.

L'acide tannique possède des CMI et CMB supérieures à 3 mg/ml vis-à-vis d'*E. coli* et *K. pneumoniae*, par contre *P. aeruginosa* est la bactérie Gram négative la plus sensible à ce standard qui a exercé un effet bactériostatique à 0,1 mg/ml et un effet bactéricide à 0,2 mg/ml. Quant aux bactéries Gram positives, l'acide tannique s'est montré le plus actif avec des effets bactériostatiques à 0,2 mg/ml sur *L. innocua* et *S. aureus* et à 0,1 mg/ml contre *B. subtilis*. Ce standard est doté d'un effet inhibiteur bactéricide à 0,2 mg/ml à l'égard de *L. innocua* et à 0,5 mg/ml vis-à-vis de *B. subtilis* et *S. aureus*.

La catéchine possède des CMI de 0,7 mg/ml vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées sauf pour *P. aeruginosa* et *L. innocua* qui se montrent résistantes avec des CMI supérieures à 3 mg/ml. La catéchine a révélé un effet bactéricide à 0,7 mg/ml contre *S. aureus* qui est dans ce cas la souche bactérienne la plus sensible. Ce standard présente un effet bactéricide vis-à-vis d'*E. coli*, *B. subtilis* et *K. pneumoniae* à des concentrations respectivement de 0,8 mg/ml, 0,9 mg/ml et 1 mg/ml.

L'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides* est doté du meilleur pouvoir inhibiteur, cet extrait testé vis-à-vis de *B. subtilis* exerce un effet inhibiteur meilleur que la catéchine avec des CMI (0,5 mg/ml) et CMB (0,8 mg/ml) inférieures à ce polyphénol qui a enregistré des CMI et CMB respectivement de 0,7 et 0,9 mg/ml. Cette algue a montré des CMB (0,8 mg/ml) identiques avec l'acide caféique et l'acide gallique vis-à-vis de cette souche. A l'encontre de *S. aureus*, la CMI de cette algue est de 0,25 mg/ml meilleure que la catéchine (0,7 mg/ml). La CMB (0,3 mg/ml) est inférieure à celles de la catéchine (0,7 mg/ml) et des acides caféique (0,4 mg/ml) et tannique (0,5 mg/ml).

La sensibilité des souches *S. aureus* et *E. coli* vis-à-vis de l'acide caféique est confirmée par **Tunçel et Nergiz (1993)** qui ont rapporté des CMI, respectives de 0,4 et 0,35 mg/ml, proches de nos résultats. **Akiyama et al. (2001)** ont rapporté l'effet inhibiteur de l'acide tannique à l'encontre de *S. aureus* avec une CMI de 0,4 mg/ml légèrement plus élevée que la CMI (0,2 mg/ml) observée dans notre étude. **Taguri et al. (2006)** ont aussi confirmé la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de la catéchine et des acides tannique, gallique et caféique. Ces auteurs, en utilisant la même méthode de détermination des CMI, ont révélé des valeurs supérieures à celles trouvées dans notre étude. Les souches que nous avons testées sont donc plus sensibles que les souches de référence testées par ces auteurs. En effet des souches différentes appartenant à la même espèce peuvent montrer des susceptibilités très différentes vis-à-vis d'un même composé (**Cushnie et al., 2003; Sokmen et al., 2004**).

D'après le tableau XVII, On remarque que l'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides* exerce une activité inhibitrice fongistatique à une concentration de 0,1 et un effet inhibiteur fongicide à 1 mg/ml vis-à-vis de *C. albicans*. Comme pour les souches bactériennes, les extraits méthanoliques de *Padina pavonica* et d'*Ulva lactuca* ont donné les mêmes valeurs CMI et CMF avec un effet inhibiteur fongistatique vis-à-vis *M. ramaniannus* et *C. albicans*, respectivement à une concentration de 0,1 mg/ml et 0,6 mg/ml, et avec un effet inhibiteur fongicide à 1,2 mg/ml. Concernant *A. niger*, la concentration 1,2 mg/ml représente les deux effets inhibiteurs en même temps. L'extrait méthanolique de *Cystoseira tamariscifolia* est le moins actif par rapport aux autres avec des CMI et CMF plus élevées pour *M. ramaniannus* (1,8 et 2 mg/ml), *A. niger* (2,8 et 3 mg/ml) et *C. albicans* (2,2 et 3 mg/ml).

On constate, d'après le tableau XVIII, que l'acide caféique et l'acide tannique possèdent des CMI et CMF égales à 0,1 mg/ml contre *M. ramaniannus*. Le champignon filamenteux *A. niger* s'est révélé plus résistant à ces standards, par rapport à *M. ramaniannus*, avec des CMI et CMF égales à 1,2 mg/ml, pour l'acide caféique et 1,8 mg/ml pour l'acide tannique.

Les standards, acide caféique et acide gallique, ont exercé des effets inhibiteurs fongistatiques à 0,6 mg/ml et des effets fongicides à 1,2 mg/ml sur la levure *C. albicans*. L'acide tannique s'est montré plus actif vis-à-vis de cette souche avec une CMI de 0,1 mg/ml et une CMF de 0,4 mg/ml. La catéchine s'est montrée active contre cette levure avec une CMI de 0,8 mg/ml et une CMF de 1 mg/ml. L'activité de ce standard vis-à-vis de *M. ramaniannus* a révélé un effet fongistatique avec une CMI de 0,6 mg/ml et un effet fongicide avec une CMF de 1,2 mg/ml.

La quercétine elle possède des CMI et CMF égales à 1,2 mg/ml contre *M. ramaniannus*. Quant à *C. albicans* et *A. niger* ils se sont montrés plus résistants à ce polyphénol avec des concentrations supérieures à 3 mg/ml.

L'extrait méthanolique de l'algue *Cystoseira tamariscifolia* exerce des effets fongistatiques et fongicides meilleurs que ceux de l'acide gallique et de la quercétine vis-à-vis d'*A. niger* et meilleurs que celui de la quercétine vis-à-vis de *C. albicans*. Les autres standards, testés vis-à-vis de cette levure, ont des effets meilleurs que l'extrait de cette algue.

Les extraits méthanoliques des algues *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* exercent des effets fongistatiques similaires à celui de l'acide tannique et meilleurs que les autres standards vis-à-vis de *C. albicans*. Ces algues exhibent un effet fongicide identique à celui de la catéchine et meilleur que l'acide gallique, l'acide caféique et la quercétine mais plus faible que l'acide tannique à l'égard de cette levure. Ces extraits exercent des effets fongistatiques, vis-à-vis de *M. ramaniannus*, similaires à l'acide caféique et l'acide tannique et meilleurs que d'autres standards et un effet fongicide similaire à la catéchine et plus faible que les autres standards. Ces mêmes extraits vis-à-vis d'*A. niger* ont montré des CMI et CMF égales à celles de la catéchine mais meilleures que l'acide gallique et la quercétine.

La nystatine exerce des effets inhibiteurs meilleurs que les extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées et les standards polyphénols utilisés. Elle possède des CMI/CMF inférieures à 0,1 mg/ml.

II.3. Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine *Rhodomela confervoides* à l'égard de *S. aureus* sur milieu liquide

La figure 15 présente l'évolution du nombre de *S. aureus* ensemencé à 10^7 UFC/ml en fonction du temps, en présence et en absence de l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Rhodomela confervoides*. L'effet de l'extrait de cette algue marine contre *S. aureus* est réalisé avec une concentration de 0,1 mg/ml. Les dénombrements sont effectués toutes les deux heures pendant 24h d'incubation à 37°C.

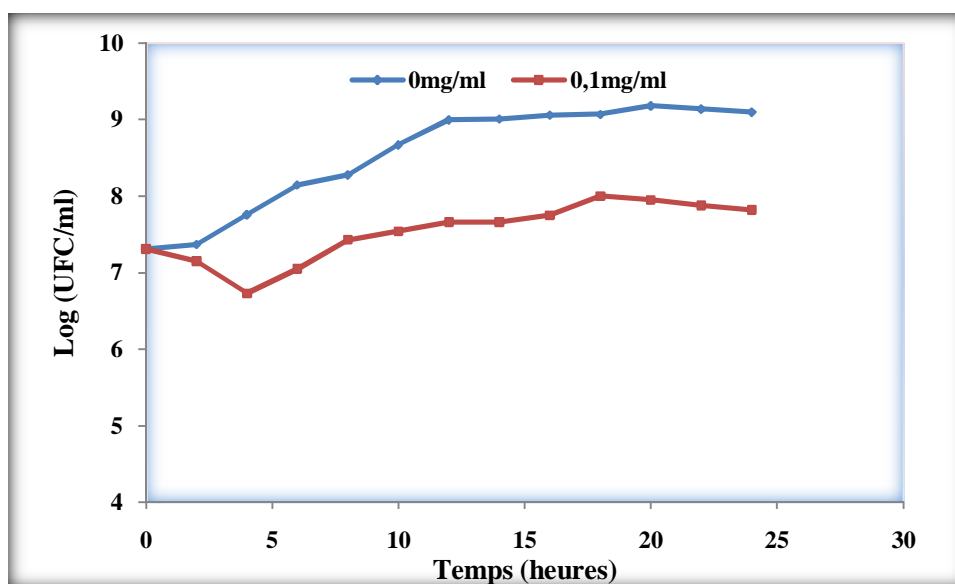


Figure 15: Effet de l'extrait méthanolique de l'algue marine *Rhodomela confervoides* à l'égard de *S. aureus* sur milieu liquide.

Les résultats, rapportés sur cette figure, montrent que la souche *S. aureus* en absence de l'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides* suit une courbe de croissance normale, aborde la phase exponentielle dès le début de la culture. Tandis qu'en présence de l'extrait, comparativement au témoin, une réduction de 1 log d'UFC/ml est obtenue avec la concentration de 0,1 mg/ml d'extrait de cette algue, dans un intervalle de 4H. À partir de la 5^{ème} heure de culture, le nombre de cellules restant suit une courbe de croissance normale.

Après 24 h le nombre de cellules de *S. aureus* dans la culture du témoin est de $1,2 \times 10^9$ UFC/ml. En présence de l'extrait, le taux est nettement inférieur à celui de *S. aureus* en culture pure, il est réduit à $6,6 \times 10^7$ UFC/ml. On déduit que l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Rhodomela confervoides* exerce un effet inhibiteur sur la croissance de *S. aureus* ce qui confirme, une fois de plus, que cet extrait possède des substances actives à effets antibactériens.

III. Activité antioxydante

III.1. Pouvoir réducteur

La figure 16 montre des différences significatives ($P > 0,05$) entre les quatre espèces d'algues marines ainsi que les standards utilisés. Les extraits méthanoliques des algues brunes exercent les meilleures activités réductrices. *Padina pavonica* s'est montrée plus performante avec des valeurs d'absorbance de $0,297 \pm 0,025$ à une concentration de 1 mg/ml et de $0,19 \pm 0,001$ à une concentration de 0,5 mg/ml. Suivi de *Cystoseira tamariscifolia* avec une absorbance de $0,125 \pm 0,011$ à une concentration de 1 mg/ml et de $0,089 \pm 0,021$ à une concentration de 0,5 mg/ml. L'extrait méthanolique de *Rhodomela confervoides* enregistre des valeurs de ($0,106 \pm 0,025$ et de $0,06 \pm 0,001$ à des concentrations de 1 et 0,5 mg/ml, respectivement) et qui n'indiquent aucune différence significative avec les standards BHA, acide gallique et acide tannique. *Ulva lactuca* est l'espèce la moins performante. Toutefois, elle enregistre des valeurs de $0,033 \pm 0,003$ et de $0,024 \pm 0,007$ à des concentrations respectives de 1 et 0,5 mg/ml, mais qui ne présentent aucune différence significative ($P > 0,05$) avec la quercétine.

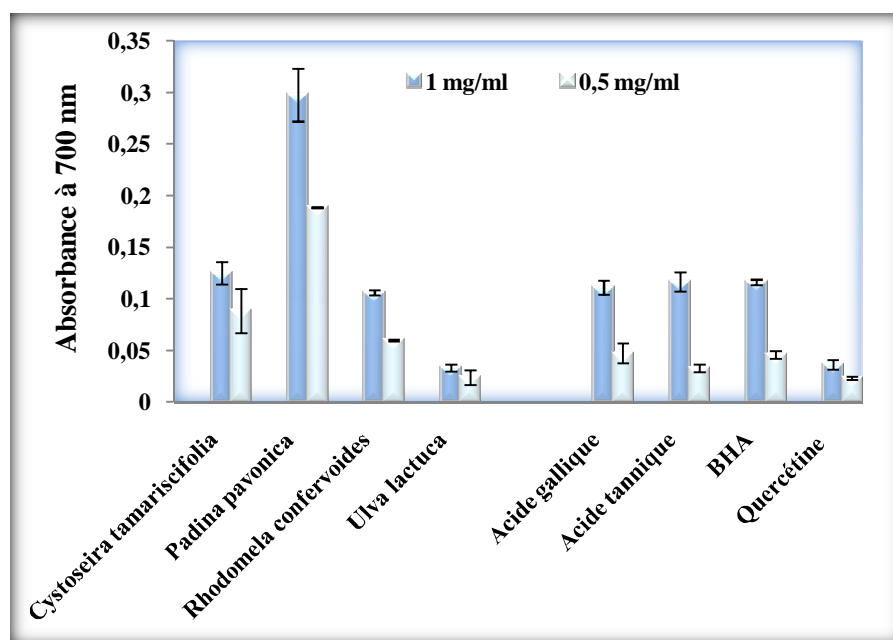


Figure 16: Représentation graphique du pouvoir réducteur des extraits d'algues marines étudiées et de quelques standards.

Les barres verticales représentent les écarts-types.

La capacité réductrice des quatre extraits méthanoliques indique probablement la présence d'agents réducteurs, tels que les polyphénols, qui réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du complexe Fe^{3+} /ferricyanure en fer ferreux Fe^{2+} .

Les concentrations de 1 et 0,5 mg/ml en extraits méthanoliques des quatre espèces d'algues marines étudiées exposent des valeurs d'absorbance inférieures à 1. Des résultats similaires que notre étude sont observés par **Kuda et al. (2005a,b)**, **Chandini et al. (2008)** et **Ganesan et al. (2008)**. Toutefois, une valeur d'absorbance supérieure à nos résultats est rapportée par **Devi et al. (2008)**. Ces auteurs ont constaté que l'algue rouge *Gelidiella acerosa*, à 0,1 mg/ml, exerce la meilleure activité réductrice avec une valeur d'absorbance de 1,326 supérieure à celle du contrôle positif, le BHT (1,18).

Nos résultats, exprimés en μg d'acide ascorbique pour 1 mg d'extrait, sont de $28,69 \pm 2,32$, 13 ± 1 , $11,3 \pm 0,22$ et $4,66 \pm 0,32$ μg d'acide ascorbique pour, respectivement, *Padina pavonica*, *Cystoseira tamariscifolia*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca*. Ces résultats sont supérieurs à ceux de **Yuan et Wash (2006)**, à la même concentration, pour une algue rouge *Palmaria palmata* (4,48 μg d'acide ascorbique) et trois algues brunes *Laminaria setchellii* (2,57 μg d'acide ascorbique), *Macrocystis integrifolia* (3,35 μg d'acide ascorbique) et *Nereocystis leutkeana* (2,23 μg d'acide ascorbique). **Yuan et al. (2005)** ont déterminé qu'un mg d'extrait d'une algue rouge *Palmaria palmata* exhibe une activité réductrice équivalente à 9,68 μg d'acide ascorbique. Ce résultat est inférieur à celui que nous avons noté pour l'algue rouge *Rhodomela confervoides* ($11,3 \pm 0,22$ μg d'acide ascorbique).

III.2. Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

L'analyse statistique des pourcentages d'inhibition du peroxyde d'hydrogène a révélé des différences significatives ($P < 0,05$) entre tous les extraits méthanoliques. La figure 17 montre que *Rhodomela confervoides* exerce la meilleure activité avec des pourcentages d'inhibition du H_2O_2 , à des concentrations de 1 et 0,5 mg/ml, respectivement de $97,76 \pm 0,170\%$ et de $88,69 \pm 0,03\%$. Suivi de *Padina pavonica* avec un pourcentage d'inhibition de $97,10 \pm 0,175$ à une concentration de 1 mg/ml et de $71,24 \pm 0,19$ à une concentration de 0,5 mg/ml. *Cystoseira tamariscifolia* inhibe $74,58 \pm 0,155\%$ du H_2O_2 à une concentration de 1 mg/ml, à 0,5 mg/ml elle inhibe seulement à $30,82 \pm 0,19\%$. Malgré sa forte concentration en polyphénols totaux comparée à l'algue rouge, l'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* enregistre la plus faible activité avec un taux d'inhibition du H_2O_2 de $36,01 \pm 0,14\%$ et de $26,10 \pm 0,19\%$ à des concentrations, respectives, de 1 et 0,5 mg/ml. La décomposition de H_2O_2 en eau implique un transfert d'électrons (**Balasundram et al., 2005**). De ce fait, l'inhibition du peroxyde d'hydrogène par les extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées pourrait être due à la présence de composés ayant la capacité de donner des électrons comme les composés phénoliques.

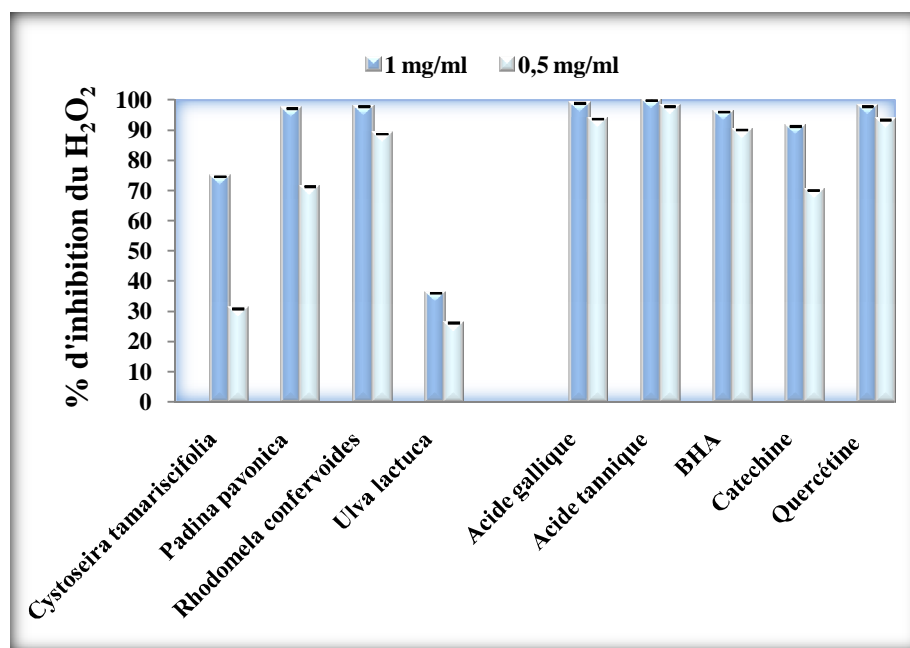


Figure 17: Représentation graphique du pourcentage scavenger du peroxyde d'hydrogène par les extraits d'algues marines étudiées et de quelques standards. Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les standards acide tannique, acide gallique et quercétine sont plus performants que les extraits méthanoliques, des quatre algues marines étudiées, avec des pourcentages d'inhibition compris dans l'intervalle de $98,81 \pm 0,19\%$ à $99,79 \pm 0,17\%$ à une concentration de 1 mg/ml et de $93,31 \pm 0,17\%$ à $97,77 \pm 0,19\%$ à une concentration de 0,5 mg/ml. Toutefois, *Rhodobela confervoides* enregistre un pourcentage d'inhibition plus élevé que les standards BHA ($96 \pm 0,17\%$ et $96 \pm 0,17\%$ à 1 et 0,5 mg/ml respectivement) et catéchine ($91,23 \pm 0,19\%$ et $70,03 \pm 0,05$ à 1 et 0,5 mg/ml respectivement). Ainsi que, *Padina pavonica* qui se montre plus performante que la catéchine.

III.3. Activité scavenger du radical DPPH

Les résultats du pouvoir antiradicalaire, des extraits méthanoliques, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la figure 18, pour les extraits méthanoliques des algues marines étudiées, et dans la figure 19 pour quelques standards utilisés. Ces figures indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) concernant la capacité des extraits méthanoliques de piéger le radical DPPH. On constate que l'effet scavenger du radical DPPH augmente au fur et à mesure que les concentrations en extraits méthanoliques augmentent.

Les IC_{50} sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (Villano *et al.*, 2007).

Les deux algues brunes *Padina pavonica* et *Cystoseira tamariscifolia*, une fois de plus, se montrent plus performantes (tableau XIX). Elles enregistrent les plus faibles valeurs IC₅₀ soient 22,86 et 45,04 mg/ml, respectivement. Quant à *Ulva lactuca*, elle présente la valeur IC₅₀ la plus élevée (>100 mg/ml), cela reflète notamment le plus faible effet antiradicalaire. Malgré la faible teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Rhodomela confervoides*, celle-ci exerce une activité antiradicalaire (70,47 mg/ml) meilleure que celle d'*Ulva lactuca*.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Yan et al. (1998)** et **Jiménez-Escrig et al. (2001)** qui ont rapporté que la capacité scavenger des algues brunes vis-à-vis du radical DPPH est supérieure à celle des algues rouges.

Les standards utilisés présentent des IC₅₀ inférieures à celles des algues marines étudiées avec des valeurs comprises entre 0,10 et 0,54 mg/ml. **Nahas et al. (2007)** ont montré que l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique d'une algue brune *Taonia atomaria* est 85 fois plus faible que la quercétine et 20 fois plus faible que l'acide ascorbique. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Zubia et al. (2007)** pour les standards BHA (0,06 mg/ml) et acide ascorbique (0,09 mg/ml). Toutefois, ces auteurs ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ BHT (0,16 mg/ml) et α -tocopherol (0,31 mg/ml) supérieures à celles enregistrées par **Ismail et Hong (2002)** (0,08 mg/ml et 0,09 mg/ml pour le BHT et l' α -tocopherol, respectivement).

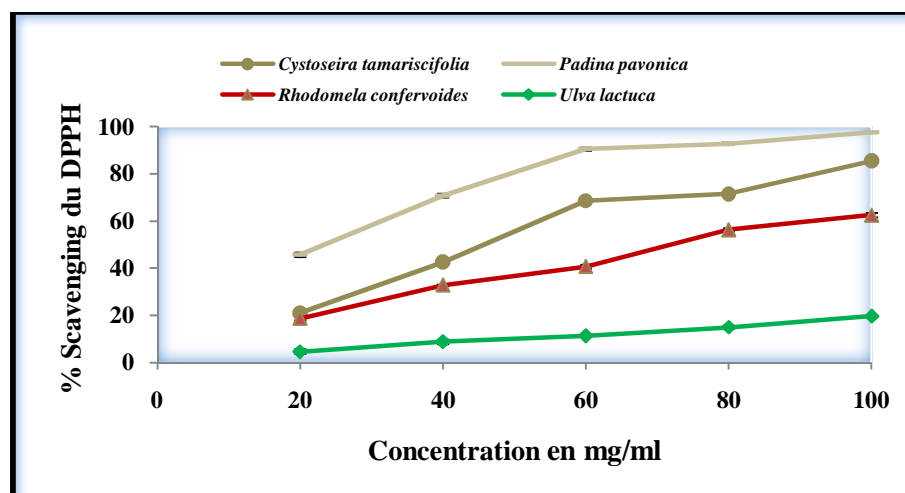


Figure 18: Activité scavenger du radical DPPH par les extraits d'algues marines étudiées à différentes concentrations.

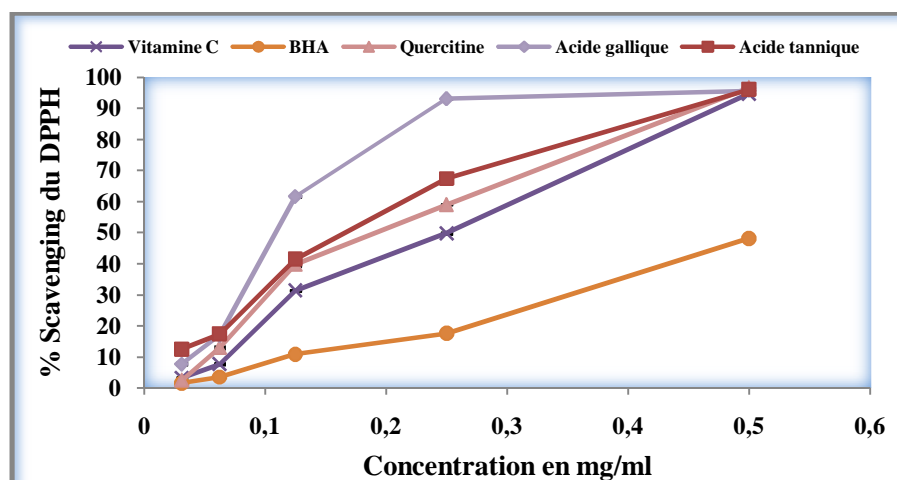


Figure 19: Activité scavenger du radical DPPH par les standards testés à différentes concentrations.

Tableau XIX: Les IC_{50} des extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées et de quelques standards.

Les extraits méthanoliques	Les IC_{50} (mg/ml)
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	$45,04 \pm 0,0887^c$
<i>Padina pavonica</i>	$22,86 \pm 1,3434^d$
<i>Rhodobela confervoides</i>	$70,47 \pm 0,7191^b$
<i>Ulva lactuca</i>	$>100^a$
Vitamine C	$0,24 \pm 0,0005^f$
BHA	$0,54 \pm 0,0005^e$
Quercétine	$0,19 \pm 0,0010^g$
Acide gallique	$0,10 \pm 0,0010^i$
Acide tannique	$0,16 \pm 0,0011^h$

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Zubia et al. (2007) ont rapporté une IC_{50} de 34,88 mg/ml pour l'algue brune *Dictyota crenulata*, supérieure à l' IC_{50} de notre algue *Padina pavonica* (22,86 mg/ml), et des IC_{50} pour les algues rouges *Gracilaria cornea* (72,51 mg/ml) et *Halymenia floresii* (77,71 mg/ml), relativement proche de l' IC_{50} de notre algue *Rhodomela confervoides* (70,47 mg/ml). Des valeurs inférieures à cette dernière sont enregistrées dans la littérature. **Yuan et al. (2005)** ont révélé une IC_{50} de 12,5 mg/ml pour un extrait méthanolique d'une algue rouge *Palmaria palmata*. **Sreenivasan et al. (2007)** ont rapporté une valeur en IC_{50} de 14,7 mg/ml pour l'extrait méthanolique de l'algue rouge *Gracilaria changii*.

Zubia et al. (2007) ont constaté de faibles activités réductrices du radical DPPH par les algues *Enteromorpha intestinalis* et *Decorticatedum Codium* ($43,23 \pm 0,28$ et $51,48 \pm 0,25$ mg/ml, respectivement). Toutefois, notre algue *Ulva lactuca* se montre beaucoup moins active que ces algues vertes, avec une valeur d' IC_{50} supérieure à 100 mg/ml.

Des pourcentages d'inhibition du radical DPPH supérieurs à ceux qu'on a trouvés pour les extraits méthanoliques des quatre algues marines étudiées, sont observés dans plusieurs études. Parmi celles-ci l'étude réalisée par **Chandini et al. (2008)** qui ont montré que des extraits méthanoliques, à une concentration de 1 mg/ml, des algues brunes *Turbinaria conoides*, *Padina tetrastomatica* et *Sargassum marginatum* présentent des activités scavenger du radical DPPH de 17,35, 14,78 et 11,00%, respectivement. Toutefois, ces pourcentages d'inhibition sont inférieurs à ceux constatés par **Cho et al. (2007)** qui ont trouvé que l'extrait éthanolique d'une algue brune *Sargassum siliquastrum* exerce un effet scavenger de 95% à 0,5 mg/ml.

L'étude effectuée par **Ganesan et al. (2008)** a révélé des pourcentages d'inhibition du radical DPPH pour les algues *Euchema kappaphycus*, *Acanthophora spicifera* et *Gracilaria edulis*, respectivement de 11,9, 6,91 et 5,20%. Ces pourcentages sont supérieurs à ceux trouvés par **Sreenivasan et al. (2007)** à la même concentration en extrait méthanolique (1 mg/ml) pour une espèce d'algue rouge *Gracilaria changii* avec un pourcentage d'inhibition de 4,3%.

La différence entre les résultats est probablement due aux caractéristiques des composants antioxydants extraits des algues marines (**Ismail et Hong, 2002**). En fait, **Heo et al. (2005)** ont expliqué que d'autres substances présentes dans les extraits d'algues, comme les molécules de faible poids moléculaire, telles que les pigments, les protéines ou les peptides et les polysaccharides peuvent influencer l'activité antioxydante.

Cystoseira tamariscifolia et *Padina pavonica* sont dotées d'une activité antioxydante meilleure que *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca*. L'activité antioxydante de ces deux algues brunes pourrait être attribuée aux phlorotannins. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Matsukawa *et al.* (1997)** et **Al-Amoudi *et al.* (2009)**, qui ont trouvé que l'activité antioxydante des algues brunes est supérieure à celle des algues rouges et vertes.

L'algue *Ulva lactuca* enregistre la meilleure teneur en polyphénols totaux mais elle présente la plus faible activité antioxydante. Cela pourrait être lié à la nature et la structure des polyphénols présents qui conditionnent cette activité, mais aussi à une probable présence plus importante, dans les trois autres algues, de composés non phénoliques ayant un pouvoir antioxydant tels que les vitamines, les caroténoïdes et les polysaccharides sulfatés. L'activité antioxydante des polysaccharides sulfatés des algues brunes et rouge a été rapportée par **Xue *et al.* (2001)**, **Zhang *et al.* (2003)**, **Rocha de Souza *et al.* (2007)**, **Zhao *et al.* (2008)**, **Costa *et al.* (2010)** et **Wang *et al.* (2010)**.



Conclusion

Conclusion

Les travaux réalisés jusqu'à présent en Algérie ont surtout porté sur les plantes médicinales terrestres. Peu de résultats, concernant l'activité antimicrobienne et antioxydante des algues marines sont disponibles. Actuellement les algues sont de plus en plus consommées et utilisées pour l'extraction de molécules biologiquement actives.

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne, vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives et de champignons, ainsi qu'à l'évaluation du pouvoir antioxydant d'extraits de quatre algues marines de la cote de Béjaïa à savoir *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca*.

Les résultats des teneurs des extraits en polyphénols totaux ont montré qu'*Ulva lactuca* et *Cystoseira tamariscifolia* en sont les plus riches ($0,87 \pm 0,027$ et $0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g de poudre, respectivement) tandis que *Rhodomela confervoides* en est la plus pauvre ($0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g de poudre). Concernant les teneurs des extraits en tannins, l'algue rouge est la moins riche en ces composés ($7,95 \pm 0,38$ μg Eq AT/g de poudre) par contre l'algue brune *Padina pavonica* a enregistré la teneur la plus élevée ($25,91 \pm 0,37$ μg Eq AT/g de poudre). Quant aux teneurs en flavonoïdes, les résultats du dosage des quatre extraits sont négatifs, indiquant probablement l'absence de ces composés ou bien leur présence mais à l'état de trace.

L'évaluation de l'effet antimicrobien montre que la plupart des souches microbiennes testées sont sensibles aux extraits des algues marines étudiées. En comparant la sensibilité des souches cibles, nous ne remarquons pas de différences significatives dans la susceptibilité entre les bactéries Gram positives et Gram négatives. Cela est en accord avec quelques études réalisées dans cette optique. Les extraits méthanoliques se sont montrés également actifs vis-à-vis les souches fongiques testées. Ceci pourrait refléter soit le large spectre d'activité d'un ou des composés phénoliques de ces extraits ou bien la variabilité des métabolites secondaires des quatre algues marines étudiées. Une activité antimicrobienne importante est notée pour l'algue marine rouge *Rhodomela confervoides* qui est active à l'égard de toutes les souches testées.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est réalisée par trois méthodes complémentaires, à savoir le pouvoir réducteur, l'inhibition du H_2O_2 et le piégeage du radical DPPH. Les extraits méthanoliques des algues brunes exercent les meilleurs pouvoirs réducteurs.

Padina pavonica s'est montrée plus performante avec des valeurs d'absorbance de $0,297 \pm 0,025$ et de $0,19 \pm 0,001$ à 1 mg/ml et 0,5 mg/ml, respectivement. Pour l'activité scavenger du H_2O_2 , *Rhodomela confervoides* exerce la meilleure activité avec des pourcentages d'inhibition du H_2O_2 , à des concentrations de 1 et 0,5 mg/ml, respectivement de $97,76 \pm 0,170\%$ et de $88,69 \pm 0,03\%$. Quant aux résultats du pouvoir antiradicalaire, des extraits méthanoliques, les deux algues brunes *Padina pavonica* et *Cystoseira tamariscifolia* se montrent plus performantes avec les plus faibles valeurs IC_{50} (22,86 et 45,04 mg/ml, respectivement). Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé une faible activité de l'algue verte *Ulva lactuca* bien qu'elle soit la plus riche en composés phénoliques. Les deux algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Padina pavonica*, en revanche, ont enregistré les meilleures activités antioxydantes. Cela pourrait être dû à la nature des composés phénoliques des extraits méthanoliques mais aussi à une probable présence d'autres composés influençant cette activité.

Il ressort de la présente étude que les algues marines étudiées peuvent être utilisées comme une bonne source naturelle d'agents antibactériens, antifongiques et antioxydants. Dans cette étude nous avons utilisé des extraits bruts, ce qui ne nous renseigne nullement sur les composés actifs responsables des activités antimicrobiennes et antioxydantes. Il serait donc nécessaire de:

- Procéder à une séparation de ces composés, afin de les tester séparément et identifier ceux, parmi eux, actifs.
- Etudier d'autres activités, telles que les inhibitions d'enzymes.
- Réaliser des tests *in vivo* pour évaluer certaines activités thérapeutiques (activités antidiabétique, anti-hypertensive, anti-inflammatoire, antitumorale, etc).
- Réaliser des tests de cytotoxicité pour, éventuellement, éviter les doses toxiques en thérapeutique.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abd El-Baky H.H., El Baz F.K. and El-Baroty G.S. (2008). Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, **7** (11): 3353-3367.

Abou-Elela G.M., Abd-Elnaby H., Ibrahim H.A.H. and Okbah M.A. (2009). Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. *World Applied Sciences Journal*, **7** (7): 872-880.

Ahn C.B., Jeon Y.J., Kang D.S., Shin T.S. and Jung B.M. (2004). Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance spectrometry. *Food Research International*, **37**: 253-258.

Akiyama H., Fujii K., Yamazaki O., Oono T. and Iwatsuki T. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial chemotherapy*, **48**: 487-491.

Al-Amoudi O.A., Mutawie H.H., Patel A.V. and Blunden G. (2009). Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah cornice algae, Saudi Arabia. *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.

Arnold T.M. and Targett N.M. (1998). Quantifying in situ rates of phlorotannins synthesis and polymerization in marine brown algae. *Journal of Chemical Ecology*, **24** (3): 577-595.

Aruoma O.I., Bahorun T. and Jen L.S. (2003). Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, **544**: 203-215.

Athukorala Y., Kim K.N. and Jeon Y.J. (2006). Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, **44**: 1065-1074.

B

Balasundram N., Yew Ali T., Sambanthamurthi R., Sundram K. and Samman S. (2005). Antioxidant properties of plum fruit extracts. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*, **4** (44): 319-324.

Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, **99**: 191-203.

Bandyopadhyay U., Das D. and Banerjee R.K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current science*, **77** (5): 658-666.

Bansemir A., Blume M., Schröder S. and Lindequist U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, **252**: 79-84.

Barreira J.C.M., Ferreira I.C.F.R., Oliveira M.B.P.P. and Pereira J.A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, **107**: 1106-1113.

Barsanti L. Gualtieri P. (2006). Algae: Anatomy, biochemistry and biotechnology. Ed. *CRC press Taylor & Francis group*. Boca Raton, London and New York, P: 320.

Barsanti L., Coltelli P., Evangelista V., Frassanito A.M., Passarelli V., Vesentini N. and Gualtieri P. (2008). The world of algae *In Algal toxins: Nature, occurrence, effect and detection*. Ed. *NATO Science for Peace and Security Series A. Chemistry and Biology*, Pisa, P: 398.

Bennick A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*, **13** (2):184-196.

Berger M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: Etat des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20**: 48-53.

Bhakuni D.S. and Rawat D.S. (2005). Bioactive marine natural products. Ed. *Anamaya*. India, P: 396.

Blanco R.T., Sudano-Roccaro A. and Spoto G.C. (2005). Epigallocatechin gallate inhibits biofilm formation by ocular Staphylococcal isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49** (10): 4339-4343.

Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, **56** (11): 317-333.

Burtin P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, **2** (4): 498-503.

C

Cabioc'h J., Flocc'h J.Y., Le Toquin A., Boudouresque C.F., Meinesz A. et Verlaque M. (1992). Guide des algues des mers d'Europe. Ed. *Delachaux et Niestlé*. France, P: 231.

Cai Y., Luo Q., Sun M. and Corke H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, **74**: 2157-2184.

Calsamiglia S., Busquet I.M., Cardozo P.W., Castillejos L. and Ferret A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal Dairy Science*, **90**: 2580-2595.

Caquet R. (2004). 250 examens de laboratoire: Prescription et interprétation. Ed. *Masson*. Paris, P: 453.

Chandini S.K., Ganesan P. and Bhaskar N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, **107**: 707-713.

Chavan U.D., Shahidi F. and Naczk M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, **75**: 509-512.

- Chen Y. and Hagerman A.E. (2004a).** Characterization of soluble son-covalent complexes between bovine serum albumin and β -1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-D-glucopyranose by MALDI-TOF MS. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **52**: 4008-4011.
- Chen Y. and Hagerman A.E. (2004b).** Quantitative Examination of Oxidized Polyphenol-Protein Complexes. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **52**: 6061-6067.
- Chew Y.L., Lim Y.Y., Omar M. and Khoo K.S. (2008).** Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*, **41**: 1067-1072.
- Chiheb I., Riadi H., Martinez-Lopez J., Dominguez Seglar José F., Gomez Vidal José A., Bouziane H. and Kadiri M. (2009).** Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, **8** (7): 1258-1262.
- Cho S.H., Kang S.E., Cho J., Kim A., Park S., Hong Y. and Ahn D. (2007).** The Antioxidant Properties of Brown Seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *Journal of Medicinal Food*, **10** (3): 479-485.
- Choudhury S., Sree A., Mukherjee S.C., Pattnaik P. and Bapuji M. (2005).** *In Vitro* Antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against fish pathogens. *Asian Fisheries Science*, **18**: 285-294.
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Communiqué 2009.**
- Costa L.S., Fidelis G.P., Cordeiro S.L., Oliveira R.M., Sabry D.A., Câmara R.B.G., Nobre L.T.D.B., Costa M.S.S.P., Almeida-Lima J., Farias E.H.C., Leite E.L. and Rocha H.A.O. (2010).** Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **64**: 21-28.
- Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, **12** (4):12-14.
- Cox S., Abu-Ghannam N. and 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.
- Crozier A., Jaganath I.B. and Clifford M.N. (2006).** Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview *In* Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet. Ed. *Ltd.* Singapore, P: 1-24.
- Cushnie T.P.T., Hamiltone V.S.E. and Lamb J.A. (2003).** Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Reserche*, **158**: 281-289.
- Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005a).** Antimicrobial activity of flavonoïds. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **26**: 343-356.
- Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2006).** Assessment of the antibacterial activity of galangin against 4-quinolone resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine*, **13**: 187-191.

D

Davis T.A., Volesky B., Mucci A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*, **37**: 4311-4330.

Deby-Dupont G., Deby C. and Lamy M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, **11**: 28-39.

Dembitsky V.M. and Tolstikov G.A. (2003). Natural halogenated complex phenols. *Chemistry for Sustainable Development*, **11**: 811-822.

Deore S.L., Khadabadi S.S., Baviskar B.A., Khadabadi S.S., Khangenbam R.A., Koli U.S., Daga N.P., Gadbail P.A. and Jain P.A. (2008). In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemistry Technology Research*, **1** (2): 174-176.

Derbel S. et Ghedira K. (2005). Phytothérapie et nutrition: Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, (1): 28-34.

Devi K.P., Suganthy N., Kesika P. and Pandian S.K. (2008). Bioprotective properties of seaweeds: *In vitro* evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **38** (8): 1472-6882.

Dhargalkar V. K. and Pereira N. (2005). Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and culture*, **71**: 60-66.

Dhargalkat V.K. and Verlecar X.N. (2009). Southern ocean seaweeds: A resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture*, **287**: 229-242.

Djeridane A., Yous. M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654-660.

Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M. and Wang B.G. (2006). Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, **95**: 37-43.

Dykens J.S., Shick J.M., Benoit C., Buettner G.R. and Winston G.W. (1992). Oxygen radical production in the sea anemone *anthopleura elegantissima* and its endosymbiotic algae. *J. exp. Biol.* **168**: 219-241.

E

Eloff J.N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. *Journal of Ethnopharmacology*, **60**: 1-8.

Erlund I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, **24**: 851-874.

F

Faten M.A.E. and Emad A.H. (2009). Antioxidant activity of extract and semi-purified fractions of marine red macroalga, *Gracilaria Verrucosa*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **3** (4): 3179-3185.

Flodin C. and Whitfield F.B. (1999). Biosynthesis of bromophenols in marine algae. *Wat. Science Technology*, **40** (6): 53-58.

Funatogawa K., Hayshi S., Shimomura H., Yoshida T., Hatano T., Ito H. and Hirai Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plant against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.*, **48** (4): 251-261.

G

Ganesan P., Kumar C.S. and Bhaskar N. (2008). Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, **99**: 2717-2723.

Gayral P. (1975). Les algues: Morphologie cytologie reproduction écologie. Ed. *Doin*. Paris, P: 166.

Genovese G., Tedone L., Hamann M.T. and Morabito M. (2009). The mediterranean red alga *Asparagopsis*: A source of compounds against *Leishmania*. *Marine Drugs*, **7**: 361-366.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.

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. and Pelaez F. (2001). Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Island, Spain). *International Microbial*, **4**: 35-40.

Gribble G.W. (2000). Natural chlorine updates. Ed. *Periodic updates to the natural halogen Literature*. USA, P: 12.

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. *Dunod*. Paris, P: 652.

Gulçin I., Oktay M., Kireççi E. and Küfreviölu O. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food Chemistry*, **83**: 371-382.

Gulçin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A. and Elias R. (2006). Screening of antiradical and antioxidant activity of onodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. *Phytomedicine*, **13**: 343-351.

Gunji S., Santoso J., Yoshie-Stark. and Suzuki T. (2007). Effects of extracts from tropical seaweeds on DPPH radicals and caco-2 cells treated with hydrogen peroxide. *Food Science Technology Research*, **13** (3): 275-279.

H

- Hagerman A. E. and Bulter L. G. (1978).** Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **26**: 809- 812.
- Hagerman A. E. and Bulter L. G. (1989).** Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology*, **15** (6): 1-16.
- Hagerman A.E., Rice M.E. and Ritchard N.T. (1998).** Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin16 (4f8) catechin (procyanidin). *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **46**: 2590-2595.
- Häkkinen S. (2000).** Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Ed. *Medical Sciences*. Kuopio, P: 92.
- Hammerschmidt R. (2005).** Phenols and plant-pathogen interactions: The saga continues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **66**: 77-78.
- Hassenklover T. and Bickmeyer U. (2006).** The marine secondary metabolites 2,4-dibromophenol and 2,4,6-tribromophenol differentially modulate voltage dependent ion currents in neuroendocrine (PC12) cells. *Aquatic Toxicology*, **79**: 384-390.
- Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M. and Hamdi H. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, **105** (3): 1126-1134.
- Heim K.E., Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572-584.
- Henis Y., Tagari H., and Volcani R. (1964).** Effect of water extracts of carob pods, tannic acid, and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Applied Microbiology*, **12** (3): 204-209.
- Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2005).** Pharmacologie: polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1): 3-6.
- Heo S.J., Park E.J., Lee K.W. and Jeon Y.J. (2005).** Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology*, **96**: 1613-1623.
- Huber B., Eberl L., Feucht W. and Polster J. (2003).** Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. *Z. Naturforsch*, (**58c**): 879-884.

I

- Iken K., Amsler C.D., Hubbard J.M., McClintock J.B. and Baker B.J. (2007).** Allocation patterns of phlorotannins in Antarctic brown algae. *Phycologia*, **46** (4): 386-395.
- Iken K., Amsler C.D., Amsler M.O., McClintock J.B. and Baker B.J. (2009).** Field studies on deterrent properties of phlorotannins in Antarctic brown algae. *Botanica Marina*, **52**: 547-557.

Institut National de Cartographie et de Télédétection (INCT). (2000).

Ismail A. and Hong S.T. (2002). Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal Journal of Nutrition*, **8** (2): 167-177.

J

Jiménez-Escrig A., Jiménez-Jiménez I., Pulido R. and Saura-Calixto F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**: 530-534.

Jones G.A., McAllister T.A., Muir A.D. and Cheng K.J. (1994). Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **60** (4): 1374-1378.

K

Kajiwara T., Matsui K., Akakabe Y., Murakawa T. and Arai C. (2006). Antimicrobial browning-inhibitory effect of flavor compounds in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, **18**: 413-422.

Kandhasamy M. and Arunachalam K.D. (2008). Evaluation of *in vitro* antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, **7** (12): 1958-1961.

Karabay-Yavasoglu N.U., Sukatar A., Ozdemir G. and Horzum Z. (2007). Antimicrobial Activity of Volatile Components and Various Extracts of the Red Alga *Jania rubens*. *Phytotherapy research*, **21**: 153-156.

Karacalar U. and Turan G. (2008). Microbiological assays on edible seaweed *Ulva Lactuca* (L.) cultured in outdoor tanks. *Journal of Applied Biological Sciences*, **2** (2): 27-30.

Karou D., Dicko M.H., Simpore J. and Traore A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphénols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, **4** (8): 823-828.

Karthikaidevi G., Manivannan K., Thirumaran G., Anantharaman P. and Balasubaramanian T. (2009). Antibacterial properties of selected green seaweeds from Vedalai coastal waters; gulf of mannar marine biosphere reserve. *Global Journal of Pharmacology*, **3** (2): 107-112.

Khanbabaee K. and Ree T.V.(2001). Tannins: Classification and definition. *Natural Products Rep.*, **18**: 641-649.

Koehlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20**: 165-177.

Koivikko R., Loponen J., Honkanen K. and Jormalainen V. (2005). Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology*, **31** (1): 195-212.

Koivikko R. (2008). Brown algal phlorotannins improving and applying chemical methods. P: 54.

Koivikko R., Loponen J., Eränen J.K. and Jormalainen V. (2008). Variation of phlorotannins among three populations of *Fucus vesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification. *Journal of Chemical Ecology*, **34**: 57-64.

Kuda T., Tsunekawa M., Hishi T. and Araki Y. (2005a). Antioxidant properties of dried 'kayamo-nori', a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). *Food Chemistry*, **89**: 617-622.

Kuda T., Tsunekawa M., Goto H. and Araki Y. (2005b). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**: 625-633.

Kumar C.S., Sarada D.V.L. and Rengasamy R. (2008). Seaweed extracts control the leaf spot disease of the medicinal plant *Gymnema sylvestre*. *Indian Journal of Science and Technology*, **1** (3): 1-5.

Kumar J.I.N., Kumar R.N., Patel K., Viyol S. and Bhoi R. (2009). Nutrient composition and calorific value of some seaweeds from bet dwarka, west coast of Gujarat, India. *Our Nature*, **7**: 18-25.

L

Le K., Chiu F. and Ng K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, **105**: 353-363.

Lijun H., Nianjun X., Jianguo S. and Xiaojun Y. (2005). Isolation and pharmacological activities of bromophenols from *Rhodomela confervoides*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, **23** (2): 226-229.

Lim Y.Y. and Murtijaya J. (2007). Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT*, **40**: 1664-1669.

Lima-Filho J.V.M., Carvalho A.F.F.U., Freitas S.M. and Melo V.M.M. (2002). Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the Northeastern Brazilian coast. *Brazilian Journal of Microbiology*, **33**: 311-313.

Liu R.H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, **46**: 207-219.

Lopez-Lazaro M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoids luteolin. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, **9**: 31-59.

Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V. and Bíró L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, **47** (1-4): 119-125.

M

Ma M., Zhao J., Wang S., Li S., Yang Y., Shi J., Fan X. and He L. (2006). Bromophenols Coupled with Methyl γ -Ureidobutyrate and Bromophenol Sulfates from the Red Alga *Rhodomela confervoides*. *Journal of Natural products*, **69**: 206-210.

- Manivannan K., Thirumaran G., Devi G.K., Hemalatha A. and Anantharaman P. (2008).** Biochemical composition of seaweeds from Mandapam coastal regions along southeast coast of India. *American-Eurasian Journal of Botany*, **1** (2): 32-37.
- Manivannan K., Thirumaran G., Devi G.K., Hemalatha A., Anantharaman P. and Balasubramanian T. (2009).** Proximate composition of different group of seaweeds from Vedalai coastal waters (gulf of mannar): Southeast coast of India. *Middle-East Journal of Scientific Research*, **4** (2): 72-77.
- Matanjun P., Mohamed S., Mustapha N.M., Muhammad K. and Ming C.H. (2008).** Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *Journal of Applied Phycology*, **20**: 367-373.
- Marais J.P.J., Deavours B., Dixon R.A. and Ferreira D. (2006).** The Stereochemistry of Flavonoids *In The science of flavonoids*. Ed. *BS/DH*. USA, P: 1-46.
- Marfaing H. et Lerat Y. (2007).** Des ressources marines: Les algues ont-elles une place en nutrition ?. *Phytothérapie*, 2-5.
- Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**: 304-315.
- Maschek J.A. and Baker B.J. (2008).** The chemistry of algal secondary metabolism *In Algal chemical ecology*. Ed. *Birmingham*. USA, P: 322.
- Masella R., Benedetto R.D., Vari R., Filesi C. and Giovannini C. (2005).** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **16**: 577-586.
- Matsukawa R., Dubinsky Z., Kishimoto E., Takenchi M., Niki E. and Karube I. (1997).** A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, **9**: 29-35.
- McGrath L.T., McGleenon B.M., Brennan S., McColl D., McIlroy S. and Passmore A.P. (2001).** Increased oxidative stress in Alzheimer's disease as assessed with 4-hydroxynonenal but not malondialdehyde. *Q J med*, **94**: 485-490.
- Meenakshi S., Gnanambigai D.M., Mozhi S.T., Arumugam M. and Balasubramanian T. (2009).** Total Flavanoid and *in vitro* Antioxidant Activity of Two Seaweeds of ameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*, **3** (2): 59-62.
- Meyer A., Deiana J. et Leclerc H. (1994).** Cours de microbiologie générale. Ed. *Doin*. Paris, P: 365.
- Michalak A. (2006).** Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environ. Stud*, **15** (4): 523-530.
- Mohamed A.A., Khalil A.A. and El-Beltagi H.E.S. (2009).** Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*) cultivated in Egypt. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, **2** (2): 71-79.

Molyneux P. (2004). Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, **26** (2): 211-219.

Moure A., Cruz J.M., Franco D., Dominguez J.M., Sineiro J., Dominguez H., Nuriez M.J. and Parajo J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**: 145-171.

Mtolera M.S.P. and 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.

Mukhopadhyay S., Luthria D.L. and Robbins R. (2005). Optimisation of extraction process for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86** (1): 156-162.

N

Naczk M. and Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**: 95-111.

Naczk M. and Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: 1523-1542.

Naegelé E. et Naegelé A. (1967). Les algues. Ed. *Presses universitaire de France*. Paris, P: 127.

Nahas R., Abatis D., Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Vagias C. and Roussis V. (2007). Radical-scavenging activity of Aegean Sea marine algae. *Food Chemistry*, **102**: 577-581.

O

Oh K.B., Lee J.H., Chung S.H., Shin J., Shin H.J. Kim H.K. and Lee H.S. (2008). Antimicrobial activities of the bromophenols from the red alga *Odonthalia corymbifera* and some synthetic derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **18**: 104-108.

P

Patra J.K., Patra A.P., Mahapatra N.K., Thatoi H.N., Das S., Sahu, R.K. and 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.

Pavia H. and Toth G.B. (2000). Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Hydrobiologia*, **440**: 299-305.

Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**: 1035-1042.

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

Pinelo M., Del Fabbro P., Manzocco L., José Nunez M. and Nicoli M.C. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food Chemistry*, **92**: 109-117.

Polat S. and Ozogul Y. (2008). Biochemical composition of some red and brown macro algae from the northeastern mediterranean sea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **59** (7-8): 566-572.

Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A. and Oksman-Caldentey K.M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, **90**: 494-507.

R

Rahim A.A. and Kassim J. (2008). Recent development of vegetal tannins in corrosion protection of iron and steel. *Recent Patents on Materials Science*, **1**: 223-231.

Rahim A.A., Rocca E., Steinmetz J., Kassim M.J., Ibrahim M.S. and Osman H. (2008). Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, **107**: 200-207.

Rahman I, Biswas S.K. and Kirkham P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphénols. *Biochemical pharmacology*, **72**: 1439-1452.

Rajasulochana P., Dhamotharan R. and Krishnamoorthy P. (2009a). Primary phytochemical analysis of *Kappaphycus sp.* *Journal of American Science*, **5** (2): 91-96.

Rajasulochana P., Dhamotharan R., Krishnamoorthy P. and Murugesan S. (2009b). Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *Journal of American Science*, **5** (3): 20-25.

Rao V.S, Ganesan K. and Kumar S. (2009). Seaweed: A survey of research and utilization *In* Algal biologie and biotechnology. Ed. *IK international*. New Delhi, P: 263.

Rauha J.P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kahkonen M., Kujala T., Pihlaja K., Vuorela H. and Vuorela P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, **56**: 3-12.

Rausher M.D. (2006). The evolution of flavonoids and their genes *In* The science of flavonoids. Ed. *BS/DH*. USA, P: 175-211.

Ré D. B., Nafia I., Nieoullon A., Le Goff L. K. and Had-Aissouni L. (2005). Stress oxydatif cérébral: Les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implications sur la survie neuronale. *Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation*, **24**: 502-509.

Retz de Carvalho L. and Roque N.F. (2004). Correlations between primary and secondary metabolites in Ceramiales (Rhodophyta). *Biochemical Systematics and Ecology*, **32**: 337-342.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. *Dunod*. Paris, P: 173-201.

Rice-Evans C.A., Miller N.G. and Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, **2** (4): 152-159.

Robards K., Prenzler P.D., Tueker G., Swatsitang P. and Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, **66**: 101-136.

Rocha de Souza M.C., Marques C.T., Guerra Dore C.M., Ferreira da Silva F.R., Oliveira Rocha H.A. and Leite E.L. (2007). Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 153-160.

Rodriguez-Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadera, M.C., (2007b). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, **18**: 93-101.

Rodrigo R. and Bosco C. (2006). Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **142**: 317-327.

S

Salvador N., Gómez Garreta A., Lavelli L. and Ribera M. (2007). Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marin*, **71** (1): 101-113.

Senevirathne M., Kim S.H., Siriwardhana N., Ha J.H., Lee K.W. and Jeon Y.J. (2006). Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International*, **12** (1): 27-38.

Shanmugam A. and Palpandi C. (2008). Biochemical composition and fatty acid profile in the green alga *Ulva riticulata*. *Asian journal of biochemistry*, **3** (1): 26-31.

Shanmughapriya S., Manilal A., Sujith S., Selvin J., Kiran G.S. and Natarajaseenivasan K. (2008). Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, **58** (3): 535-541.

Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. and Sahin F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, **15**: 627-634.

Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Calhelha R., Andrade P.B., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and Pereira J.A. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **14**: 8533-8538.

Spigno G., Tarmelli L. and De Faveri D.M. (2007). Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, **81** (1): 200-208.

Sreenivasan S., Ibrahim D. and Kassim M.J.N.M. (2007). Free radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of *Gracilaria Changii*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, **1** (3): 115-117.

Stapleton P.D., Shah S., Hara Y. and Taylor P.W. (2006). Potentiation of catechin gallate-mediated sensitization of *Staphylococcus aureus* to oxacillin by nongalloylated catechins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50** (2): 752-755.

Stapleton P.D., Shah S., Hara Y., Ehlert K. and Taylor P.W. (2007). The β -lactam-resistance modifier (-)-epicatechin gallate alters the architecture of the cell wall of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, **153**: 2093-2103.

Stirk W.A., Reinecke D.L. and Staden J.V. (2007). Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 271-276.

Stobiecki M. and Kachlicki P. (2006). Isolation and identification of flavonoids *In* The science of flavonoïds. Ed. *BS/DH*. USA, P: 47-70.

Suay I., Arenal F., Asensio F.J., Basilio A., Cabello M.A., Diez M.T., Garcia J.B., Gonzalez del Val A., Gorrochategui J., Hernandez P., Pelaez F. and Vicente M.F. (2000). Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie van Leeuwenhoek*, **78**: 129-139.

Sudano-Roccaro A. (2004). Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48** (6): 1968-1973.

T

Taganna J.C. and Rivera W.L. (2008). Epigallocatechin gallate from *Camellia sinensis* L. (Kuntze) is a potential quorum sensing inhibitor in *Chromobacterium violaceum*. *Science Diliman*, **20** (1): 24-30.

Taguri T., Tanaka T. and Kouno I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biology Pharmacology Bulltin*, **29** (11): 2226-2235.

Targett N.H., Boettecher A.A., Targett T.E. and Vrolijk N.H. (1995). Tropical marine herbivore assimilation of phenolic-rich plants. *Oecologia*, **103**: 170-179.

Taskin E., Ozturk M., Taskin E. and Kurt O. (2007). Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African journal of biotechnology*, **6** (24): 2746-2751.

Toth B.G. and Pavia H. (2001). Removal of dissolved brown algal phlorotannins using insoluble polyvinylpyrrolidone (PVPP). *Journal of Chemical Ecology*, **27** (9): 1899-1910.

Tsao R. and Deng Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, **812**: 85-99.

Tüney I., Çadirci B.H., Ünal D. and Sukatar A. (2006). Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turk J Biol*, **30**: 171-175.

Tunçel G. and Nergiz C. (1993). Antimicrobial effect of some olive phenols in laboratory medium. *Litters in Applied Microbiology*, **17**: 300-302.

U

Ullah M.F. and Khan M.W. (2008). Food as medicine: Potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic Compounds. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **9**: 187-196.

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. and Mazura M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1-40.

Venugopal V. (2009). Marine products for healthcare functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. Ed. *CRC press Taylor & Francis group*. Boca Raton, London and New York, P: 552.

Vermerris W. and Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Ed. *Springer*. USA, P: 267.

Villano D., Fernandez-pachon M.S., Moya M.L., Traoncoso A.M. and Garcia-parrilla M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, **71**: 230-235.

W

Wang J., Yuan X., Jin Z., Tian Y. and Song H. (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry*, **104**: 242-250.

Wang Y., Xu Z., Bach S.J. and McAllister T.A. (2008). Effects of phlorotannins from *Ascophyllum nodosum* (brown seaweed) on *in vitro* ruminal digestion of mixed forage or barley grain. *Animal Feed Science and Technology*, **145**: 375-395.

Wang B.G., Zhang W.W., Duan X.G., Li X.M. (2009). In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). *Food Chemistry*, **113**: 1101-1105.

Wang J., Zhang Q., Zhang Z., Song H., Li P. (2010). Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **46**: 6-12.

Wei Y., Li Z., Hu Y. and Xu Z. (2003). Inhibition of mouse liver lipid peroxidation by high molecular weight phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *Journal of Applied Phycology*, **15**: 507-511.

Wong S.P., Leong L.P. and Koh J.H.W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, **99** (4): 775-783.

X

Xu N., Fan X., Yan X., Li X., Niu R. and Tseng C.K. (2003). Antibacterial bromophenols from the marine red alga *Rhodomela confervoides*. *Phytochemistry*, **62**: 1221-1224.

Xue C.H., Fang Y., Lin H., Chen L., Li Z.J., Deng D. and Lu C.H. (2001). Chemical characters and antioxidative properties of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *Journal of Applied Phycology*, **13**: 67-70.

Y

Yan X., Nagata T. and Fan X. (1998). Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52**: 253-262.

Yang J., Guo J. and Yuan J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT*, **41**: 1060-1066.

Yoshie Y., Wang W., Petillo D. and Suzuki T. (2000). Distribution of catechins in Japanese seaweeds. *Fisheries Science*, **66**: 998-1000.

Yoshie Y., Wang W., Hsieh Y.P. and Suzuki T. (2002). Compositional difference of phenolic compounds between two seaweeds, *Halimeda* spp. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, **88**: 21-24.

Yuan Y.V., Bone D.E. and Carrington M.F. (2005). Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. *Food Chemistry*, **91**: 485-494.

Yuan Y.V. and Walsh N.A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food and Chemical Toxicology*, **44**: 1144-1150.

Z

Zhang Q., Li N., Zhou G., Lu X., Xu Z. and Li Z. (2003). In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacological Research*, **48**: 151-155.

Zhang Y.M. and Rock C.O. (2004). Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the FabG and FabI reductases of bacterial type II fatty-acid synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, **279** (30): 30994-31001.

Zhang L.L. and Lin Y.M. (2008). HPLC, NMR and MALDI-TOF MS analysis of condensed tannins from *Lithocarpus glaber* leaves with potent free radical scavenging activity. *Molecules*, **13**: 2986-2997.

Zhao J., Fan X., Wang S., Li S., Shang S., Yang Y., Xu N., Lü Y. and Shi J. (2004). Bromophenol derivatives from the red alga *Rhodomela confervoides*. *Journal of Natural Products*, **67**: 1032-1035.

Zhao X., Xue C.H. and Li B.F. (2008). Study of antioxidant activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *Journal of Applied Phycology*, **20**: 431-436.

Zubia M., Robledo D. and Freile-Pelegrin Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 449-458.

Zubia M., Fabre M.S., Kerjean V., Le Lann K., Stiger-Pouvreau B., Fauchon M. and Deslandes E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, **116**: 693-701.



Annexes

Annexe I: Courbes d'étalonnages

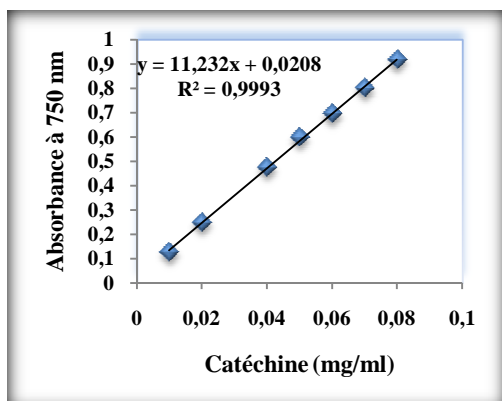


Figure 1: Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

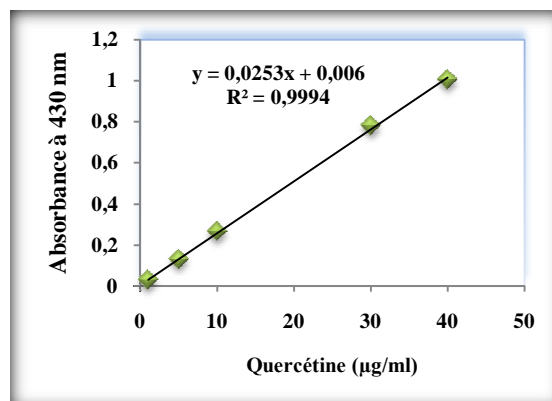


Figure 2: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

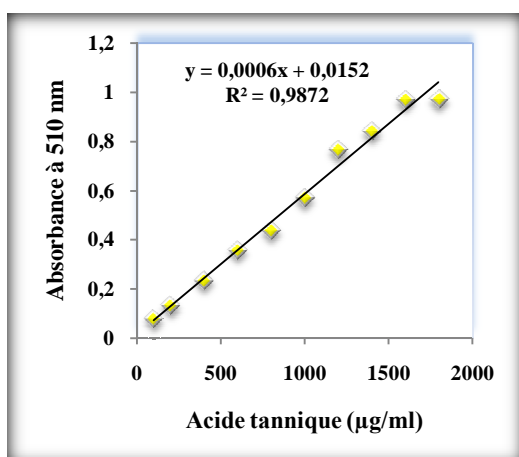


Figure 3: Courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins.

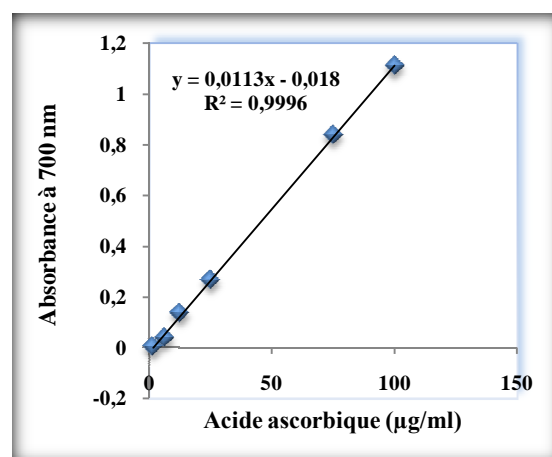


Figure 4: Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur.

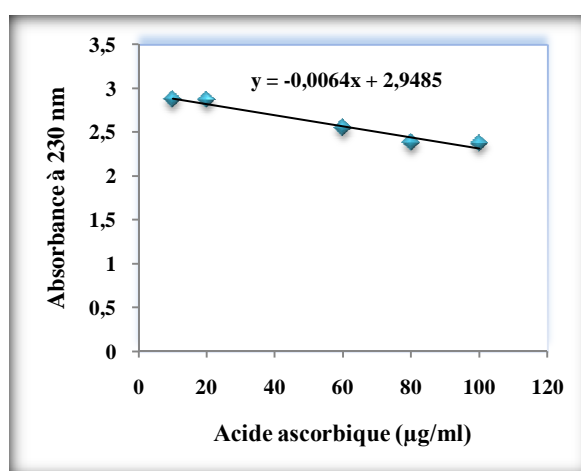


Figure 5: Courbe d'étalonnage pour l'activité scavenger du peroxyde d'hydrogène.

Annexe II: Préparation des réactifs pour le dosage des tannins

1. Préparation du tampon A: (Acide acétique 0,2M / NaCl 0,17M, pH 4,9)

Faire dissoudre 9,86 g de NaCl dans 800 ml d'eau distillée, ajuster à pH 4,9 puis ajuster à 1 litre.

Ajouter 11,4 ml d'acide acétique glacial.

2. Préparation de l'albumine sérum bovine (BSA)

Pour 1 mg de BSA on ajoute 1 ml du tampon A (préparer le jour même).

3. Préparation du sodium dodécyl sulfate / triéthanolamine (SDS/TEA)

Faire dissoudre 10 g du SDS dans 50 ml du TEA puis ajuster à 1 litre.

4. Préparation du chlorure ferrique (FeCl₃) 0,01M dans du HCl 0,1M

Mettre 1,62 g de FeCl₃ dans 1 litre d'une solution HCl, laisser cette solution reposer pendant 24h à 4°C puis faire une filtration.

Annexe III: Matériel et produits utilisés

1. Appareillage

Autoclave.
Bain-marie MEMMERT.
Balance de précision.
Broyeur (Kika Labortechnik).
Centrifugeuse SIGMA.
Etuve MEMMERT.
Four Pasteur.
pH mètre.
Rotavapeur (K-IKA Labortechnik)
Spectrophotomètre UV-visible SHIMADZU 1240.
Tamiseur RETCH.
Vortex.

2. Produits chimiques

Acide acétique.
Acide ascorbique.
Acide caféique.
Acide chlorhydrique (HCl).
Acide gallique.
Acide tannique.
Acide trichloracétique (TCA).
Butylhydroxyanisol (BHA).
Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
Catéchine.
Chlorure d'aluminium (AlCl_3).
Chlorure de sodium (NaCl).
Chlorure ferrique (FeCl_3).
DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).
Ethanol: ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), 99%, MM=46.07 g/mol, d=0.81 (PROLABO).
Eau physiologique (1g NaCl dans un litre d'eau distillée).
ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$].
Folin-Ciocalteu.
Méthanol: CH_3OH , 99%, MM=32.04 g/mol, d= 0.79 (PROLABO)
Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).
Quercétine.
Sérum albumine bovine (BSA).
Sodium dodécyl sulfate (SDS).
Triéthanolamine (TEA).

**Annexe IV: Composition (pour un litre) des milieux de culture utilisés
(Guiraud, 1998)**

Bouillon nutritif

Peptone 10g
Extrait de viande 5g
Chlorure de sodium 5g
pH 7,2

Gélose Chapman

Extrait de viande 1 g
Peptone 10 g
Chlorure de sodium 5 g
Mannitol 10 g
Rouge de phénol 25 mg
Agar 15 g
pH 7,4

Gélose Hecktoène

Protéose peptone 12 g
Extrait de levure 3 g
Chlorure de sodium 5 g
Thiosulfate de sodium 5 g
Sels biliaires 9 g
Citrate de fer ammoniacal 1,5
Salicine 2 g
Lactose 12 g
Saccharose 12 g
Fuchine acide 0,1 g
Bleu de bromothymol 65 mg
Agar 13 mg
pH 7,6

Gélose Mueller Hinton

Etrait de viande 2 g
Hydrolysate acide de caséine 17,5 g
Amidon 1,5 g
Agar 10 g
pH 7,4

Gélose PCA

Peptone 5 g
Extrait de levure 2,5 g
Glucose 1 g
Agar 15 g
pH 7

Gélose Sabauraud

Peptone de viande 5 g
Peptone de caséine 5 g
Glucose 20 g
Agar 20 g
pH 6,3

Glossaire

Anti-agrégant plaquettaire: Agent qui empêche les plaquettes de s'agglutiner et donc les caillots de se former.

Anti-allergique: Substance qui s'oppose à la réaction excessive de l'organisme à un agent étranger auquel il est sensibilisé.

Anti-inflammatoires: Substances chimiques ayant le pouvoir de réduire les réactions inflammatoires de l'organisme.

Antithrombotique: Agent inhibant la génération de thrombine.

Antitumoral: substances ou produits qui permettent de lutter contre les tumeurs.

Arthrite: inflammation douloureuse des articulations.

Arthrite rhumatoïde: D'apparence rhumatismale, ressemblant au rhumatisme, affection qui se porte sur les articulations et les os.

Ascaris: Ver parasite de l'homme et du bétail.

Cancer: Prolifération anormale des cellules d'un tissu, affection pathologique.

Cardioprotecteur: Action exercée par un mécanisme ou une substance sur le coeur et ses artères, tendant à limiter les risques de maladies cardiovasculaires.

Cardiovasculaire: Qui se rapporte au coeur et aux vaisseaux.

Cataracte: Opacité progressive du cristallin provoquant la cécité ou une vision affaiblie.

Cellules HeLa: Lignée cellulaire tumorales.

Coronaropathie: Affection des artères coronaires, artères issues de l'aorte qui amènent le sang au coeur.

Dégénérescence maculaire: Dégénérescence progressive de la rétine.

Démence: Détérioration intellectuelle par déficit global des fonctions supérieures (Trouble mentale).

Diabète sucré: Le diabète insulino-dépendant.

Goitre: Grosseur au cou provenant d'une augmentation de la glande thyroïde.

Goutte: Maladie due à un excès d'acide urique et affectant les articulations.

Hémochromatose: Maladie due à une présence excessive de fer dans l'organisme.

Hémostatique: Agent mécanique ou chimique utilisé pour l'arrêt d'une hémorragie, d'un écoulement du sang hors des vaisseaux.

Insuffisance rénale aiguë: Diminution progressive rapide du pouvoir de filtration des reins (nécessaire à l'élimination des déchets du sang), associée à un déséquilibre de l'organisme en sel et en eau et à des difficultés de régularisation de la pression du sang (tension artérielle).

Ischémie-reperfusion: Augmentation du dommage tissulaire induit par une carence temporaire en oxygène lorsque cet apport est restauré.

Maladie de Keshan: Une condition provoquée par l'insuffisance du sélénium minéral essentiel. La maladie de Keshan, inflammation du muscle de coeur provoqué par un virus de Coxsackie.

Maladie de Parkinson: Maladie dégénérative du système nerveux provoquant des tremblements au repos et une rigidité musculaire.

Maladies auto-immunes: Maladies au cours desquelles le système immunitaire d'un individu a perdu ses capacités à distinguer les antigènes externes appelés exogènes, des antigènes qui font normalement partie de son organisme c'est-à-dire les antigènes endogènes.

Oxyures: Ver nématode parasite de l'intestin de l'homme, de la famille des oxyuridés.

Pancréatite: Inflammatoire du pancréas.

Phytoalexine: Substance produite par certains végétaux en cas d'agression bactérienne.

Phytoanticipine: Composés constitutifs des plantes qui interviennent sous forme native ou après transformation, généralement hydrolyse.

Sclérose latérale amyotrophique: Une affection neurologique touchant le système nerveux central de l'adulte et entraînant une lésion des cellules nerveuses (neurones) qui provoque une paralysie progressive. Cette maladie appelée également maladie de Charcot se caractérise par l'atteinte des neurones moteurs (neurones transmettant l'influx permettant les mouvements).

Sepsis: Ensemble de manifestations locales et générales faisant suite à une infection et dû à une inflammation généralisée de l'organisme.

Vasodilatateurs: Produit augmentant le calibre des vaisseaux sanguins.

Vermifuge: Remède qui provoque la destruction et l'expulsion des vers intestinaux.

Résumé

L'objectif du présent travail est de mettre en évidence les activités antibactérienne, antifongique et antioxydante des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* de la cote de Béjaia. Les deux algues *Ulva lactuca* et *Cystoseira tamariscifolia* montrent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($0,87 \pm 0,027$ et $0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g de poudre, respectivement). *Padina pavonica* se distingue par sa meilleure teneur en tannins ($25,91 \pm 0,37$ µg Eq AT/g de poudre). *Rhodomela confervoides* s'est montré la moins riche en polyphénols totaux ($0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g de poudre) et en tannins ($7,95 \pm 0,38$ µg Eq AT/g de poudre). Quant aux teneurs en flavonoïdes, les résultats du dosage des quatre extraits sont négatifs. L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques montre que la plupart des souches microbiennes testées sont sensibles aux extraits des algues marines étudiées. Une activité antimicrobienne importante est notée pour l'algue marine rouge *Rhodomela confervoides* qui est active à l'égard de toutes les souches microbiennes testées. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques montre que les deux algues brunes ont enregistré les meilleures activités antiradicalaire et réductrice, par contre la meilleure activité scavenger du H_2O_2 est attribuée à l'algue rouge. L'algue verte bien qu'elle soit la plus riche en composés phénoliques, s'est révélée la moins performante.

Mots clés: Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, Algues marines, Composés phénoliques.

Abstract

The aim of this work is to highlight the antibacterial, antifungal and antioxidant activities of methanol extracts of four marine algae species: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* and *Ulva lactuca* of Bejaia's coast. Both algae *Ulva lactuca* and *Cystoseira tamariscifolia* are marked by the highest contents of total polyphenols ($0,87 \pm 0,027$ and $0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g powder, respectively). *Padina pavonica* is distinguished by its greater tannin concentration ($25,91 \pm 0,37$ µg Eq AT/g powder). *Rhodomela confervoides* has shown the least rich in total polyphenols ($0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g powder) and tannins ($7,95 \pm 0,38$ µg Eq AT/g powder). As for the levels of flavonoïds, Assay results of the four extracts were negative. Antimicrobial activity of methanol extracts showed that most of the microbial strains tested were sensitive to extracts of marine algae studied. A significant antimicrobial activity is recorded for red seaweed *Rhodomela confervoides* which is active against all microbial strains tested. The antioxidant activity of methanol extracts showed that both brown algae registered the best scavenging and reducing activities, whereas the scavenger activity against H_2O_2 is attributed to red algae. Green algae despite being the richest in phenolic compounds, was the least efficient.

Key words: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Seaweeds, Phenolic compounds.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم مخبريا النشاط المضاد للبكتيريا، المضاد للفطريات و المضاد للأكسدة لمستخلصات ميثانولية لدى أربعة أنواع من الطحالب البحرية بساحل بجاية. الطحلبان *Ulva lactuca* و *Cystoseira tamariscifolia* يتميزان بالكميات الأكبر لمتعدد الفينول ($0,87 \pm 0,027$ و $0,83 \pm 0,091$ مغ/غ من المسحوق، على التوالي). تتميز *Padina pavonica* بتركيزها الأكبر بالتانين ($25,91 \pm 0,37$ ميكروغرام/غ من المسحوق). تتميز *Rhodomela confervoides* أنها أقل غنا فيما يخص متعدد الفينول ($0,32 \pm 0,004$ و $0,32 \pm 0,004$ مغ/غ من المسحوق) و التانين ($7,95 \pm 0,38$ ميكروغرام/غ من المسحوق). أما بالنسبة لكمية الفلافونويد، فإن نتائج المعايرة للمستخلصات الأربعة كانت سلبية. النشاط المضاد للجراثيم للمستخلصات الميثانولية أظهرت معظم السلالات الجرثومية المختبرة حساسة لمستخلصات الطحالب البحرية المدروسة. تم تسجيل نشاط كبير لمضاد الجراثيم فيما يخص الطحلب البحري الأحمر الفعال ضد جميع السلالات الجرثومية التي تم اختبارها. للنشاط ضد الأكسدة للمستخلصات الميثانولية أظهرت أن الطحالب البنية سجلت أفضل النتائج للنشاط ضد الجذري و الإرجاعي، عكس الطحلب الأحمر الذي سجل أفضل النتائج لنشاط أكسيد الهيدروجين (H_2O_2). رغم أن الطحلب الأخضر يُعدّ الأغنى من حيث المركبات الفينولية، تبين أنه الأقل كفاءة.

كلمات المفاتيح: مضاد الميكروبات، مضاد الأكسدة، الطحالب البحرية، المركبات الفينولية.

Résumé

L'objectif du présent travail est de mettre en évidence les activités antibactérienne, antifongique et antioxydante des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* et *Ulva lactuca* de la cote de Béjaia. Les deux algues *Ulva lactuca* et *Cystoseira tamariscifolia* montrent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($0,87 \pm 0,027$ et $0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g de poudre, respectivement). *Padina pavonica* se distingue par sa meilleure teneur en tannins ($25,91 \pm 0,37$ µg Eq AT/g de poudre). *Rhodomela confervoides* s'est montré la moins riche en polyphénols totaux ($0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g de poudre) et en tannins ($7,95 \pm 0,38$ µg Eq AT/g de poudre). Quant aux teneurs en flavonoïdes, les résultats du dosage des quatre extraits sont négatifs. L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques montre que la plupart des souches microbiennes testées sont sensibles aux extraits des algues marines étudiées. Une activité antimicrobienne importante est notée pour l'algue marine rouge *Rhodomela confervoides* qui est active à l'égard de toutes les souches microbiennes testées. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques montre que les deux algues brunes ont enregistré les meilleures activités antiradicalaire et réductrice, par contre la meilleure activité scavenger du H_2O_2 est attribuée à l'algue rouge. L'algue verte bien qu'elle soit la plus riche en composés phénoliques, s'est révélée la moins performante.

Mots clés: Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, Algues marines, Composés phénoliques.

Abstract

The aim of this work is to highlight the antibacterial, antifungal and antioxidant activities of methanol extracts of four marine algae species: *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* and *Ulva lactuca* of Bejaia's coast. Both algae *Ulva lactuca* and *Cystoseira tamariscifolia* are marked by the highest contents of total polyphenols ($0,87 \pm 0,027$ and $0,83 \pm 0,091$ mg Eq Cat/g powder, respectively). *Padina pavonica* is distinguished by its greater tannin concentration ($25,91 \pm 0,37$ µg Eq AT/g powder). *Rhodomela confervoides* has shown the least rich in total polyphenols ($0,32 \pm 0,004$ mg Eq Cat/g powder) and tannins ($7,95 \pm 0,38$ µg Eq AT/g powder). As for the levels of flavonoïds, Assay results of the four extracts were negative. Antimicrobial activity of methanol extracts showed that most of the microbial strains tested were sensitive to extracts of marine algae studied. A significant antimicrobial activity is recorded for red seaweed *Rhodomela confervoides* which is active against all microbial strains tested. The antioxidant activity of methanol extracts showed that both brown algae registered the best scavenging and reducing activities, whereas the scavenger activity against H_2O_2 is attributed to red algae. Green algae despite being the richest in phenolic compounds, was the least efficient.

Key words: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Seaweeds, Phenolic compounds.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم مخبريا النشاط المضاد للبكتيريا، المضاد للفطريات و المضاد للأوكسدة لمستخلصات ميثانولية لدى أربعة أنواع من الطحالب البحرية بساحل بجاية. الطحلبان *Ulva lactuca* و *Cystoseira tamariscifolia* يتميزان بالكميات الأكبر لمتعدد الفينول ($0,87 \pm 0,027$ مغ/غ من المسحوق و $0,83 \pm 0,091$ مغ/غ من المسحوق، على التوالي). تتميز *Padina pavonica* بتركيزها الأكبر بالتانين ($25,91 \pm 0,37$ ميكروغرام/غ من المسحوق). تتميز *Rhodomela confervoides* أنها أقل غنا فيما يخص متعدد الفينول ($0,32 \pm 0,004$ مغ/غ من المسحوق) و التانين ($7,95 \pm 0,38$ ميكروغرام/غ من المسحوق). أما بالنسبة لكمية الفلافونويد، فإن نتائج المعايرة للمستخلصات الأربعة كانت سلبية. النشاط المضاد للجراثيم للمستخلصات الميثانولية أظهرت معظم السلالات الجرثومية المختبرة حساسة لمستخلصات الطحالب البحرية المدروسة. تم تسجيل نشاط كبير لمضاد الجراثيم فيما يخص الطحلب البحري الأحمر الفعال ضد جميع السلالات الجرثومية التي تم اختبارها. النشاط ضد الأوكسدة للمستخلصات الميثانولية أظهرت أن الطحالب البنية سجلت أفضل نتائج للنشاط ضد الجذري و الإرجاعي، عكس الطحلب الأحمر الذي سجل أفضل النتائج لنشاط أكسيد الهيدروجين (H_2O_2). رغم أن الطحلب الأخضر يُعدّ الأغنى من حيث المركبات الفينولية، تبين أنه الأقل كفاءة.

كلمات المفاتيح: مضاد المكروبات، مضاد الأوكسدة، الطحالب البحرية، المركبات الفينولية.