

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

UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimie

Mémoire

Présenté par : M^r SADI Hamza
En vue de l'obtention du Diplôme de Magister
en Biologie
Option : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives

Thème

Le pouvoir antioxydant de quelques algues marines

Devant le jury :

Président : ATM ANI D.

Professeur (UAMB)

Rapporteur : ZEBBOUDJ A.

M. Conférences (UAMB)

Examineurs : LOUAILECHE H.

Professeur (UAMB)

MOULAÏ R.

M. Conférences (UAMB)

Année universitaire : 2009/2010

Remerciements

Voici venu le moment de remercier l'ensemble des gens qui m'ont aidé un peu ou beaucoup, de loin ou de près, ponctuellement ou tout au long de ce travail. J'espère donc n'oublier personne.

Je commencerai par remercier profondément Mme. Le Docteur A. ZEBBOUDJ pour avoir accepté d'être ma directrice de mémoire, pour son soutien, ces recommandations continues et pour les conseils qu'elle m'a prodigués tout au long de cet travail. Je tiens également à lui exprimer toute ma reconnaissance pour sa grande disponibilité.

Je tiens également à remercier vivement, Melle le Professeur H. LOUAILECHE de m'avoir accueillie dans son laboratoire.

J'exprime mes sincères gratitude, à Mr. le Professeur D. ATMANI pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

J'adresse mes remerciements à l'égard de Melle le Professeur H. LOUAILECHE et Mr. le Docteur R. MOULAÏ qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je voudrais également remercier Mr. M.L. MOUSLI de m'avoir aidé dans l'identification des espèces d'algues utilisées dans cette étude.

J'associé mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire de biochimie alimentaire, en particulier Mr. M. BACHIR HBEY.

Un grand merci à mes très chers parents et à toute ma famille, qui m'ont vraiment aidé, soutenu depuis toujours.

Je ne saurais oublier de remercier Bilal, Omar, Salim, Bellik, Slimane, Atmane, Nassir, Naim, Hidher, Rachid, Locif et Ounour pour leur soutien.

*Je dédie ce travail à mes
chers parents et à toute ma famille*

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction	1
--------------------	---

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

I. Aspects généraux sur la biologie des algues	3
I.1. Généralités	3
I.2. Grands groupes d'algues	3
I.2.1. Selon la pigmentation	3
1. Les algues vertes (chlorophycées).....	3
2. Les algues rouges (rhodophycées)	3
3. Les algues brunes (phéophycées)	3
4. Les algues bleues (Cyanobactéries)	4
I.3. Caractéristiques générales des espèces d'algues étudiées	4
I.3.1. Chlorophycophytes.....	4
1. <i>Ulva lactuca</i>	4
2. <i>Enteromorpha intestinalis</i>	4
I.3.2. <i>Phéophycophytes</i>	5
1. <i>Cystoseira mediterranea</i>	5
2. <i>Cystoseira fimbriata</i>	5
I.4. Ecologie des algues marines	6
I.5. Composition et valeur nutritive des algues	7
I.6. Principaux producteurs d'algues dans le monde	7
I.7. Domaines d'utilisations des algues	8

II. Oxydants, antioxydants et stress oxydatif	10
II.1. Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote(ERON)	10
II.1.1. Notion du radical libre	10
II.1.2. Principales sources des ERON	11
II.1.2.1. Source mitochondriale.....	11
II.1.2.2. Source enzymatique	12
1. NADPH oxydase	12
2. Xanthine oxydoréductase	13
3. Nitrique oxyde synthase.....	13
II.1.2.3. Autres sources	14
II. 1.3. Rôles physiologiques des ERON	14
II.1.4. Défenses physiologiques contre les ERON	15
II.1.4.1. Système antioxydant enzymatique	16
1. Superoxyde dismutase	16
2. Catalase.....	16
3. Glutathion peroxydase et glutathion réductase	17
II.1.4.2. Systèmes antioxydant non enzymatique	18
II.1.4.2.1.Polyphénols	18
II.1.4.2.1.1. Modes d'action des composés phénoliques	19
1.Chélation des métaux de transition	20
2. Effet scavenger	20
3. Inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres	21
II.1.4.2.2. Caroténoïdes	21
II.1.4.2.2.1. Modes d'action des caroténoïdes	22
1. Effet scavenger	22
2. Piégeage de l'oxygène singulet	22
II.1.4.2.3. Chlorophylles.....	24
II.1.4.2.3.1.Mode d'action des chlorophylles.....	25
II.1.4.2.4. Vitamine C.....	26
II.1.4.2.5. Vitamine E.....	27
II.1.4.2.6. Glutathion.....	28
II.1.4.2.7. Sélénium.....	28

II.2. Stress oxydant cellulaire	29
II.2.1. Qu'est-ce qu'un stress oxydant cellulaire?	29
II.2.2. Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERON	30
II.2.2.1. Cibles lipidiques ;peroxydation des membranes biologiques	30
II.2.2.2. Cibles non lipidiques.....	32
1. Dénaturation des protéines.....	32
2. Altération des acides nucléiques.....	32
II.2.3. Marqueurs biochimiques et mise en évidence du stress oxydatif	33
II.2.4.Pathologies liées au stress oxydant	34

MATERIELS ET METHODES

I. Echantillonnage	36
I.1. Site d'étude.....	36
I.2. Récolte du matériel végétal	36
II. Etude phytochimique	40
II.1. Teneur en eau	40
II.2. Dosage des polyphénols totaux	40
II.2.1. Préparation des extraits	40
II.2.2. Détermination des phénols totaux	40
II.3. Dosage des flavonoides totaux	41
II.4. Dosage de la chlorophylle a, b et les caroténoïdes totaux	41
III. Etude de l'activité antioxydante des extraits de plantes testées	42
III.1 Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	42
III.2. Pouvoir réducteur	42
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	43
IV. Analyse statistique	43

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I.Teneur en humidité des plantes étudiées	44
II. Etude phytochimique	44

II.1. Dosage des polyphénols totaux	44
II.2. Dosage des flavonoïdes totaux	46
II.3. Dosage des caroténoïdes totaux	47
II.4. Dosage des chlorophylles	48
III. Etude de l'activité antioxydante	50
III.1. Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	50
III.2. Pouvoir réducteur	52
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	54
IV. Analyse des corrélations linéaires	55
Conclusion	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
ANNEXES	

Liste des abréviations

Abs : absorbance

ADN : acide désoxyribonucléique

AMP : adénosine monophosphate

ARN : acide ribonucléique

ATP : adénosine 5-triphosphate

CAT : catalase

CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires

CoQ : cytochrome Q

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ERO : espèces réactives de l'oxygène

ERON : espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

FAD : flavine adénine dinucléotide

FMN : flavine mononucléotide

GCs : guanylate cyclase soluble

GMPc : guanosine monosphosphate 3,5 cyclique

GPx : glutathion peroxydase

GSH : γ -glutamyl-cystéinyl-glycine

GSSH : glutathion-disulfure

4-HNE: 4-hydroxynonéal

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

MDA: malonedialdéhyde

NADH: nicotinamide adenine dinucléotide

NADPH : nicotinamide adenine dinucléotide Phosphate

NOS : nitrique oxyde synthase

8-OH-dG : 8-hydroxy-désoxyguanosine

P-450 : cytochrome P-450

RPE : résonance paramagnétique électronique

SOD : superoxyde dismutase

TBA : acide thiobarbiturique

XDH : xanthine déshydrogénase

XO : xanthine oxydase

XOR : xanthine oxydoréductase

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Zonation verticale des macroalgues marines	6
2	Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	11
3	Production et élimination des ERO au niveau de la mitochondrie	12
4	Biosynthèse de NO ^o à partir de L-arginine par les NOS	14
5	Effet scavenger (éboueur) de la superoxydase dismutase sur les ERO	16
6	Protection contre les peroxydes lipidiques et régénération de la Glutathion peroxydase	17
7	Structure moléculaire de quelques polyphénols algaux	19
8	Structure de base des flavonoïdes	18
9	Groupes fonctionnels de l'activité antiradicalaire des flavonoïdes	21
10	Structure moléculaire de la chlorophylle <i>a</i> et <i>b</i>	25
11	Chélation de métaux de transition par l'acide ascorbique	26
12	Rôle de la vitamine C dans la régénération de la vitamine E	27
13	Structure moléculaire de la vitamine E	28
14	Modification de l'équilibre redox cellulaire par la production aïgue ou chronique des ERON	29
15	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	31
16	Illustration du mode d'action des radicaux hydroxyles sur la guanine (A), lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire (B)	33
17	Photographie de la station de récolte	36
18	Photographies du matériel végétal	37
19	Teneur en polyphénols totaux des espèces étudiées	45
20	Teneur en flavonoïdes totaux des espèces étudiées	46
21	Teneur en caroténoïdes totaux des espèces étudiées	47
22	Activité scavenger à l'égard de DPPH des espèces étudiées	50
23	Effet de la concentration sur le potentiel inhibiteur de DPPH	51
24	Pouvoir réducteur des espèces étudiées	53
25	Potentiel d'inhibition de peroxyde d'hydrogène des espèces étudiées	54
26	Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %.	56
27	Corrélation entre la teneur en flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %	57
28	Corrélation entre les différentes activités antioxydantes des extraits d'éthanol 50 % et des extraits d'éthanol 70 %.	58

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Analyse globale moyenne des algues en générale	7
II	Analyse moyenne des matières sèches	7
III	Demi-vies des principaux dérivés réactifs de l'oxygène	10
IV	Structures et caractéristiques de quelques carotènes	23
V	Structures et caractéristiques de quelques Xanthophylles	24
VI	Les principales affections liées à la production des ERON	32
VII	Répartition des pigments des plastes dans les différents groupes d'algues.	38
VIII	Caractéristiques morphologiques des espèces étudiées	39
IX	Tableau représentant la teneur en eau des différentes plantes étudiées	44
X	Teneur en chlorophylles <i>a</i> et <i>b</i> des différentes espèces étudiées	49

Introduction

Introduction

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) sont définies comme étant des atomes ou des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur la dernière orbitale, provoquant ainsi une distribution électronique instable qui leur confère une très grande réactivité (Pons-Rejraji *et al.*, 2009). Afin de les maintenir à des concentrations physiologiques et d'enrayer leurs actions néfastes, notre organisme a développé un système antioxydant constitué de deux barrières de protection ; l'une enzymatique endogène (superoxyde dismutases, catalases et la glutathion peroxydases) et l'autre non enzymatique exogène (vitamine C, vitamine E, glutathion, caroténoïdes....etc.).

Cependant, dans certains cas, les capacités de ce système sont dépassées par la production incontrôlée de ces molécules, induisant ainsi un stress oxydatif avec installation d'un nouvel équilibre redox de niveau oxydant plus élevé et permanent (Beaudeau *et al.*, 2006). Dans ce cas, ces molécules oxydantes interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants (ADN, lipides, et protéines), ce qui provoque par conséquent, diverses pathologies regroupées sous le nom de pathologies oxydatives (maladies cardiovasculaires, athérosclérose, cancers,....etc.).

La plupart des matrices végétales, comprennent des molécules biologiquement actives, qui constituent la clé de voûte du système antioxydant. Ces composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale possédant un large éventail d'activités biologiques. Les composés phénoliques, les caroténoïdes et les chlorophylles font partie de ses substances actives qui trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie.

La prise en considération des algues marines dans cette étude est tout à fait justifiée, car leur exploitation dans les différents domaines connaît un essor remarquable depuis ces dernières années (FAO, 1987). Riches en composés phénoliques, en caroténoïdes et en chlorophylles, ces végétaux marins constituent une source inépuisable d'antioxydants dont les intérêts grandissent jour après jour. En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydatif.

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une revue de littérature est présentée sur les algues marines, décrivant leurs principaux phylums, leurs différents domaines d'utilisations ainsi qu'un aperçu sur les radicaux libres et le stress oxydatif, inducteur de nombreuses pathologies. Le deuxième volet est voué aux résultats phytochimiques (dosages des polyphénols, des flavonoïdes, des caroténoïdes et des chlorophylles *a* et *b*) obtenus à partir des plantes sélectionnées, et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante via les trois tests ; réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, pouvoir réducteur et inhibition du H₂O₂.

*Aperçu
bibliographique*

Aspects généraux
Sur la biologie des algues