

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**  
**Département microbiologie**  
**Filière : science biologique**  
**Spécialité : Ecologie microbienne**



Mémoire de fin de cycle en vue  
de l'obtention du diplôme  
**MASTER**

*Thème*

**Activité antifongique et antioxydante  
des algues marines de la côte de  
Bejaia**

Présenté par

**CHILLA LYDIA & SELLAH ZINA**  
**Soutenu le : 20/06/2018**

Devant le Jury composé de :

M <sup>R</sup> KECHA	Professeur	Président
M <sup>ME</sup> IDRES KERAMANE B.	MAA	Encadreur
M <sup>ME</sup> MOURDJAN LAINCER F	MAA	Examinatrice

**Année Universitaire : 2017/2018**

# Remerciement

**Au terme de ce travail ;**

**Nous remercions tout d'abord Dieu de nous avoir donné  
courage, patience, et persévérance pour la réalisation et l'élaboration de  
notre projet de fin de cycle.**

**Nous tenons à remercier les membres de jury, Qui vont évaluer notre travail  
pendant notre soutenance.**

**Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements :**

**A notre promotrices Mme KERAMANE B. Pour son encadrement apprécié**

**Nos vifs s remerciements s'adressent au Mr KECHA M. qui nous a fait  
honneur par sa présence en qualité de président de jury et Mme LAINCER  
M.**

**Nos vifs remerciements s'adressent aux secrétaires de notre  
département de Microbiologie, pour le gentilles et leurs très grandes  
aides.**

**Nos remerciements vont également a toutes les personnes qui ont contribué de près  
ou de loin a la réalisation de ce travail.**

**Un grand merci a tous.**



# Dédicace

## Dédicace

*A ceux qui donnent sans recevoir, se brûlent pour que  
Leur fille voie la lumière du savoir, à ceux que tous les mots  
du monde ne suffisent pas pour leurs montrer mon amour  
et ma reconnaissance, je leurs serais éternellement  
reconnaissante ; à mes très chers parents,  
À ma raison d'être, mon fils Aksil,  
À mon mari, Brahim qui a toujours été mon appui et mon aide  
À ma grande mère qui a tant sacrifiée pour mon bien être  
À mes frère Djamel et Yacine  
À ma tante Naima et sa fille Chanez  
À mes très chers amis Chabane, Sabrina et Samira  
Et à tous ceux qui me sont chers*

*Lydia*



## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux

Tableau n°1 : Valeurs d'EC50 du radical libre DPPH des différents extrais.....P : 23

Tableau n° 2 : tableau représentant la CMI des extraits ethanoliqes vis-à-vis

**Candida albicans** .....P : **27**

Tableau n°3 : tableau représentant la CMB des extrait éthanoliqes vis-à-vis

**Candida albicans**.....P : 29

### Liste des figures

- Figure n°1: structure de base de phlorotannins (phloroglucinol). Et quelques phlorotannins.....P : 4
- Figure n°2 : Structure de base des flavonoides.....P : 5.
- Figure n° 3 : Image satellite du littoral ouest de Bejaia.....P : 8.
- Figure n° 4 : structure chimique du DPPH· et DPPH2 .....P : 12.
- Figure n° 5 : Photographie des extraits aqueux des algues marines.....P : 15
- Figure n° 6 : Photographie des extraits éthanoliques.....P : 15
- Figure n° 7 : Taux d'extraction obtenus pour les extraits aqueux et éthanoliques....P : 16
- Figure n° 8 : Histogramme représentant le taux de polyphenols dans les extraits  
aqueux et éthanoliques .....P : 18
- Figure n° 9 : Histogramme représentant le taux de phlorotannins dans les extraits  
aqueux et éthanoliques.....P : 19
- Figure n° 10 : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des algues  
marines.....P : 21
- Figure n°11 : Histogramme représentant le taux de caroténoïdes chez les algues  
Marines étudiées.....P : 22
- Figure n° 12 : Histogramme représentant les diamètres d'inhibition des extraits  
éthanoliques vis-à-vis **Candida albicans**.(1).....P : 24
- Figure n° 13 Histogramme représentant les diamètres d'inhibition des extraits  
éthanoliques vis-à-vis **candida albican**. (2)..... .P : 25
- Figure n° 14 : photographie des zones d'inhibition des extraits éthanoliques  
(AB1, AB2, AV1, AV2).....P : 26-27
- Figures n° 15 : photographie représentant le test de la CMI des extraits  
éthanoliques vis-à-vis **candida albicans**.....P : 28

## Liste des abréviations

**AG** : Acide gallique

**ATCC**: American Type Culture Collection

**BMH** : Bouillon Muller Hinton

**CMF** : Concentration Minimal Fongicide

**EAC** : Equivalent Acide Gallique

**EBC** : Equivalant  $\beta$ -Carotène

**CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice

**DMBA** : Dimethoxybenzaldehyde

**DO** : Densité optique

**NCCLS**: Clinical and Laboratory Standards Institute

**PLE** : Extraction Liquide sous Pression

**Q** : Quercitrine

**T** : Témoin

**UV** : Ultra Violet

# Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

## Synthèse bibliographique

<b>I. Description général des algues marines</b> .....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. classification des algues .....	3
I.2.1. Chlorophycophytes .....	3
I.2.2. Les pheophycophytes .....	3
I.2.3. Les Rhodophycophyte .....	4
<b>II. les molécules bioactive des algues</b> .....	4
II.1. Les composés phénoliques .....	4
II.1.1. Phlorotannins .....	4
II.1.2. Flavonoïdes .....	5
II.2. Pigment .....	5
II.2.1. Caroténoïdes .....	5
II.2.2. Chlorophylles .....	6
II.2.3. Phycobiliprotéines .....	6
<b>III. L'activité antifongique</b> .....	6
<b>IV. l'activité anti-oxydante</b> .....	6
IV.1. Les radicaux libres .....	7
IV.2. Stress oxydatif .....	7

## Matériels et méthodes

<b>I. Matériel algal</b> .....	8
<b>II. Extraction des composés bioactifs</b> .....	8
II.1. Détermination des taux d'extraction .....	9
<b>III. Dosage des composés phénoliques des extraits aqueux et éthanoliques</b> .....	9
III.1. Dosage des phénols totaux .....	9
III.2. Dosage des phlorotannins .....	10
III.3. Dosage des flavonoïdes totaux .....	10
<b>IV. Dosage des caroténoïdes</b> .....	11
<b>V. Mesure de l'activité antioxydant</b> .....	11
<b>VI. Evaluation de l'activité antifongique</b> .....	12
VI.1. Test d'activité antifongique .....	13
VI.2. La détermination des CMI des extraits d'algues vis-à-vis des Candida albicans sur milieu liquide .....	13
VI.3. Détermination des concentrations minimales fongicides .....	13

# Sommaire

<b>VII. Tests statistiques .....</b>	<b>13</b>
--------------------------------------	-----------

## **Résultats et discussions**

<b>I. Taux d'extraction et dosage des composés phénoliques et pigments .....</b>	<b>16</b>
<b>I.1. Taux d'extraction des composés phénoliques .....</b>	<b>16</b>
<b>I.2. Dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>18</b>
I.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	18
I.2.2. Dosage des phlorotannins.....	19
I.2.3. Dosage des flavonoïdes.....	22
<b>III. Dosage des caroténoïdes .....</b>	<b>23</b>
<b>IV. Test de l'activité anti-oxydante.....</b>	<b>24</b>
<b>V. Les tests antimicrobiens.....</b>	<b>25</b>
V.1. Teste de diffusion sur milieux solide.....	25
V.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28
V.3. Détermination des concertations minimales inhibitrices (CMI) des extraits éthanoliques des quatre espèces d'algues marines.....	29
<b>Conclusion.....</b>	<b>31</b>

## **Références bibliographique.**

## **ANNEXE.**

## Introduction

Vivre en symbiose avec la nature est source de santé et de bien-être, il vaut mieux mettre en œuvre tout ce qui peut améliorer la résistance de notre terrain biologique utilisant des thérapeutiques naturelles en vue de nous préserver de toute agression éventuelle et maintenir ainsi l'état de santé, que nous percevons donc aujourd'hui comme le meilleur état d'équilibre dynamique de l'organisme dans le milieu. (Donadieu, 1996).

Bien moins connue que la plus part des autres végétaux du fait de leur habitat essentiellement aquatique (Gayral, 1975). On a estimé que les algues comprennent plus de trente milles espèces (Guiry., 2012). Les algues rentrent dans le groupe des thérapeutiques naturelles dénuées de toxicité qui peuvent intervenir de façon utile pour notre santé (Moritsen., 2015).

En effet la santé humaine est au cœur des préoccupations actuelles et le stress oxydatif représente une des principales causes de maladies comprenant des cancers, l'hyper tension, le diabète, des désordres neurologiques ainsi que des maladies inflammatoires. Ce stress oxydatif qui est due principalement aux radicaux libres. Ces derniers sont également responsables de dégâts dans le domaine alimentaire comme l'oxydation des lipides et des protéines réduisant la durée de vie des aliments, ils sont responsables de la formation de mauvais goûts et de composés chimiques toxiques (Tierney *et al.* 2013). Les altérations des aliments et les préjudices sur la santé humaine sont également dues aux microorganismes, parmi lesquels les champignons sont plus difficiles à éliminer que les bactéries, de part la nature de leur cellule eucaryote.

Des conservateurs alimentaires chimiques sont largement utilisés pour prévenir la détérioration des aliments. Cependant les consommateurs sont à la recherche d'alternatives biologiques à ces conservateurs synthétiques. En effet il y a un réel besoin d'identifier et d'extraire des composés naturels pour remplacer ces antioxydants chimiques comme le BHA (butylated hydroxytoluene) ou encore le TBHQ (tert-butylhydroxyquinone), ainsi que les antimicrobiens de synthèse comme le nitrate de sodium, le benzoate de sodium et l'acide ascorbique, qui peuvent avoir un effet toxique et cancerogène (Hold et kraan., 2011).

Les algues par nature sont dotées d'une pléthore de propriétés biologiques fonctionnelles différentes, parmi lesquelles les activités : antioxydante, anticancéreuse, antivirale,

antidiabétique, anti-cholestérolmiante et antimicrobienne pour ne citer que certaines, (Holdt et kraan., 2011). Ces activités sont due aux différent éléments qui les constituent, tel que les composés phénoliques, les pigments et les polysaccharides qui sont principalement responsable de l'activité antimicrobienne des algues. (Davidson et Naidu, 2000)

Outre ces propriétés bioactives, les algues marines sont également une bonne source de minéraux, d'oligo-éléments et de vitamines liposolubles. (Arasaki., 1983) de lipides, protéines et hydrates de carbone qui varies selon la saison et la zone de production. (Khan et al., 2007).

La réflexion actuelle vise à exploiter de telles propriétés pour identifier de nouveaux composés actifs tels que l'activité antioxydante et antimicrobienne pour améliorer notre alimentation et positivement affecter notre santé (Hold et kraan., 2011).

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude qui s'articule comme suit :

Nous commencerons par une synthèse bibliographique sur les algues marines, ainsi qu'un aperçu leurs composés phénoliques et leurs activités biologiques.

Ensuite nous passeront à la partie expérimentale, a savoir :

- L'extraction des composés phénoliques à partir des espèces d'algues récoltées par une extraction solide/liquide ;
- Dosage des composés phénoliques de ses extraits ;
- Dosage des caroténoïdes contenus dans ses extraits ;
- Evaluation de leur activité antioxydante ;
- Evaluation de leurs activités antimicrobiennes (antifongique) ;

Enfin la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions, et nous clôtureront par une conclusion et des perspectives.

## ***I. Description général des algues marines***

### ***I.1 Définition :***

Les algues peuvent être définies comme étant un organisme vivant photosynthétique, thallophyte (Gayron, 2004). Chlorophyllien se développant dans l'eau ou dans les milieux très humides (André, 1980). Leurs parois constituent un élément de structure cellulaire essentielle associée à la croissance et au développement. De plus les algues ont développé un métabolisme spécifique en produisant des composés de défense et de protection (antifongique, antibactérien, antioxydant..) contre le stress oxydatif et les microorganismes adhérant (Burlot, 2016).

### ***I.2.classification des algues :***

Les algues sont classées en 3 groupes principaux selon leur pigmentation : algues brunes (pheophycophytes), algues rouges (rhodophycophyte), et algues vertes (chlorophycophyte). (Luning., 1999).

#### ***I.2.1. Chlorophycophytes :***

Elles possèdent des plastes contenant de la chlorophylle a et b associée à de l'alpha et beta carotènes et des xanthophylles identiques à celles des plantes supérieures. (André, 1980). Colonisent tous types d'habitat, fond sableux ou coralliens, dans le petit fond jusqu'à des profondeurs dépassant les 100m. (Payri, 2006).

#### ***I.2.2. Les pheophycophytes :***

Sont des algues brunes toujours filamenteuses ou thalloïdes, pluricellulaires, elles possèdent des plastes brun contenant des chlorophylles a et c, de la beta carotène, de la fucoxanthine et des xanthophylles. (André, 1980).

Riche en composés phénoliques, les phlorotannins, qui sont avérés posséder une capacité antioxydante élevée, en raison du nombre élevé des groupes hydroxyles qu'ils possèdent. (Hermund et al., 2017)

#### ***I.2.3. Les Rhodophycophyte :***



Sont d'une couleur rouge plus ou moins nette, due à la présence, dans leur appareil plastidial, de phycoérythrine toujours associée à une petite quantité de phycocyanine. Le pigment rouge masque les chlorophylles a et d toujours présentes. (Gayral, 2013), elles vivent dans tous les types d'habitats y compris les zones profondes, et très peu éclairées. (Claude.Payri., 2006).

## ***II. les molécules bioactive des algues :***

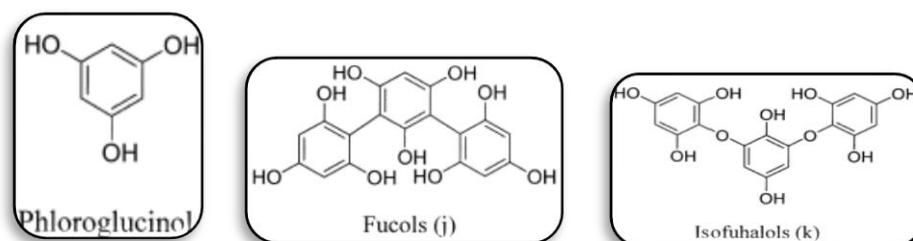
L'environnement où vivent les algues est en constante changement (T°, salinité, flux et reflux), afin de survivre dans les conditions défavorables, la plus part des algues développent un mécanisme de protection et produit une vaste variété de métabolites secondaires qui ont une activité potentiel biologique. (Izabella, 2014).

### **II.1. Les composés phénoliques :**

Les pol-phénols constituent une classe de molécules qui sont caractérisées par la présence de nombreux groupes phénoliques arrangés en des structures complexes. Tous les polyphénols ont en commun la présence de plusieurs noyaux benzéniques comportant des fonctions hydroxyyles. Les polyphénols peuvent se présenter sous la forme de molécules simple comme l'acide gallique jusqu'à des polymères à haut poids moléculaires, comme les tannins. (Vergé, 1999). Parmi les composés phénoliques les plus importants on cite :

#### **II.1.1.Phlorotannins :**

Sont des composés phénoliques formés par polymérisation d'unité de phloroglucinol. (figure n°1). Les phlorotannins comprennent des activités : antioxydante, antiVIH, anticancéreuse. (Ahn, 2004).



***Figure n°01 : structure de base de phlorotannins (phloroglucinol). et quelques phlorotannins. (Maschek et Baker, 2008)***

### II.1.2. Flavonoïdes :

Ils se composent de deux cycles benzéniques (A et B), qui sont reliés par un cycle pyrane (C) contenant de l'oxygène (Erlund, 2004), les différentes classes des flavonoïdes diffèrent par le niveau d'oxydation du cycle C (figure n°1) de la structure benzo-c pyrone basique (Amic et al., 2003).

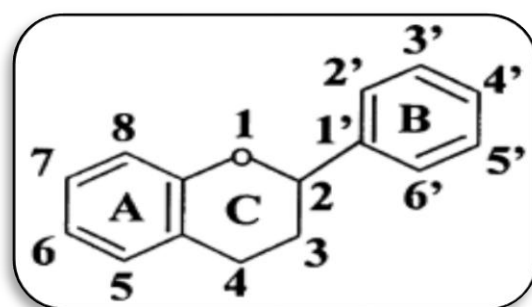


Figure n°2 : Structure de base des flavonoïdes. (Heim et al., 2002).

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leurs groupements hydroxyle (CH<sub>3</sub>-OH). (knekt et al., 2002), ils sont capable de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires avec la capacité d'exercer une multitude d'activités biologiques. (Ghedira., 2005).

### II.2. Pigment :

Il existe trois classes fondamentales de pigments que l'on trouve chez les algues marines : les chlorophylles, les caroténoïdes, et les phycobiliprotéines (Hold et Kraan., 2011).

#### II.2.1 Caroténoïdes :

Sont des composants liposolubles tétraterpénoïdes synthétisés dans les plantes et toutes les algues. Leurs fonctions biochimiques majeures sont déterminées par le système étendu de doubles liaisons conjuguées qui est également responsable de leurs couleurs orange ou jaune. (Demming, 1995).

### **II.2.2. Chlorophylles :**

Sont des pigments verts, liposolubles, présent dans toute les algues, la chlorophylles a est essentielles dans le centre de réaction des thylakoides (structures de récolte de la lumière dans lesquelles la photosynthèse est effectuée) (Lobban et Harrison., 1994 ; Rasmussen et Mourissey, 2007). La chlorophylle est connue pour être convertie en phéophytine, pyrophénophytine, phéophorbide dans le processus de transformation des végétaux alimentaires lors de l'ingestion par l'Homme. Ses dérivés montrent un effet antimutagène et peuvent jouer un rôle dans la prévention du cancer. (Chernomorsky et al., 1999).

### **II.2.3. Phycobiliprotéines :**

Contrairement à la chlorophylle et caroténoïdes, les phycobiliprotéines sont hydrosoluble, et forment des particules « phycobilisomes » à la surface des thylakoides, plutôt que d'être noyées dans les membranes. (Lobban et harrison., 1994). Les phycobiliprotéines sont utilisées actuellement comme colorants naturels dans des aliments tels que le chewing-gum, et les produits laitiers, en plus d'application cosmétiques, telles que les rouge à lèvres. (Sekar et Chandramohan, 2008). Différentes phycobiliprotéines se sont révélées avoir des activité, antioxydante, anti-inflammatoire, neuroprotecteur, hepato-protecteur, antiviral ou encore antitumoral (Sekar et chandramohan, 2008).

### **III. l'activité antifongique :**

L'inévitable conséquence de l'utilisation accrue des agents antifongiques au cours des dernières décennies est l'augmentation du nombre et variété de résistance fongique voire des médicaments, pour cela une importante attention est portée sur les produits naturels aux propriétés antifongiques qui seront comme une alternative thérapeutique. (Ghanoum, 1999).

Ainsi les antifongiques ciblent principalement la membrane cellulaires et la paroi cellulaire des champignons. Les antifongique peuvent également affecter la formation du a l'adhésion des levures, et interagir avec la chaîne respiratoire (Hector, 1993).

### **IV. l'activité anti-oxydante :**

Il existe plusieurs types d'antioxydants : parmi eux les antioxydants primaires qui sont destinés à empêcher la formation de nouveaux radicaux libres et les antioxydants secondaires qui ont pour fonction d'éliminer les radicaux libres avant qu'ils ne causent des dommages

spécifiques. Les antioxydants tertiaires sont ceux qui réparent les structures cellulaires endommagé par les attaques de radicaux libres.

#### **IV.1. Les radicaux libres :**

Les radicaux libres sont définis comme des molécules avec un électron impair ou non apparié dans l'orbitale externe de leurs structures atomiques, ce qui les rend très réactifs.

#### **IV.2. Stress oxydatif**

L'électron libre, de la molécule d'oxygène conduit biologiquement à la formation du radical libre le plus important, qu'on nomme espèces réactives d'oxygène (ROS), qui sont composés de l'anion super-oxyde du peroxyde d'hydrogène et du radical hydroxyle, composés associés à plusieurs processus pathologiques. (Namiki., 1990). Les ROS formées dans les cellules humaines au cours de la respiration par des facteurs endogènes, entraînent des dommages oxydatifs important pouvant mener à des maladies dégénératives liées à l'âge, cancer, et à un large éventail d'autres maladies humaines. (Reavene et witzum., 1996).

En outre il a été démontrée que les algues possèdent des propriétés antioxydantes significatives (craig., 1997). Parmi les principales entités responsables de propriétés antioxydants des algues marines on cite les composés polaires tels que les acides aminés, et des composés phénoliques. (Fish et al., 2003 ; Kang et al., 2004) , et certains caroténoïdes comme des composés potentiellement antioxydant. (Lin et al., 2012).

## ***I. Matériel algal***

Les algues marines faisant l'objet de cette étude sont au nombre de quatre, deux algues vertes et deux algues brunes. Les échantillons d'algues ont été collectés au niveau de la plage dite Ach El-bez, située à environ 22 km à l'ouest de la ville de Bejaïa par (Keramane), (figure 3).

Nous avons travaillé avec des algues préalablement récoltées et séchées, sur lesquelles nous avons procédé à un broyage et un tamisage afin d'avoir une granulométrie inférieure à 63  $\mu\text{m}$ .



**Figure n°03 : Image satellite du littoral ouest de Bejaia.**

## **II. Extraction des composés bioactifs**

Le protocole décrit par Cox et al., (2010) légèrement modifié a été suivi pour l'extraction des composés bioactifs.

A partir des poudres obtenues, nous avons procédé à une extraction par macération (solide-liquide), pour ce faire nous avons choisis deux solvants à savoir : l'éthanol et l'eau qui répondent aux exigences du secteur alimentaire.

Pour ce qui est de l'éthanol nous avons travaillé avec un mélange éthanol/eau à 75%, taux rapporté pour obtenir de meilleur taux et qualité d'extraction. (Del pilar-Camargo et al. 2016)

L'extraction a été effectuée par macération de 10g de poudre d'algue dans 100ml d'eau distillée ou d'éthanol aqueux, pendant deux heures à 40°C sous agitation. Par la suite, la solution a été centrifugée à 5000 rpm pendant 15min.

Le surnageant est récupéré, filtré avec un papier filtre (wattman standard), le filtrat de chaque solvant est récupéré dans un bécher, évaporé à sec dans une étuve à 40°C. Puis reconstitué à une concentration de 100mg/ml dans leur solvant d'extraction.

Le contenu est préservé dans des flacons fumés et à une température de 4°C à l'abri de la lumière.

Pour une utilisation antérieure les extraits sont filtrés avec un filtre à seringue à 0,45µm.

### II. Détermination des taux d'extraction

Le rendement en extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de l'extrait avant et après évaporation du solvant.

Le rendement d'extraction est calculé comme suit :

$$RE \% = (p1 - p0) / E \times 100$$

**P0** → poids du bécher vide (mg)

**P1** → poids du bécher après évaporation (mg).

**E** → poids de l'échantillon (mg).

**RE** → Rendement d'extraction exprimé en pourcentage.

### III. Dosage des composés phénoliques des extraits aqueux et éthanoliques

#### III.1. Dosage des phénols totaux

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acide Phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm. Le dosage de Polyphénols totaux (PT) est effectué par la comparaison de la densité optique (D.O) observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Vermeris *et al.*, 2006).

Mode opératoire :

Dans 1250µl de folin ciocalteu dilué au 1/10<sup>ème</sup>, est ajouté 250µl d'extrait dilué à 10mg/ml, après deux minutes 1ml d'une solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7.5% est ajouté. Ce mélange est incubé à 50°C pendant 5min dans un bain Marie, puis placé directement dans un bain de glace. Des mesures d'absorbance sont enregistrées à 760nm en utilisant un Spectrophotomètre (MojcaSkerget et *al.*, 2003).

L'acide gallique est utilisé pour la préparation de la courbe d'étalonnage. Les Résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait)

### **III.2. Dosage des phlorotannins**

Les phlorotannins sont des composés phénoliques constitués de plusieurs unités de phloroglucinol (Singh et *al.* 2013) Le protocole suivi pour leur dosage est celui de Stern et al. (1996). Ce dosage repose sur le DMBA (2,4-Dimethoxybenzaldehyde). Ce produit réagit avec des phénols 1,3- et 1,3,5-substitués, pour former un produit coloré. (Lewis et al., 1996)

Mode opératoire :

Des aliquotes de 250µl de chaque extrait ont été mélangées avec 1250µl de DMBA. La réaction a été opérée à température ambiante, dans l'obscurité, pendant 60 minutes. On procède par la suite à une mesure de l'absorbance à 515 nm avec un spectrophotomètre.

Le phloroglucinol est utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage, et les teneurs en phlorotannins sont donc exprimées en mg équivalent de phloroglucinol par gramme d'extrait (mg EPG /g).

### **III.3. Dosage des flavonoïdes totaux :**

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (CH<sub>3</sub>-OH) fortement réactif (Ghedira, 2005).

Leur dosage repose sur la formation d'un complexe jaunâtre lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, due à la fixation des ions Al<sup>3+</sup> sur les atomes d'oxygènes présents sur les atomes de carbone 4 et 5 des flavonoïdes. (Ribereau-Gayon., 1968).

Mode opératoire :

Le protocole suivi a été décrit par djeridane et al., (2005) Une quantité de 1,5ml de chaque échantillon a été ajoutée à 1,5 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dissous au méthanol). Après un temps de contact de 15 min, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc dans lequel l'échantillon a été dissout (eau/éthanol, eau pure) à  $\lambda = 430\text{nm}$ .

Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine (0-35  $\mu\text{g/ml}$ ). Les résultats ont été exprimés en mg équivalents de quercétine par 100 mg d'extrait sec.

#### **IV. Dosage des caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments rouges ou jaunes, possédant une structure aliphatique ou alicyclique, ils sont liposolubles, ce qui favorise leurs intégrations directe dans certaines membrane (Ourisson et al., 1987)

Une méthode spectrophotométrique est suivie pour la détermination de leur teneur totale en fonction de leurs absorbances caractéristiques. Selon le protocole décrit par Gilbert-Lopez et al. (2016)

Mode opératoire

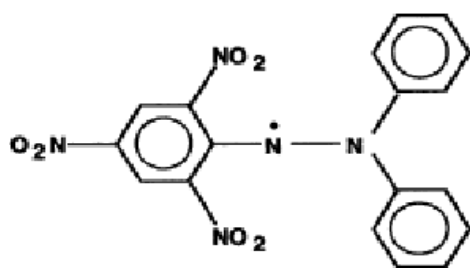
Dans une microplaque de 96 puits on dispose de 300 $\mu\text{l}$  de chaque extrait, et d'une autre part on dépose 300 $\mu\text{l}$  de la solution de béta-carotène aux concentrations de (0,03 à 0,1  $\mu\text{g/ml}$ ) afin d'établir une courbe standard.

Les teneurs en caroténoïdes totaux, sont calculées en extrapolant l'absorbance de l'extrait dans la courbe d'étalonnage du  $\beta$ -carotène, elles sont donc exprimées en  $\mu\text{g}$  équivalent de béta-carotène par gramme d'extrait.

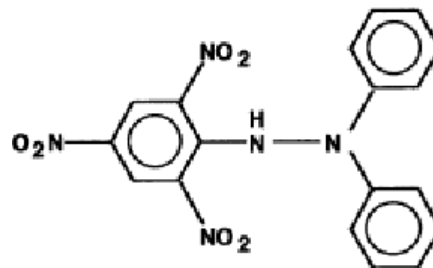
#### **V. Mesure de l'activité antioxydant (Piégeage du radical libre DPPH)**

Le DPPH est un radical libre stable qui possède un électron de valence non apparié à un atome de pont d'azote (figure 4). Le piégeage du radical DPPH est à la base du test antioxydant DPPH (Eklund et al., 2005).





1. DPPH radical libre



2.DPPH non radical

Figure n°4: Structure chimique du DPPH<sup>•</sup> et DPPH<sub>2</sub> (Molyneux, 2004).

Mode opératoire :

Pour la mesure de cette activité la méthode de Brand-Williams et al. (1995) a été suivie. Différentes concentrations d'extrait [5,10, 25, 50,100] mg/ml ont été réalisées. Pour un volume final de 1ml, 50µl de chaque concentration d'extrait et 1950µl de la solution de DPPH préalablement préparée sont mélangés. Après incubation à température ambiante pendant 4 heures, à l'abri de la lumière. L'absorbance du mélange est mesurée à 516 nm

Un blanc de chaque extrait est préparé comme suit : 50µl de chaque concentration d'extrait additionnés de 1950 µl de méthanol.

L'activité antioxydante a été déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec le DPPH (0,09 à 0,0075 µg/ml).

## VI. Evaluation de l'activité antifongique

Pour l'évaluation de cette activité la levure *Candida albicans* ATCC 10231 a été utilisée. Pour ce faire nous avons commencé par un test préliminaire de diffusion sur milieu gélosé pour avoir une appréciation générale de l'activité puis nous sommes passés à la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide qui est un double test qui permet d'une part d'évaluer l'activité en milieu liquide et de déterminer les CMI.

### **VI.1. Test d'activité antifongique**

La méthode utilisée pour la mise en évidence de l'activité antifongique est la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton gélosé décrite par Younes et al., (2009). Le milieu est ensemencé avec l'inoculât fongique par écouvillonnage (en stries serré), des disques stériles sont déposés en parallèle et immédiatement imbibés de 20µl d'extraits. Une diffusion de 2h à 4°C est effectuée, par la suite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

### **VI.2. La détermination des CMI des extraits d'algues vis-à-vis des *Candida albicans* sur milieu liquide**

Ce test est réalisé selon la technique de micro-dilution sur microplaques stériles tel que recommandé par le comité international pour les normes de laboratoire clinique (NCCLS, 1999), la procédure est comme suit :

- 165µl de BMH additionnés de tween 20 à 0,5% sont déposés dans chaque puits ;
- 30µl des différentes concentrations des extraits allant de 12,5mg/ml à 100mg/ml y sont ajoutés ;
- Chaque puits est ensuite ensemencé par 5µl de la suspension bactérienne de densité  $10^7$  UFC /ml ; pour obtenir un inoculât final de  $10^5$  UFC/ml

Les microplaques sont incubées à 37°C/24h

Dans ce test deux témoins sont réalisés :

- Témoin positif : les extraits sont remplacés par un antifongique.
- Témoin négatif : exempt d'extrait.

Après 24h la CMI de chaque extrait a été déterminée visuellement par l'absence de formation d'un culot fongique blanc au fond des puits. (Santoyo et al., 2009).

### **VI.3. Détermination des concentrations minimales fongicides**

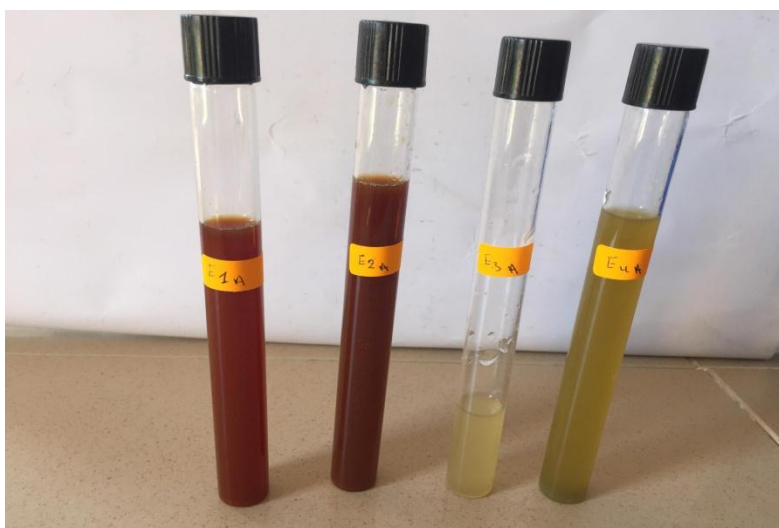
A partir des puits où aucune croissance microbienne n'a été observée, des spots de 20µl sont ensemencés sur un milieu PCA. Les boîtes sont incubées pendant 24 à 37°C.

## **VII. Tests statistiques**

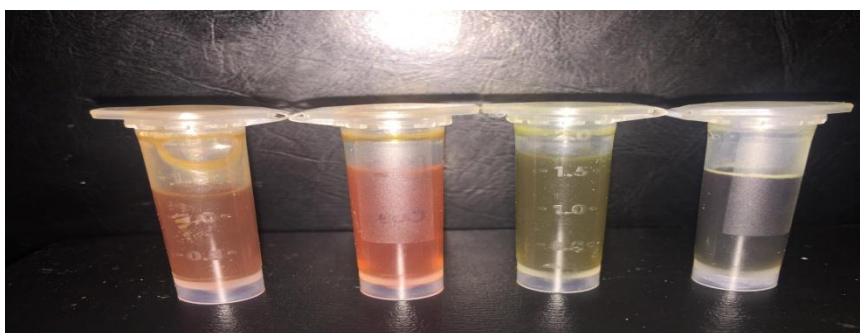
Toutes les données de la présente étude sont représentées sous forme de moyennes des essais. Nous avons comparé les résultats obtenus lors de ce travail en utilisant des tests de comparaisons de moyennes ANOVA à l'aide de logiciel GraphPadPrism. Des différences

significatives ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes sont déterminées par le test LCD (Low significant Difference).

Nous avons mené notre investigation sur quatre espèces algues différentes récoltées sur la côte de Bejaia, deux algues vertes (AV1, AV2) et deux algues brunes (AB1, AB2), sur lesquelles nous avons procédé à une extraction par macération (solide-liquide), pour cela, nous avons choisis deux solvants à savoir : l'éthanol à 75% et l'eau pure qui répondent aux exigences du secteur alimentaire (Basykina, et al.,2002). Et comme la solubilité des composés phénoliques peut être améliorée en utilisant un solvant mixte (Cacace et Mazza., 2003), le mélange éthanol /eau a été utilisé. (Figure n°4 et figure n°5)



**Figure n°5: Photographie des extraits aqueux des algues marines, de gauche à droite : AB2, AB1, AV1, AV2.**



**Figure n°6 : Photographie des extraits éthanoliques, de gauche à droite : AB1, AB2, AV1, AV2**

Après les différentes extractions nous avons commencé par des dosages des composés qui pourraient éventuellement posséder des activités biologiques. Par la suite nous avons procédé à une évaluation des activités antioxydante et antibactérienne.

## I. Taux d'extraction et dosage des composés phénoliques et pigments.

### I.1. Taux d'extraction des composés phénoliques

Après extraction et récupération des extraits d'algues, leur rendement a été déterminé par rapport à 100g de matière végétale sèche exprimé en pourcentage, la figure n°07 résume le taux d'extraction des extraits éthanoliques et aqueux.

Les taux d'extraction des composés phénoliques sont représentés dans l'histogramme ci-dessous :

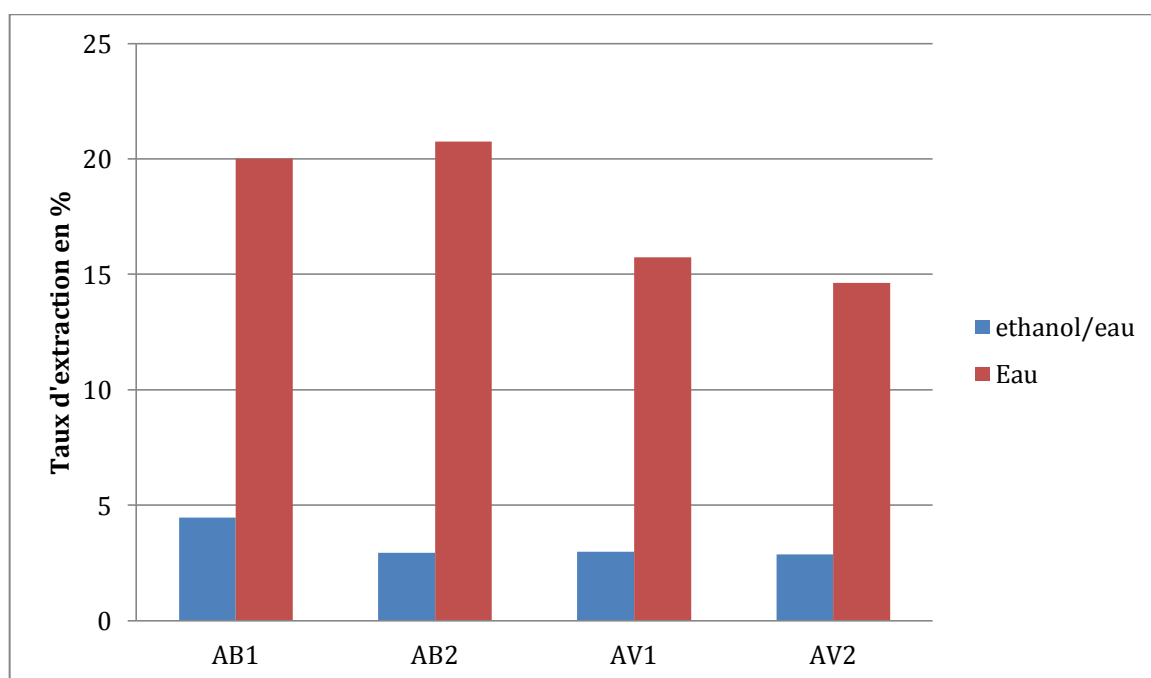


Figure n°7 : Taux d'extraction obtenus pour les extraits aqueux et éthanoliques.

D'après ce diagramme nous remarquons que parmi les extraits éthanoliques des quatre espèces d'algues marines étudiées, l'extrait (AB1) représente le taux d'extraction le plus élevé avec 4,46%, l'extrait (AV2) enregistre le plus faible taux d'extraction avec 2,86%.

Pour les extraits aqueux l'extrait (AB2) représente le meilleurs taux d'extraction avec 20,7%, tandis que l'extrait (AV2) à enregistré la plus faible valeur à savoir 14,6%.

Le taux d'extraction de l'extrait éthanoliques de l'espèce d'algue verte (AV2) est plus élevé par rapport aux taux d'extraction des algues brunes cela est dû peut être à la granulométrie de la poudre, effectivement c'est un paramètre important dans la mesure où la réduction de la taille des particules augmente la surface de contact avec le solvant. (Sipgno et al., 2007) .

D'après ces résultats on remarque que les taux d'extraction des extraits aqueux sont supérieurs à ceux des extrait éthanoliques, ce qui nous permet de dire que l'augmentation de la polarité du solvant (indice de polarité d'éthanol est de 5,2 tandis que l'eau est de 9) est proportionnelle aux rendements. (Burtin, 2003).

Le pouvoir solvant de l'eau provoque l'altération partielle ou complète de divers liens entre les atomes, et présente un exceptionnel pouvoir de dissolution des sels minéraux ainsi que les composés organiques polaire tels que les acides carboxyliques et les polysaccharides. (piemont et al., 2005).

D'après nos propres constatations, les extraits d'algues vertes étaient très visqueux « viscosité due entre autre à leur richesse en polysaccharides (Usov et al., 2013) » ce qui rendaient leur filtration, très difficile, cela peut être la cause du faible rendement de ces espèces dans les extrait aqueux.

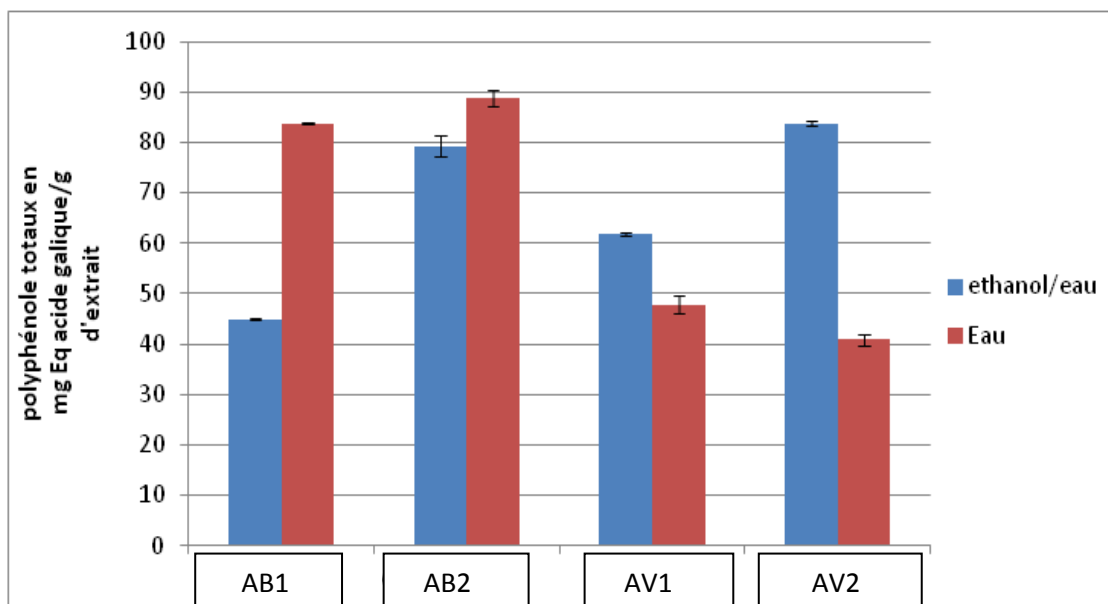
Nos résultats concordent avec ceux de sabeena et al. (2013) effectué sur des algues brunes et vertes avec les mêmes conditions, cependant nos rendements en extraction sont inferieurs, effectivement leur taux variait entre 15,7% à 51,3% pour les extraits aqueux et entre 7,2 % à 21,8% pour les extraits éthanoliques.

Cette différence peut être expliquée par le fait que la constitution algale varie en fonction de l'espèce, la localisation géographique, la saison de récolte, variations environnementales et physiologiques ce qui influe forcément sur le rendement d'extraction (Sanchez-Machado, 2004; Siddique et al., 2013).

## I.2. Dosage des composés phénoliques

### I.2.1. Dosage des polyphénols totaux

En présence de polyphénols, le complexe (phénols et réactif Folin ciacolteu) change de couleur du jaune au bleu, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à une longueur d'onde de 765nm (Huang et al., 2005).



**Figure n°8 : Histogramme représentant le taux de polyphénols dans les extraits aqueux et éthanoliques.**

Nous observons que les taux de polyphénols totaux des extraits aqueux varient de  $40,867 \pm 1,107$  jusqu'à  $88,85 \pm 1,533$  mg EAG/g, tandis que les extraits éthanoliques varient de  $44,901 \pm 0,17$  à  $83,793 \pm 0,511$  mg EAG/g, en termes d'intervalle.

Les taux les plus élevés sont obtenus avec les extraits aqueux notamment avec les deux espèces d'algues brunes qui ont atteint des taux de  $88,85 \pm 1,533$  mg EAG/g et  $83,793 \pm 1,533$  mg EAG/g pour (AB2) et (AB1) respectivement.

Tandis que les extraits éthanoliques ont exhibé le meilleur taux chez l'espèce d'algue verte (AV2) avec un taux de  $83,793 \pm 0,17$  mg EAG/g, et l'espèce (AB2) d'algue brune avec un taux de  $79,217 \pm 2,043$  mg EAG/g. Une étude de wang et al.,(2010) a démontré que l'eau était moins efficace que les solvants organiques polaires dans l'extraction des composés

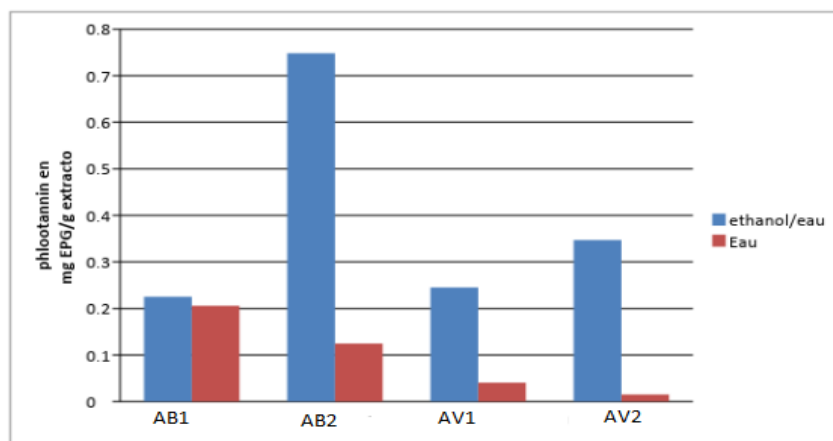
phénoliques. Dans une autre étude de sabeena et al. (2013) qui a montré les résultats suivant : 32,4 à 120,8 mg EAG/g pour les extraits éthanoliques d'algues brunes, et 265,8 à 236,5 mg EAG/g pour les extraits éthanoliques d'algues vertes ; Tandis que les extraits aqueux ont montrés des taux de 11,5 à 60,7 mg EAG/g pour les algues brunes, et 23,09 à 28,48 mg EAG/g pour les algues vertes.

Les résultats ainsi obtenus avec les extraits d'algues brunes sont contradictoires aux études antérieures effectuées dans d'autres laboratoires, cela est peut être due à l'interaction avec d'autres molécules hydrosolubles avec les réactifs utilisés (Everette, et al., 2010 ; Ikawa, et al., 2003).

### I.2.2. Dosage des phlorotannins :

Dans ce test le réactif de DMBA, a été utilisé, qui interagit avec les phlorotannins (Lewis, 1996).

Les résultats sont exprimés en mg équivalents phloroglucinol par gramme de matière sèche.



**Figure n° 9: Histogramme représentant les taux de phlorotannins dans les extraits aqueux et éthanoliques.**

D'après les résultats obtenus on remarque un taux peu élevé de phlorotannins chez les extraits aqueux d'algues brunes avec des taux de 0,125 mgEPG/g et 0,206 mgEPG/g pour (AB2) et AB1 respectivement, tandis que les extraits aqueux d'algues vertes ont un très faible taux avec 0,015 mgEPG/g à 0,041 mgEPG/g pour (AV2) et (AV1).



Pour les extraits éthanoliques la valeur la plus élevée est celle de l'espèce (AB2) d'algue brune avec un taux de 0,748 mgEPG/g, suivi par les algues vertes avec les espèces (AV2) et (AV1) respectivement avec des taux de 0,347 mgEPG/g et 0,245 mgEPG/g.

Les phlorotannins sont des composants hautement hydrophiles en raison de la présence de groupement OH qui peuvent former des liaisons hydrogènes avec l'eau (Li et al., 2011) . Ce qui explique leur abondance dans les extraits aqueux.

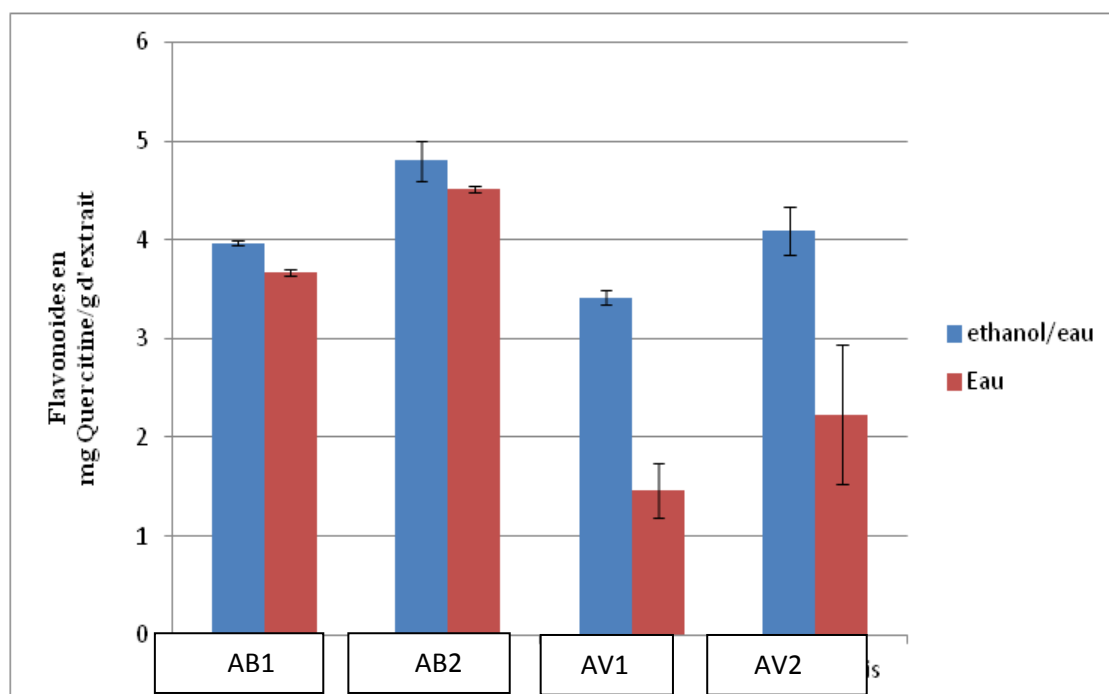
Il a été rapporté que la plus part des phlorotannins sont isolés des algues brunes, ceci explique les résultats obtenus, de plus la concentration de phlorotannins varient fortement au sein des différents taxons d'algues brunes (Singh, 2013) .

La teneur en phlorotannins peut varier pour une même algue en fonction des variations saisonnières : des différences claires ont été observées dans les échantillons recueillis au cours d'une année, les extraits prélevés en juillet et janvier montrent des concentrations maximales de phlorotannins (Parys et al., 2009). Or nos algues ont été prélevées en mai, période pendant laquelle les algues ne subissent pas le maximum d'agression de leur environnement et n'y répondent donc pas par production accrue de phlorotannins (Singh, 2013).

Hemmi et al., (2005) ont rapporté que l'âge des algues jouent aussi un rôle dans la concentration des phlorotannins, ils ont trouvé que la concentration la plus élevée se situait dans le méristème le plus ancien ils ont attribué cela à une mesure de protection contre les prédateurs.

En outre, le niveau des phlorotannins soluble est corrélés à l'augmentation du rayonnement ultra-violet à cause de leur rôle de défense vis-à-vis des ultra violet (Roleda et al., 2006), ainsi les échantillons d'algues collectés à partir de faible profondeurs montrent une concentration plus élevée de ses composés par rapport aux échantillons prélevés dans les profondeurs marine (Fairhead et al., 2006), ce qui explique les différences de concentration en phlorotannins des mêmes groupes d'algues

### 1.2.3. Dosage des flavonoïdes



**Figure n° 10 : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des différents extraits en mg EQ/g.**

Dans les extraits aqueux on constate d'après l'histogramme que les deux espèces d'algues brunes marquent un taux de flavonoïdes le plus élevé, avec un taux de  $3,677 \pm 0,032$  mg EQ/g pour l'espèce (AB1) et à  $4,513 \pm 0,027$  pour l'espèce (AB2) mg EQ/g, et un taux de  $1,465 \pm 0,274$  à  $2,23 \pm 0,708$  mg EQ/g pour les deux extraits d'algues vertes l'espèce (AV1) et (AV2) respectivement.

Pour les extraits éthanoliques on a notés la valeur la plus élevée chez l'espèce (1) d'algues brune avec un taux de 4,8 mg EQ/g tandis que l'espèce (2) a marquée un taux de 3,967 mg EQ/g.

Pour les algues vertes on a obtenu une grande valeur au delà des attentes chez l'espèce (AV2) avec un taux de  $4,09 \pm 0,242$  mg EQ/g suivi par l'espèce (AV1) avec un taux de  $3,418 \pm 0,068$  mg EQ/g.

Il existe peu de données dans la littérature sur le contenu en flavonoïdes chez les algues marines, cependant il est rapporté que les algues vertes contiennent des teneurs variant entre (8,43 et 33,39 mg/g MS), les algues brunes des teneurs variant entre (20,72 et 32,89 mg/g MS). (Meenakshi et Gnanambigai., 2009 ; Sava et Sirbu., 2010).

### III. Dosage des caroténoïdes

Les taux de caroténoïdes exprimés en microgramme équivalent de bêta-carotène par gramme d'extrait pour les différents extraits d'algues étudiés sont représentés sur la figure suivante :

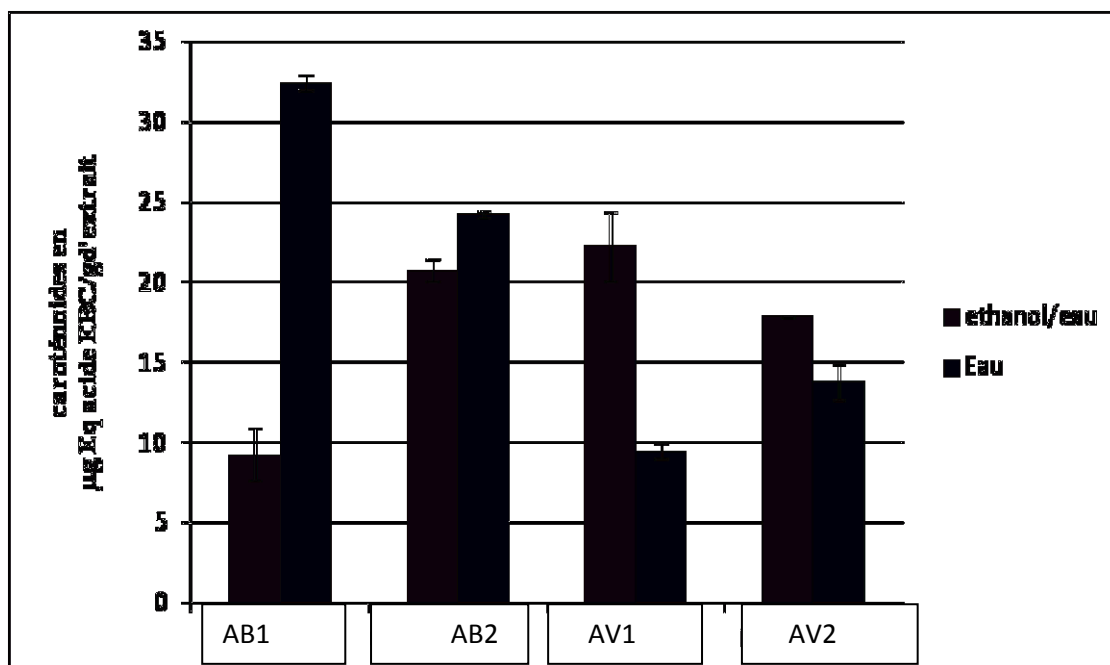


Figure n°11 : Histogramme représentant le taux de caroténoïdes chez les algues marines étudiées en mg EBC/ g

D'après nos résultats, les taux les plus élevés sont notés chez les extraits aqueux des algues brunes avec un taux de caroténoïdes de  $32,482 \pm 0,471 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  pour l'espèce (AB1) et  $24,286 \pm 0,250 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  pour l'espèce (AB2). Tandis que les algues vertes exhibent un taux moins élevé avec  $13,796 \pm 1,107 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  pour l'espèce (AV2), et  $9,463 \pm 0,471 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  pour l'espèce (AV1).

Pour ce qui concerne les extraits éthanoliques les espèces (AV1) et (AB2) ont exhibé les taux les plus élevés avec  $22,267 \pm 2,163 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  et  $20,776 \pm 0,721 \mu\text{g E}\beta\text{C/g}$  respectivement.

Les algues brunes utilisent comme pigment collecteurs de lumière de la chlorophylle c combinée à un pigment brun, la fucoxanthine (caroténoïdes) (Seloisse, 2006), ce qui explique les fortes teneurs en caroténoïdes des extraits d'algues brunes.

Boisvert et al., (2015) ont rapporté les résultats suivants :  $49,07 \pm 14,43$  à  $84,98 \pm 8,84$   $\mu\text{g}$  E $\beta$ C/g. pour les extraits éthanoliques des algues brunes, et aucun résultat pour les extraits éthanoliques des algues vertes. Ces taux relativement plus élevés sont dû peut être à l'utilisation d'une différente méthode d'extraction (PLE).

#### **IV. Test de l'activité anti-oxydante :**

Le réactif DPPH a été largement utilisé pour étudier les activités de piégeage des radicaux libres des composés. Dans le test DPPH, les extraits sont potentiellement capables de réduire le radical DPPH stable à la diphénylpicrylhydrazine de couleur jaune.

Le test est basé sur la réduction de la solution de DPPH alcoolique en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène en raison de la formation de la forme non-radical DPPH-H par la réaction (Shon et al., 2003).

Les résultats du DPPH sont souvent interprétés comme «concentration efficace» ou la valeur EC<sub>50</sub>, qui est définie comme la concentration de l'extrait qui entraîne une perte de 50% du radical DPPH (Molyneux, 2004).

Les résultats de ce teste sont résumés dans le tableau n°1

**Tableau n°01 : Valeurs d'EC<sub>50</sub> du radical DPPH des différents extraits**

	Extraits éthanolique (Mg/ml)	Extraits aqueux (Mg/ml)
(AB2)	134,84	449,74
(AB1)	110,75	–
(AV1)	80,70	756,95
(AV2)	3335,36	451,58

Les extraits qui ont exhibé la meilleure activité antioxydante sont les extraits éthanoliques d'algues verte (AV2) avec un EC<sub>50</sub> de 80,70mg/ml ; et l'extrait d'algue brune (AB1) avec un EC<sub>50</sub> de 110,75 mg/ml. Ses résultats sont compatibles avec ceux des flavonoïdes totaux

dont la même espèce d'algue (AV1) éthanolique à présenter la meilleure teneur en flavonoïde et la meilleure teneur en polyphénols totaux avec les extraits éthanoliques aussi. Tandis que l'algue verte (AV2) exhibe la EC50 la plus faible qui est égale à 3335,36 mg/ml.

En raison de différents protocoles et conditions de réactions, les valeurs EC50 pour les mêmes extraits varient beaucoup. Ainsi il s'avère plus difficile de comparer les résultats de différents laboratoires (Kano et al., 2005., Ricci et al., 2005). La lumière, l'oxygène, et le PH du mélange réactionnel affectant également l'absorbance de la solution de DPPH (Ozcelik et al., 2003).

Comme suggéré par Yan et al., (2014) le groupement -OH phénolique dans la fraction flavonoïde peut donner des radicaux H indiquant des effets de piégeage des radicaux par leurs activité de piégeage des radicaux superoxydes et hydroxylique dans les systèmes hydrophiles et lipophiles.

Plusieurs études ont rapporté l'importance des caroténoïdes comme antioxydants dans les algues marines (Cox et al., 2010). Ce qui concorde avec nos résultats.

## **V. Les tests antimicrobiens**

### **V.1. Teste de diffusion sur milieux solide :**

Les résultats sont exprimés en trois niveaux d'activité, Résistance :  $D < 8$  mm, intermédiaire :  $15\text{mm} \geq D \geq 8\text{mm}$  et sensible :  $D > 15\text{mm}$ . Ou D : Diamètre des zones d'inhibition (Bensemira et al., 2006).

Les résultats de ce test sont regroupés dans l'histogramme ci-dessous

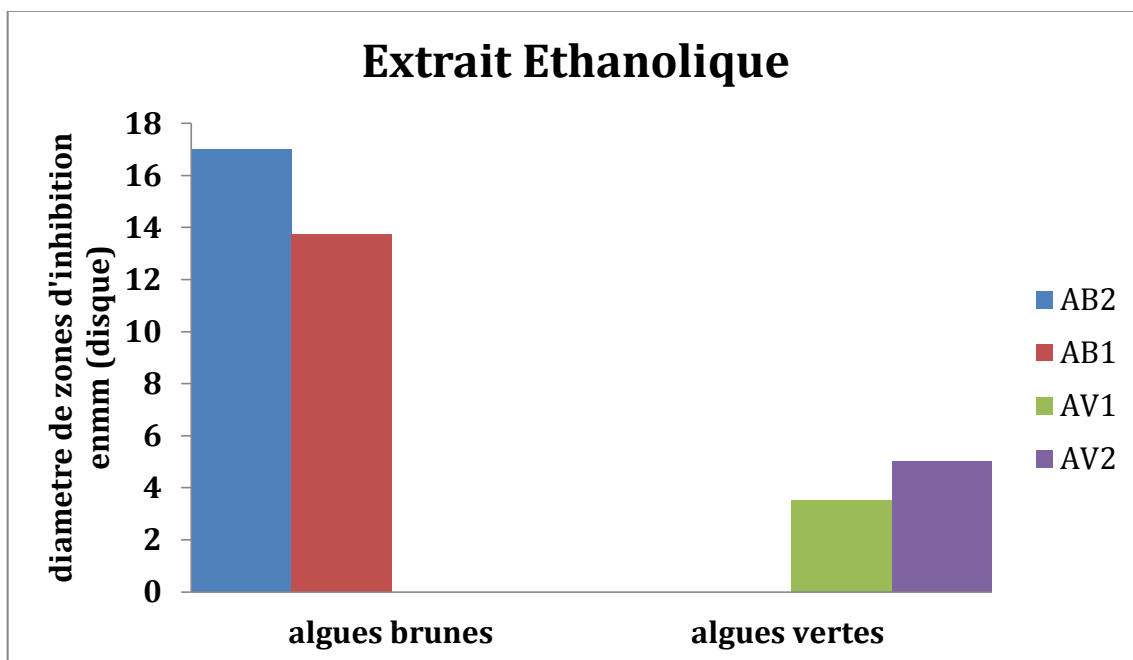


Figure n°12 : Histogramme représentant les diamètres d'inhibitions des extraits éthanoliques d'algues marines vis-à-vis *Candida albicans*.

Les résultats ainsi obtenus nous laissent dire que les extraits éthanolique d'algues brunes ont une meilleure activité antifongique contre le champignon *Candida albicans* avec un diamètre de 13 à 17mm pour l'espèce (AB2), et 10,75 à 13,75mm pour l'espèce (AB1). Tandis que pour les algues vertes on à noté un diamètre de 3,5 à 5,5mm avec l'espèce (AV1) et un diamètre de 5 à 8,5mm avec l'espèce (AV2). Figure n° 14

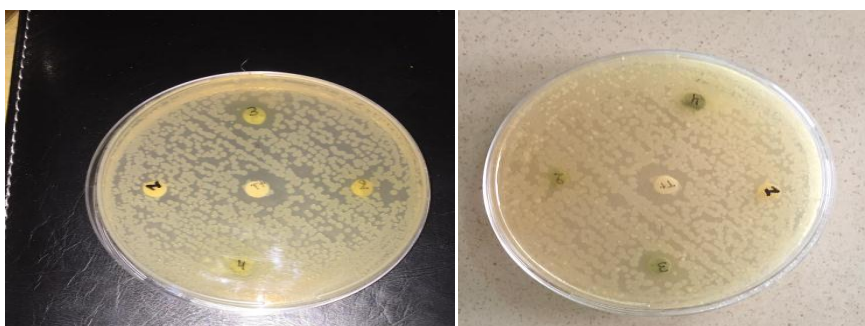


Figure n°14 : Photographie des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des algues marines (AB1, AB2, AV1, AV2).

- 1 : AB2
- 2 : AB1
- 3 : AV1
- 4 : AV2

Pour ce qui concerne les extraits aqueux les résultats du test antibiogramme étaient négatifs et cela peut être expliqué par le choix du solvant qui a un impact important sur la qualité des composés extraits ce qui influence directement l'effet antimicrobien. Ainsi, les composés phénoliques les plus solubles dans les solvants organiques sont les plus actifs (Waterman et Mole., 1994).

En effet, les métabolites secondaires présents dans les algues ne sont pas un absolu quantitatif ou qualitatif, mais varient en fonction du solvant d'extraction utilisé ; dans une étude rapportée par Rajauria et al., 2012. En général, la plus part des composés actifs antimicrobiens ne sont pas soluble dans l'eau et par conséquent, les extrais de solvants organiques se sont révélés plus puissant. Les solvants les plus couramment utilisés dans l'extraction des antimicrobiens sont le méthanol, l'éthanol, l'acétone. (Green, 2004).

Une études effectuer par El wahid et al., 2015 a rapporté qu'aucune activité n'a été observé pour les algues vertes vis-à-vis de *candida albicans*, tandis qu'une très bonne activité a été observée pour les extraits éthanoliques des algues brunes. Les résultats de ces auteurs sont presque identiques avec les résultats qu'on a eu avec l'algue brune (AB2), tandis que les résultats avec les algues vertes sont très différents. Cela est peut être dû à la différence de la constitution du solvant (l'étude précédente ont utilisé de l'éthanol pure).

Pour conclure, les *Candidas albicans* sont avérées sensibles aux extraits éthanoliques (AB2) avec un diamètre allant jusqu'à 17mm, et une activité intermédiaire avec les extraits éthanoliques (AB1), et (AV2) avec des diamètres d'inhibitions supérieurs à 8mm. Tandis que les *Candidas albicans* sont résistantes aux extraits éthanoliques (AV1) avec des zone d'habitions inférieurs a 8mm.

## **V.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI),**

Les tests de la CMI ont été effectués sur microplaques dans un milieu liquide de Mueller Hinton (figure 14);

Les résultats du test sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau n°2 : représentant la CMI des extraits éthanoliques d'algues marines**

	AB1 (algue brune)	AB 2 (algue brune)	AV1 (algue verte)	AV2 (algue verte)
12,5mg/ml	+	+	+	+
25mg/ml	+	+	+	+
50mg/ml	-	-	-	-
75mg/ml	-	-	-	-
100mg/ml	-	-	-	-

**(-) : absence de croissance fongique**

**(+) : présence de croissance fongique**

La plus part des composés responsables de l'activité antimicrobienne des algues sont principalement des composés phénoliques et polysaccharides, et leurs mécanismes d'action pourrait être fongistatique (inhibition de la croissance des microorganismes) ou fongicide (destruction direct des microorganismes). (Davidson et Naidu., 2000).

L'action antimicrobienne des phénols peut être due à leurs capacité à altérer la perméabilité des cellules microbiennes, permettent ainsi la perte de macromolécules de l'intérieur ou pouvant interférer avec la formation membranaire et entraîner une mort cellulaire éventuelle. (Bajpai et al., 2008).

Particulièrement les mélanges eau /alcool se sont révélés plus efficace pour extraire les constituants phénoliques que le système de solvant monocomposant. (Yilmaz et Toledo., 2006 ; Pinelo et al., 2005). Les extraits éthanoliques d'algues montrent un rendement plus élevés et une variété de composés phénoliques plus riche par rapport aux extraits aqueux. (Farvin et al., 2013)



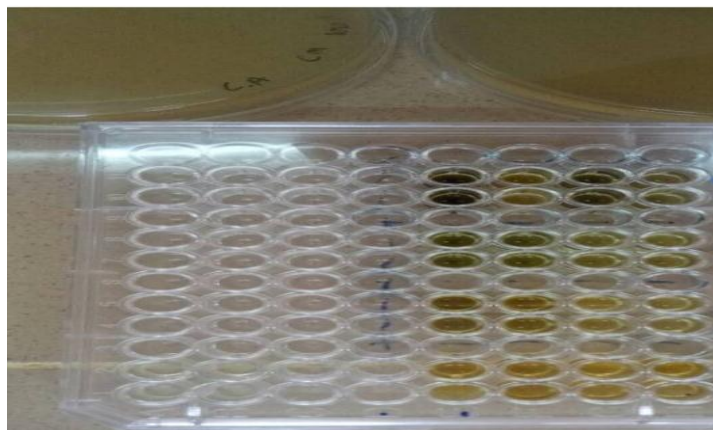


Figure n°15 : photographie d'une microplaque les CMI des extraits éthanolique vis-à-vis de *Candida albicans*.

### V.3. Détermination des concertations minimales fongicides (CMF) des extraits éthanoliques des quatre espèces d'algues marines :

Le tableau n°03 résume les résultats obtenus pour les CMF sur milieu solide.

Tableau n°03 : tableau représentant la CMB (fongicide) des extraits éthanolique des algues marines.

	AB1	AB2	AV1	AV2
50 mg/ml	Fongicide	Fongicide	Fongistatique	Fongistatique
75 mg/ml	Fongicide	Fongicide	Fongistatique	Fongicide
100mg/ml	Fongicide	Fongicide	Fongistatique	Fongicide

On constate que l'activité antifongique des extraits éthanoliques des algues brunes sont plus efficace vis-à-vis de *Candida albicans*, la CMF de ces algues est équivalente à 50mg/ml pour les deux espèces.

Tandis que les algues vertes sont moins efficace vis-à-vis *Candida albicans*, avec seulement une activité fongistatique pour l'espèce (AV1) et un minimum de 100mg/ml d'extrait éthanolique de l'espèce (AV2) afin quelle soit fongicide.

D'après les tests de dosages déjà effectué on tire les conclusions suivantes :

-phlorotannins : d'après les résultats on note que l'espèce (AB2) possède la teneur la plus élevée par rapport aux autres espèces

-Flavonoïdes : on a aussi eu des teneurs assez élevées avec l'espèce (AB2) et; ce qui explique l'activité intense des cette algue vis à vis *Candida albican*, suivi par l'extrait (AB1), de même avec les composés phénoliques, des meilleures teneurs ont été obtenues avec les extraits éthanoliques de l'espèce (AB2) et l'espèce (AV2).

Nous avons constaté que l'extraits éthanolique de (AB2) a des teneurs plus élevées en flavonoïdes, phlorotannins, polyphénol totaux par rapport a (AB1); et le même raisonnement pour (AV2) par rapport a (AV1) respectivement.

Ses résultats expliquent la bonne activité de l'espèce pheophyte vis-à-vis de *Candida albicans*, avec une meilleure activité de (AB2) par rapport à l'espèce (AB1). Ses résultats exhibent de part et d'autre l'efficacité de l'(AV2) par rapport à l'(AV1) à l'inhibition de la croissance fongique des *Candida albicans*. Ce qui nous a amener à déduire, que les composés phénoliques influence positivement sur l'activité antifongiques des espèces algales.

## Conclusion

---

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antifongique, à l'égard de *Candida albicans*, ainsi qu'à l'évaluation du pouvoir antioxydant d'extraits de quatre algues marines de la cote de Béjaïa à savoir deux algues brunes (AB1, AB2), ainsi que deux algues vertes (AV1, AV2), obtenus par deux solvants d'extraction, l'éthanol et l'eau.

Les résultats des teneurs des extraits en polyphénols totaux ont montré que les extraits éthanoliques des espèces algales AV2 et AB2 en sont riche ( $83,793 \pm 0,511$  et  $79,217 \pm 2,043$  mg EAG/g de MS, respectivement) tandis que l'espèce (AB1) en est la plus pauvre ( $44,901 \pm 0,17$  mg EAG/g de MS). Par ailleurs les extraits aqueux des espèces (AB2), (AB2), ont montré les teneurs les plus élevées ( $88,85 \pm 15,33$  et  $83,793 \pm 0,17$  mgEAG/g de MS, respectivement).

Concernant les teneurs des extraits en phlorotannins, les extraits aqueux des espèces (AV1), (AV2) sont moins riches en ces composés ( $0,041 \pm 0,378$  et  $0,015 \pm 0,260$  mgEQ/g de MS) par contre l'extrait éthanolique de l'algue (AB2) à enregistré la teneur la plus élevée ( $0,748 \pm 0,487$  mgEQ/g de MS). Quant aux teneurs en flavonoïdes, il s'est avéré que les extraits éthanolique et aqueux de l'espèce (AB1) ont marqué les teneurs les plus élevées ( $4,8 \pm 0,196$  et  $4,513 \pm 0,027$  mgEQ/g de MS, respectivement).

Les extraits éthanoliques des algues brunes (AB1) et (AB2), ce sont montrés être plus riches en caroténoïdes avec ( $32,482 \pm 0,471$  et  $24,286 \pm 0,250$  mgE $\beta$  /mg en MS), tandis que l'espèce algale de l'extrait aqueux (AB1) à montré la plus faible valeurs ( $9,267 \pm 1,267$  mgEQ/g de MS).

L'évaluation de l'effet antifongique montre que la levure testée *Candida albicans* est sensible aux extraits éthanoliques des algues marines étudiées. En comparant la sensibilité du *Candida albicans*, on remarque que les algues brunes ont une bonne activité comparant aux espèces d'algues vertes. Cela se corrèle avec les différents dosages réalisés. 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 antifongique importante est notée pour l'espèce algale (AB2) qui est active à l'égard de la souche fongique testée. Les extraits aqueux se sont montrés sans activités vis-à-vis la souche fongique testée.

## Conclusion

---

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits, est réalisée par le piégeage du radical DPPH, à savoir le pouvoir réducteur. *L'espèce algale (AV1) de l'extrait éthanolique* s'est montrée plus performante avec des valeurs d'EC<sub>50</sub> de (80,70 ug/ml), par contre l'espèce algale (AV2) de l'extrait éthanolique présente la plus faible valeur d'EC<sub>50</sub> (3335,36). Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé une faible activité de l'extrait éthanolique d'(AV2) bien qu'elle soit riche en composés phénoliques par rapport l'extrait éthanolique de l'algue verte (AV1).

Il ressort de la présente étude que les algues marines étudiées peuvent être utilisées comme une bonne source naturelle d'agents antifongiques et antioxydants. Il serait donc nécessaire de:

- Procéder à une séparation et caractérisation de ces composés, afin de les tester séparément et identifier ceux, parmi eux qui sont actifs.
- Etudier d'autres activités, telles que l'activité antivirale, qui est très peu documentée.
- Réaliser des tests *in vivo* pour évaluer une éventuelle toxicité ou confirmer leur non toxicité
- Tester les activités des métabolites secondaires des algues marines sur d'autres souches fongiques.
- Utiliser d'autres techniques d'extraction et d'autres solvants avec différentes combinaisons, qui sont plus respectueuses de l'environnement et de la vie humaine.

### *Reference:*

#### A

ACHKAR, J., XIAN, M., ZHAO, H. and FROST, J. W. 'Biosynthesis of phloroglucinol', *J Am Chem Soc* (2005) , 127 , 5332–5333.

Alma, M. H., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M., & Hirata, T. (2003) . Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26, 1725–1729

Amić, D., Davidović-Amić, D., Besić, D., Trinajstić, N., Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croat. Chem. Acta.* (2003). 76, 55–61.

Andrea del Pilar Sánchez-Camargo., Lidia Montero Valérie Stiger-Pouvreau., Anaëlle Tanniou., Alejandro Cifuentes., Miguel Herrero., Elena Ibáñez . Considerations on the use of enzyme-assisted extraction in combination with pressurized liquids to recover bioactive compounds from algae. *Current Medicinal Chemistry.* (2016).

Ann-Sophie Burlot, Valorisation des métabolites d'algues proliférantes par voie enzymatique : applications dans les domaines de la nutrition et santé animale, végétale et humaine, de la cosmétique et de l'environnement., 2016, these de doctorat en biologie marine, <http://www.theses.fr/2016LORIS428>.

ARASAKI, S. and ARASAKI, T. *Vegetables from the Sea* . Tokyo: Japan Publ. Inc. (1983).

Arora A, Nair MG, Strasburg GM., structure-activity relationships for antioxidant activities of series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biol Med.* 1998. ;24:1355-1363.

#### B

B. Tramelli, L., De Faveri, D.M., Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering.*, (2007)., 81, 200-208.

BAJPAI, V., RAHMAN, A., DUNG, N., HUH, M. and KANG, S. (2008) ' *In vitro* inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora* Desr.' , *J. Food Sci.* , 73 , M314-M320

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

## REFERENCE

---

Boisvert C., Beaulieu L., Bonnet C., Pelletier É. Assessment of the Antioxidant and Antibacterial Activities of Three Species of Edible Seaweeds. *J. Food Biochem.* (2015);39:377–387.

Burtin, P. (2003). Nutritional values of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2, 498–503

Bruno de reviers , tome 2 , biologie et phylogenie des algues ; Edition berlin, 2003 ISSN ; 1558-3762.

### C

Cacace, J. E., & Mazza, G. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science.*, (2003). 68(1), 240-248. Retrieved from ., <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14146.x>.

CHERNOMORSKY, S., SEGELMAN, A. and PORETZ, R. D. (1999). Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth . *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis* . 19 (5), 313–322 .

Cox S., Abu-Ghannam N. and Gupta S. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. (2010). *International Food Research Journal*, 17: 205-220.

CRAIG, W. J. (1997) *Phytochemicals: guardians of our health* . *J. Am. Diet Assoc.* , 97 (2): S199–204

### D

DAVIDSON, P. M. and NAIDU, A. S. (2000) ‘Phyto-phenol: phyto-antimicrobial’, in Naidu, AS, *Nat. food antimicrobial systems* , Boca Raton, USA , CRC press LLC , 265–294

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

### E

Eklund, P. C., Langvik, O. K., Warna, J. P., Salmi, T. O., Willfor, S. M., & Sjöholm, R. E.(2005). Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. *Organic and Bimolecular Chemistry*, 21, 3336–3347

## REFERENCE

---

El wahid,M., B.El Amraoui., M. El Amraoui., T.Bamhaoud. screening of antimicrobial activity of macroalgae extract from the Moroccan Atlantic coast. (2015), *Ann Pharm Fr*, 12.005., <http://dx.doi.org/10.1016/J.pharma.2014>

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

Everette. Jace D, Bryant. Quinton M, Green, Ashlee M, Walker, Richard B. thorough study of reactivity of various compound classes toward the cham.,(2010).58(14): 8139-44

### F

FAIRHEAD, V. A., AMSLER, C. D. and MCCLINTOCK, J. B. (2006) 'Lack of defense or phlo-rotannin induction by UV radiation or mesograzers in *Desmarestia anceps* and *D. menziesii* (Phaeophyceae)', *J Phycol* , 42 , 1174–1183.

FISCH, K. M.; B Ö HM, V.; WRIGHT, A. D. and K Ö NIG, G. M. (2003) Antioxidative meroterpe-noids from the brown alga *Cystoseira crinita* . *J. Nat. Prod.* , 66 : 968–75 .

### I

Ikawa M., Schafer T., Dollard C, Sasner J., Utilisation of Folin-Ciocalteu reagent for the detection of certain nitrogen compounds.*J. agric.*(2003) , *Food Chem.*51:1811-1815

Izabela Michalak and Katarzyna chojnacka., Algal extracts: Technology and advances.,(2014). [www.elsjournal.com](http://www.elsjournal.com) .

### G

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

Ghannoum MA, Rice LB (1999) Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* 12: 501–517. Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.

Gilbert-L'opez, B., Barranco, A., Herrero, M., Cifuentes, A. & Ib' añez, E., Development of new green processes for the recovery of bioactives from *Phaeodactylum tricornutum*. (2016), *Food Research International* , doi: 10.1016/j.foodres.2016.04.022.

Gonzalez del Val A, Platas G, Basilio A, Cabello A, Gorrochategui J, Suay I, Vicente F, Portillo E, Jiménez del Rio M, Reina G G & Pelaez F.(2001).Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Island, Spain).*International Microbial*, 4: 35-40.

## REFERENCE

---

GREEN, R. J. (2004) 'Antioxidant activity of peanut plant tissues', Master's Thesis, North Carolina State University . USA.

Green, P., Wickens, G.,. The *Olea europaea* complex. The Davis and Hedge Festschrift: plant taxonomy, phytogeography and related subjects. Edinburgh, University Press., (1989).

### H

Hector RF (1993) Compounds active against cell walls of medically important fungi. Clin Microbiol Rev 6: 1–21.

HEMMI, A., MAKINEN, A. and JORMALAINEN, V. Responses of growth and phlorotannins in *Fucus vesiculosus* to nutrient enrichment and herbivory', Aquatic ,(2005)Ecol ,39 , 201–211.

HOLDT, S. L. and KRAAN, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed; functional food applications and legislation . Journal of Applied Phycology . 23 , 543–597

Huang, J., Liu, Y. and Wang, X. 2008. Selective adsorption of tannin from flavonoids by organically attapulgite clay. Journal of Hazardous Materials, 160: 382-387.

Kanno S., Tomizawa A., Hiura T., Osanai Y., Shouji A., Ujibe M., Ohtake T., Kimura K. & Ishikawa M. (2005) Inhibitory effects of naringenin on tumor growth in human cancer cell lines and sarcoma S-180-implanted mice. Biol & Pharm Bull 28, 527-530.

### K

KANG, H. S.; CHUNG, H. Y.; KIM, J. Y.; SON, B. W.; JUNG, H. A. and CHOI, J. S. (2004) Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation . Arch. Pharm. Res. , 27 (2): 194–198

Karioti, A., Hadjipavlou-Litina, D., Mensah, M. L., Fleischer, T. C., & Skaltsa, H. (2004). Composition and antioxidant activity of the essential oils of *Xylopiya aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) leaves, stem bark, root bark, and fresh and dried fruits, growing in Ghana. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 8094–8098.

Karrer, P. et E, Jucker. Carotenoide. 1950. Elsevier, N. 384P

KHAN, M. N. A., CHO, J. Y., LEE, M. C., KANG, J. Y., PARK, N. G., FUJII, H. et al. (2007). Isolation of two anti-inflammatory and one pro-inflammatory polyunsaturated fatty acids from the brown seaweed *Undaria pinnatifida* . Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55 (17), 6984–6988



## REFERENCE

---

Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., Aromaa, A., 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 560–568.

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.

### L

LI, Y. X., LI, Y., QIAN, Z. J., RYU, B. and KIM, S. K. (2011) ‘Suppression of vascular endo-thelial growth factor (VEGF) induced angiogenic responses by fucodiphloroethol G’, *Process Biochem* , 46 , 1095–1103.

LIN, H-C.; TSAI, W-S. and CHIU, T-H. (2012) Antioxidant properties of seven cultivated and natural edible seaweed extracts from Taiwan . *J. Aquat. Food Prod. Technol.* ,21 : 248–26.

LOBBAN, C. S. and HARRISON, P. J. (1994). *Seaweed Ecology and Physiology* . Cambridge University Press . pp. 1–384

LÜNING, K. *Seaweeds. Their environment, biogeography and ecophysiology* . (1990). Eds. C. YARISH and H. KIRKMAN. New York: John Wiley & Sons, Inc. 527 pp.

### M

Machado D.I., López-Hernández J., Paseiro-Losada P. & López-Cervantes J., An HPLC method for the quantification of sterols in edible seaweeds. *Biomedical Chromatography*. (2004). 18: 183-190

Maschek J.A. and Baker B.J. (2008). The chemistry of algal secondary metabolism In *Algal chemical ecology*. Ed. Birmingham. USA, P: 322.

Mayne, S.T., Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. 1996. *FASEB J.* 10, 690–701. Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H., Gotoh, N., 1995. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1322S–1326S

Mickael.D Guiry, (2012) How many species of algae are there ?

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology* 26 (2): 211-219.

### N

NAMIKI, M. (1990) Antioxidants/antimutagenics in foods . CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. , 29 : 273-300.

### O

Özcelik et al., 2003 B. Özcelik, J.H. Lee, D.B. Min Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants Journal of Food Sciences, 68 (2003), p. 487.

Ourisson, G. Y, Nakatani. T. Lazrak. A. Million. G.Wolf. Y.Diyizou. A.Genevois. B.Chappe. et H.Musikas. Membrane properties of carotenoids. 1987.. In: a phylogenetic hypothesis. Carotenoids Boston. P. 28.

### P

P. Singh and J. Sidana ., Phlorotannins. ( 2013), National Institute of Pharmaceutical Education and Research (NIPER), India. In : Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals. Woodhead Publishing Limited,. DOI : 10.1533/9780857098689.1.181

PARYS, S., KEHRAUS, S. and PETE, R. (2009) ‘Seasonal variation of polyphenolics in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae)’, Eur J Phycol , 44 , 331–338.

Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., Núñez, M.J., Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry.,(2005). 53, 2111- 2117

### R

RAJAURIA, G., JAISWAL, A. K., ABU-GHANNAM, N. and GUPTA, S. (2013) ‘Antimicrobial, antioxidant and free radical-scavenging capacity of brown seaweed *Himanthalia elongata* from western coast of Ireland’ , J. Food Biochem. , 37, 322–335.

RASMUSSEN, R. S. and MORRISSEY, M. T. (2007). Marine biotechnology for production of food ingredients. In: Advances in Food and Nutrition Research , Ed. S. L. Taylor. Boston, MA: Academic Press. pp. Elsevier , 237–292.

RICCI D., FRATERNAL D., GIAMPERI L., BUCCHINI A., EPIFANO F., BURINI G., CURINI M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae) Journal of Ethnopharmacology., (2005)., 98 : 195-200.

## REFERENCE

---

ROLEDA, M. Y., CLAYTON, M. N. and WIENCKE, C. (2006a) 'Screening capacity of UV absorbing compounds in spores of Arctic Laminariales', *J Exp Marine Biol Ecol* , 338 , 123–133.

### S

Santoyo, S., Rodriguez-Meizoso, I., Cifuentes, A., Jaime, L., García-Blairsy Reina, G., Señoráns, F. J., Ibáñez, E., Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT — Food Sci. Technol.* 2009, 42, 1213–1218.

SEKAR, S. and CHANDRAMOHAN, M. (2008). Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization . *Journal of Applied Phycology* . 20 (2), 113–136 .

Shon, M. Y., Kim, T. H. and Sung, N. J. 2003. Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry* 82: 593-597.

Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering.*, (2007). 81, 200-208

Stern JL<sup>1</sup>, Hagerman AE, Steinberg PD, Winter FC, Estes JA. A new assay for quantifying brown algal phlorotannins and comparisons to previous methods. 1996. *J Chem Ecol.* 1273-93. doi: 10.1007/BF02266965

### T

Tierney, M. S., Smyth, T. J., Hayes, M., Soler-Vila, A., Croft, A. K., Brunton, N., Influence of pressurised liquid extraction and solid liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of Irish macroalgae. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, 48, 860–869.

### V

Vermerris, Wilfred. Et Nicholson, Ralph. phenolic compound biochemistry. 2006. *Appach Fop.* P 1-34

### W

WANG, T., JONSDOTTIR, R., KRISTINSSON, H. G., THORKELSSON, G., JACOBSEN, C., HAMAGUCHI, P. Y. and OLAFSDOTTIR, G. (2010) 'Inhibition of haemoglobin-mediated lipid oxidation in washed cod muscle and cod protein isolates by *Fucus vesiculosus* extract and fractions', *Food Chem* , 123 , 321–330.

## REFERENCE

---

Waterman, P. G. and Mole, S. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. In: Methods in Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

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

YILMAZ Y., TOLEDO R. T., Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, ( 2006)., 19: 41-48.

# ANNEXES

---

**ANNEXE 02** : composition chimique des milieux de culture utilisée selon (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 Mueller Hinton**

- Extrait 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

# ANNEXES

---

- Agar 15 g
- pH 7

## ANNEXE 01: Matériels et produits utilisés

### Appareillage

- Autoclave.
- Bain-marie .
- Balance de précision.
- Centrifugeuse .
- Etuve.
- pH mètre.
- Spectrophotomètre UV-visible.
- Tamiseur RETCH.
- Vortex.

### Produits chimiques

- Acide acétique.
- Acide chlorhydrique (HCl).
- Acide gallique.
- Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).
- Catéchine.
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ).
- Chlorure de sodium (NaCl).
- 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).
- Folin-Ciocalteu.

## ***Résumé***

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les activités antioxydante et antifongique des métabolites secondaires à savoir les composés phénoliques et les pigments extraits à partir de quatre espèces algales marines, deux espèces d'algues brunes (AB1, AB2), et deux espèces d'algues vertes (AV1, AV2) de la côte de Bejaia en utilisant deux solvants (éthanol aqueux et eau pure). Les teneurs les plus élevées en composés phénoliques totaux sont obtenues par les extraits aqueux des espèces algales brunes avec  $83,793 \pm 0,17$  à  $88,85 \pm 1,533$  mg EAG/g. Les teneurs en flavonoïdes des espèces algales étaient presque similaires pour les deux extraits éthanolique et aqueux. Les caroténoïdes on a obtenus des résultats inattendus avec des fortes teneurs pour les extraits aqueux allant jusqu'à  $32,482 \pm 0,471$  mg E $\beta$ C/ g au contraire des extraits éthanoliques qui varient entre  $9,267 \pm 1,636$  à  $22,267 \pm 2,163$  mg E $\beta$ C/ g. Les 'extraits éthanoliques des espèces d'algues brunes AB1 et AB2 ont présentées des teneurs importantes en phlorotannins avec  $0,748$  à  $0,225$  mg EPG/g et de  $0,245$  à  $0,347$  mgEPG/g . Les testes d'activité antioxydante des extraits éthanoliques ont montré que l'extrait le plus actif est l'extrait ethanolique de l'algue verte AV2, en revanche aucune activité n'ai observé avec les extraits des espèces AV1 et AB1. Les extraits éthanoliques des algues brunes AB2, et AB1 ce sont avéré avoir une activité fongicides vis à vis de candida albicans, tandis que les extraits éthanoliques des algues vertes ont montré une activité fongistatiques.



SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE





RÉSULTATS


ET DISCUSSION



# INTRODUCTION



# CONCLUSION



**MATÉRIEL**  
**ET MÉTHODES**