

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques
Département de Biochimie et de Microbiologie

Mémoire de fin d'études :

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

Sarah BERKANI

Thème :

**Evaluation de l'activité
antibactérienne de l'algue brune
*Cystoseira sp***

Présenté devant le jury :

Président : Mr. SEBBANE Hillal, Maître de conférences classe B.

Examineur : Mr. MSELA Amine, Maître de conférences classe B.

Promoteur : Professeur HOUALI Karim.

Co-promotrice : Mme. OUSMER Lila.

Promotion : 2020/ 2021

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience pour la réalisation de ce travail

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance au **Professeur HOUALI K.** pour avoir accepté de m'encadrer et me diriger avec une grande rigueur scientifique qui m'a donné beaucoup de son temps et de ses connaissances.

Je tiens aussi à remercier infiniment **Mme OUSMER L.** d'être ma co-promotrice pendant ce travail. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à **Mr SEBBANE H.** qui a accepté de présider le jury.

Je remercie aussi **Mr MSELA A.** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens vivement à présenter mes sincères remerciements à **Mr TITOUCHE Y.** et **Mme DERMECHE S.** pour leur soutien, leur aide permanent et pour leurs conseils scientifiques durant mon parcours de recherche.

Je tiens à remercier tout le personnel du laboratoire, tous mes enseignants et toute personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicaces

Ce modeste travail est le fruit de mes efforts et mes sacrifices pendant mon parcours universitaire. Je le dédie à ...

A l'âme de mon père, Slimane, qui a sacrifié les plus belles années de sa vie pour nous voir réussir, à ma mère pour tous ses sacrifices, sa tendresse, son soutien et ses prières tout au long de mes études,

J'espère que mon travail sera le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond.

A mes sœurs et mes frères pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes nièces Célyne et Lily, à mes neveux Nidal et Axyle,

A mes amies Amira, Zakia et Tinhinane,

A mes collègues de la promotion et de laboratoire

A mes enseignants

A toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Abstract

Algae are increasingly becoming the focus of researchers for their composition of various important bioactive molecules.

The aim of this present work is the comparative study of the antimicrobial activity and the biochemical composition of the various extracts of the brown alga *Cystoseira sp* collected on the Algerian coasts.

The extraction is carried out by the method of maceration in three different solvents: water, ethanol and a mixture of these two (v-v). All three extracts are evaluated for their PPT and flavonoid content. The antibacterial activity was determined by the agar diffusion method on five bacterial strains: two Gram negative (*Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922) and three Gram positive (*Enterococcus faecalis* WDCM 0009, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus cereus* ATCC 14579).

The best yield of the crude extracts was obtained by the aqueous extraction (9.2%), followed by the extraction carried out with the water-ethanol mixture (7.6%), and finally, the ethanolic extraction which gave the lowest yield (3.1%).

The results of the biochemical assays show that the best contents of PPT (57.66 ± 1.15 mg eqA.G / g DM) and Flavonoids (20.5 ± 0.5 mg eq.Q / g DM) are noted for the extract obtained by the mixture of water-ethanol solvents. The lowest contents are obtained by ethanolic extraction with 32.58 ± 1.58 mg eqA.G / g DM for the PPT and 14.33 ± 0.28 mg eq Q / g DM for the Flavonoids.

Regarding the results of the antibacterial activity, only the water-ethanol extract shows an inhibitory activity against two of the three gram-positive bacterial strains (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922) with zones of inhibition of a diameter 9.5 ± 0.5 mm and 9 ± 0.5 mm respectively. The other strains were not sensitive to the extracts.

Key words: *Cystoseira sp.*, Aqueous extracts, ethanolic extracts, polyphenols, flavonoids, antibacterial activity.

Résumé

Les algues deviennent de plus en plus le centre d'intérêt des chercheurs pour leur composition en différentes molécules bioactives importantes.

Le but de ce présent travail est l'étude comparative de l'activité antimicrobienne et de la composition biochimique des différents extraits de l'algue brune *Cystoseira sp* collectée des côtes Algériennes.

L'extraction est réalisée par la méthode de macération dans trois solvants différents : Eau, éthanol et un mélange de ces deux (v-v). Les trois extraits sont évalués pour leurs teneurs en PPT et en flavonoïdes. L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose sur cinq souches bactérienne : deux gram négatif (*Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922) et trois gram positif (*Entérocooccus faecalis* WDCM 0009, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 14579).

Le meilleur rendement des extraits brute a été obtenu par l'extraction aqueuse (9,2 %), suivi par l'extraction effectuée avec le mélange eau-éthanol (7,6 %), et enfin, l'extraction éthanolique qui a donné le plus faible rendement (3,1 %).

Les résultats des dosages biochimiques montrent que les meilleures teneurs en PPT ($57,66 \pm 1,15$ mg eqA.G/gM.S) et en Flavonoïdes ($20,5 \pm 0,5$ mg eq.Q/g MS) sont notées pour l'extrait obtenu par le mélange de solvants eau-éthanol. Les plus faibles teneurs sont obtenues par l'extraction éthanolique avec $32,58 \pm 1,58$ mg eqA.G/gM.S pour les PPT et $14,33 \pm 0,28$ mg eq Q/g MS pour les Flavonoïdes.

Concernant les résultats de l'activité antibactérienne, seul l'extrait eau-éthanol présente une activité inhibitrice vis-à-vis de deux sur les trois souches bactériennes à gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922) avec des zones d'inhibition d'un diamètre de $9,5 \pm 0,5$ mm et $9 \pm 0,5$ mm respectivement. Les autres souches n'étaient pas sensibles aux extraits.

Mots clés : *Cystoseira sp.*, extraction aqueuse, extraction éthanolique, polyphénols, flavonoïdes, activité antibactérienne.

Table des matières

- i. Liste des figures
- ii. Liste des tableaux
- iii. Liste des abréviations
- iv. Abstract
- v. Résumé
- vi. Introduction

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES ALGUES MARINES

1.1	Définition des algues	1
1.2	Habitat et écologie	1
1.3	Classification des macro-algues	2
1.3.1	Classification selon la pigmentation	2
1.3.1.1	Les algues rouges	2
1.3.1.2	Les algues vertes	3
1.3.1.3	Les algues brunes	3
1.4	Reproduction des algues	5
1.4.1	Reproduction asexuée	5
1.4.2	Reproduction sexuée	5
1.5	Mode de nutrition des algues	6
1.6	Facteurs de répartition des algues	7
1.6.1	Facteurs physiques	7
1.6.1.1	Lumière	7
1.6.1.2	Température	7
1.6.1.3	Nature de substrat	8
1.6.2	Facteurs dynamiques	8
1.6.2.1	Vitesse du courant	8
1.6.2.2	Agitation de l'eau	8
1.6.3	Facteurs chimiques	9
1.6.3.1	PH	9
1.6.3.2	L'Oxygénation	9
1.6.3.3	Salinité de l'eau	9
1.6.3.4	Sels nutritifs	10

1.7	Rôle écologique	10
1.8	Production mondiale des algues	11

CHAPITRE II : LES COMPOSES PHENOLIQUES DES ALGUES MARINES

2.1	Les composés biochimiques des algues marines	14
2.2	Les métabolites primaires	14
2.2.1	Les polysaccharides	14
2.2.2	Les protéines	15
2.2.3	Les lipides	15
2.2.4	Les minéraux	16
2.3	Les métabolites secondaires	16
2.3.1	Les polyphénols	16
2.3.1.1	Classification des polyphénols	17
2.3.1.1.1	Les polyphénols simples	17
2.3.1.1.2	Les polyphénols C6-CN	17
	• Les acides phénoliques de type C6-C1	17
	• Les acides phénoliques de type C6-C2	18
	• Les polyphénols de types C6-C3	18
2.3.1.1.3	Les composés phénoliques C6-CN-C6	18
2.3.1.1.4	Les polyphénols complexes	19
2.3.1.1.4.1	Les tanins	19
a.	Tanins hydrolysables	19
b.	Tanins condensés	19
c.	Les phlorotannins	20
2.3.1.1.4.2	Les anthocyanes	20
2.3.1.1.4.3	Lignanes	20
2.3.1.1.4.5	Les flavonoïdes	21

CHAPITRE III : LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ALGUES MARINES

3	Activités biologiques des algues	27
3.1	Activités antioxydantes	27
3.2	Activités cytotoxiques	27
3.3	Activités antiallergiques et anti-inflammatoires	28
3.4	Activités antimicrobiennes	29
3.5	Activités antifongiques	29
3.6	Activités antiprolifératives et anticancéreuses	29

PARTIE EXPERIMENTALE

4.1	Matériel biologique	32
4.1.1	Présentation de l'espèce étudiée	32
4.1.2	Souches microbiennes utilisées	33
4.2	Milieux de culture et réactifs	34
4.2.1	Milieux de culture	34
4.2.2	Réactifs	34
4.2.3	Appareilles	34
4.2.4	Solvants	35
4.3	Méthodologie	35
4.3.1	Pré-traitement de l'échantillon	35
4.3.2	Préparation des extraits par macération	35
4.3.3	Dosage des polyphénols totaux	36
4.3.4	Dosage de Flavonoïdes	38
4.3.5	Etude de l'activité antibactérienne	40

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

5	Résultats et discussion	44
5.1	Rendement de l'extraction des polyphénols	44
5.2	Les dosages biochimiques	44
5.2.1	La teneur en composés phénoliques	44
5.2.2	Dosage des flavonoïdes	47
5.3	Antibiogramme	48
	Conclusion et perspectives	54
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55
	ANNEXES	68

Liste des figures

Figure 01: Macro algue <i>Macrocystis prolifera</i> (Karaka Bay, Wellington, New Zealand Date: 09 October 2008 Image Reference: 9258, Erasmo Macaya Horta).	1
Figure 2: Capture et transmission de l'énergie lumineuse par les pigments (par Ruiz, 2005)....	2
Figure 3: Structure des différentes chlorophylles (Par Ruiz, 2005).	3
Figure 4: Structure des Phycobilines (par Ruiz, 2005)	4
Figure 5: Structure des caroténoïdes (par Ruiz, 2005).....	4
Figure 6: Facteurs de répartition des algues.	7
Figure 7: Production mondiale des macro algues (par FAQ 2014).....	11
Figure 8: Répartition des domaines d'usages des macro-algues dans le monde.	12
Figure 9: Structure du noyau phénol.	17
Figure 10: Structure de l'acide hydroxybenzoïque	18
Figure 11: Structure de l'acide hydroxycinnamique.....	18
Figure 12: Structure d'un tannin condensé	20
Figure 13: Structure du phloroglucinol	20
Figure 14: Structure d'une lignane.	21
Figure 15: Structure du noyau flavane.	22
Figure 16: Hiérarchie du genre <i>Cytoseira</i> dans l'arbre du vivant	32
Figure 17: Organisation d'un thalle de cystoseire : exemple de l'espèce tophuleuse <i>Cytoseira nodicaulis</i>	33
Figure 18: Schéma représentant les étapes de l'extraction.	36
Figure 19: Schéma du protocole du dosage des Polyphénols	37
Figure 20: Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	38
Figure 21: Schéma représentant le protocole du dosage des Flavonoïdes.	39
Figure 22: Gamme d'étalonnage de la quercétine.....	39
Figure 23: Etapes de réalisation de l'antibiogramme	42
Figure 24: Courbe d'étalonnage des PPT	45
Figure 25: Courbe d'étalonnage de flavonoïdes	47
Figure 26: Effets des extraits sur les souches bactériennes.....	52
Figure 27: Préparation du milieu BHIB	69
Figure 28: Milieux gélosés préparés.	70
Figure 29: Souches bactériennes utilisées.	71

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents polysaccharides retrouvés chez les algues.	15
Tableau 2: Les différentes classes des flavonoïdes.	22
Tableau 3: Tableau représentant les souches bactériennes utilisées	33
Tableau 4: Les milieux de culture utilisés.	34
Tableau 5: Liste des réactifs utilisés.	34
Tableau 6: Liste des appareils utilisés.	34
Tableau 7: Liste des solvants utilisés.	35
Tableau 8: Caractéristiques et rendement des extraits.	44
Tableau 9: Teneurs des extraits en PPT.	45
Tableau 10: Teneur des extraits en flavonoïdes.	47
Tableau 11: Tableau représentant les résultat de l'activité antibactérienne des extrait vis-à-vis des souches utilisées.	48

Liste des abréviations

μl : microlitre

μm : Micromètre

1n : cellule a 1 exemplaire chromosomique

2n : cellule à 2 exemplaires chromosomiques

AAM : Acides aminés de type mycosporine

AG : Acide Gallique

AGP : arabinogalactane-protéines

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

BHI : Brain heart infusion

BHIB : Brain heart infusion broth

DMP : Diméthylpyrane

DMSO : Dimethylsulfoxyde

HHPD : Acidehexahydroxy-diphénique

M.S : Matière sèche

MH : Mueller Hinton

MLG = glucanes à liaisons mixtes

MS : Matière sèche

N : Azote (nitrogenium)

NH_4^+ : Ammonium

NO_3^- : Nitrates

P : Phosphate

PGG : β - 1,2,3,4,6- Pentagalloyl- O- D- Glucopyranose

PPT : Polyphénols Totaux

Q : Quercétine

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des millénaires, les algues ont été massivement utilisées par les populations littorales pour leur haute valeur nutritive. Aujourd'hui, les algues constituent un enjeu majeur de développement économique et d'applications scientifiques et ce grâce à plusieurs substances très bioactives retrouvées uniquement dans les algues. Parmi ces composés d'intérêt on note certains polysaccharides particuliers tels que les agars, les carraghénanes et les alginates. Ces derniers ont des propriétés physicochimiques stabilisantes ou gélifiantes qui intéressent de nombreux secteurs industriels. On note aussi les métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont d'un important intérêt médical et pharmaceutique pour les différentes bioactivités qu'ils possèdent, notamment leur activité antimicrobienne.

De nos jours, l'augmentation de la résistance des microorganismes aux médicaments et aux antibiotiques est une des contraintes majeures des industries pharmaceutiques, ceci revient à la capacité génétique des bactéries d'acquérir et de transmettre cette résistance. Pour faire face à ce problème, d'importantes recherches scientifiques sont consacrées pour la recherche des métabolites secondaires efficaces à partir de nouvelles matrices végétales.

Actuellement, on compte près de 200 000 espèces d'algues macro- et microscopiques, mais environ 17% seulement sont étudiés (Ruiz, 2005). Les algues brunes du genre *Cystoseira* *sp.*, sont très abondantes en mer méditerranéenne, 90% des espèces de cette famille vivent en zone méditerranéenne. (Pellegrini *et al.*, 1994).

Dans ce travail, on a effectué une étude de l'algue brune *Cystoseira* *sp.* collectée des côtes Algérienne. Des extractions brutes sont réalisées avec des différents solvant (eau, éthanol et un mélange des deux solvants), suivis d'une étude comparative des compositions en métabolites secondaires (PPT et flavonoïdes) entre les extrait, et en fin, leur activité antibactérienne est testée sur des souches bactériennes Gram négatif et Gram positif.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES ALGUES MARINES

1.1 Définition des algues :

Les algues sont des organismes photosynthétiques chlorophylliens dépourvues de racines, de tiges, de feuilles et de tissus conducteurs mais qui ont par contre un appareil végétatif appelé le « Thalle ». Elles appartiennent au groupe des cryptogames (Roland et *al.*, 1999 ; Guillaume, 2010).

Ce thalle est relativement simple mais très diversifié. Sa forme peut être simple ou avec des structures plus complexes et pouvant avoir de divers types de ramifications avec une texture souvent gélifiée mais aussi cartilagineuse ou spongieuse. Certaines espèces ont un thalle très rigide (accumulation de carbonate de calcium) ou même presque entièrement calcifiés. Il peut avoir des tailles variées allant de l'ordre microscopique pour les micro-algues (myrionématacées) jusqu'à des dizaines de mètres de longs pour certaines macro-algues (*Macrocystis sp* 60m) (**Fig 01**) (Garon-Lardiere, 2004 ; Leclerc, 2010).

Avec ces différentes caractéristiques et diversifications, Il est difficile de déterminer le vrai nombre d'espèces. Récemment, mais avec de grandes incertitudes, le nombre d'espèces recensées était de 30 000 (Leclerc et Floc'h, 2010).



Figure 01: Macro algue *Macrocystis prolifera* (Karaka Bay, Wellington, New Zealand Date: 09 October 2008 Image Reference: 9258, Erasmo Macaya Horta).

1.2 Habitat et écologie :

Les algues vivent majoritairement dans les mers et les océans mais elles se trouvent aussi dans les continents où elles colonisent les lacs, les rivières, les étangs et les mares. Certaines espèces sont thermophiles et retrouvées dans les sources thermales à température élevée, certaines, au contraire, sont retrouvées dans les eaux glacées des régions polaires (Ramade, 2009 ; Leclerc et Floc'h, 2010).

Dans les côtes rocheuses, les macro-algues sont fixées, par des crampons robustes, sur les roches ou les galets jusqu'à une profondeur de 50 à 75m. Ces algues sont rares dans les profondeurs au-delà de 30m en raison d'absence de la lumière sauf dans le cas où une partie du cycle de vie de l'algue comporte une partie non photosynthétique. Les macro-algues sont donc limitées aux marges littorales n'excédant pas 100 m de profondeur (Person, 2010).

1.3 Classification des macro-algues :

La classification des algues marines est basée sur plusieurs critères écologiques, biochimiques ou physiologiques qui interviennent dans leur phylogénie comme la composition polysaccharidique, la nature et la localisation des pigments chlorophylles et caroténoïdes, mode de nutrition et même habitat, les algues sont ainsi classées en une dizaine d'embranchements (De Revier, 2003). Mais malgré leur extrême diversité, elles n'appartiennent pas toutes à une même voie d'évolution mais à des groupes phylogénétiques très différents (Cabioc, 1992).

1.3.1 Classification selon la pigmentation :

La classification selon les pigments a été, dès le 19^{ième} siècle, un critère important dans la classification des algues. Ce sont des molécules qui se retrouvent dans les plastes, dont le rôle physiologique est de capter l'énergie lumineuse (**Fig 02**). Selon la nature des pigments surnuméraires associés à la chlorophylle, les plastes sont parfois verts, rouges ou bruns (respectivement Chlorophycées, Rhodophycées ou Phéophycées) (Ruiz, 2005).

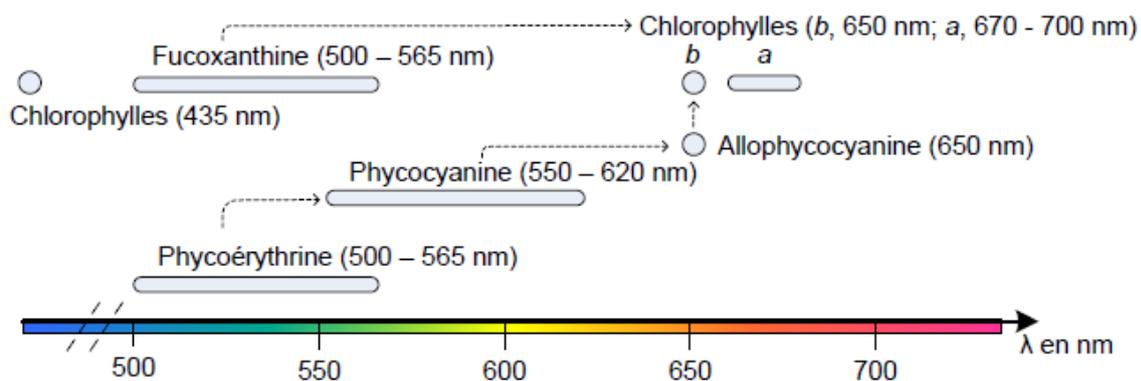


Figure 2: Capture et transmission de l'énergie lumineuse par les pigments (par Ruiz, 2005)

1.3.1.1 Les algues rouges :

Elles sont sans flagelles et contiennent de l'amidon floridéen (Rhodamylon) comme réserve énergétique et utilisent la chlorophylle A (**Fig 03**) et des pigments surnuméraires qui sont la phycoérythrine et la phycocyanine liée de façon covalente à des chromophores ou

bilines. (**Fig 04**). Selon Person, (2010) ; Guiry, (2013) et Collèn et al, (2014) environ 6 000 espèces d'algues rouges ont été décrites.

1.3.1.2 Les algues vertes :

Ce sont des algues dont les plastes sont colorés en vert par les chlorophylles A et B (**Fig 03**) parfois associées à des xanthophylles et des caroténoïdes (**Fig 05**). Le résultat de leur photosynthèse est l'amidon comme chez les plants supérieurs. Elles sont présentes majoritairement dans les milieux marins et les eaux douces et contribuent fortement à l'oxygénation des eaux. Environ 1200 espèces ont été décrites (Garon-Lardiere, 2004 ; Person, 2010 ; Laplace-Treyture, 2014)

1.3.1.3 Les algues brunes :

Nommées aussi phéophycées, elles sont de couleur jaune ou brune grâce à l'abondance de la xanthophylle et de la fucoxantine qui dominent les chlorophylles A et D (**Fig 03**) et les caroténoïdes (beta-caroténoïdes) qu'elles possèdent (**Fig 05**). On compte 2000 espèces mais c'est le groupe d'algues le plus abondant, elles sont retrouvées souvent dans les côtes rocheuses à faible profondeur. Ces algues brunes sont riches en alginates, en phlorotannins, en fucanes (polysaccharides sulfatés), et en plusieurs autres molécules exploitables (Mabeau and Kloareg 1987 ; Garon-Lardiere S. 2004 ; Person, 2010 ; Wijesinghe W.A.J.P. 2011 ; Bunker et al., 2017)

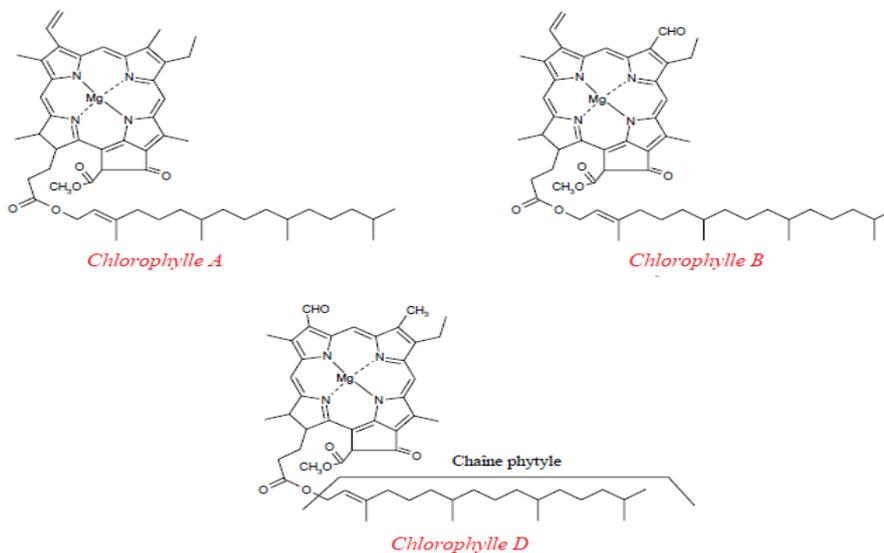


Figure 3: Structure des différentes chlorophylles (Par Ruiz, 2005).

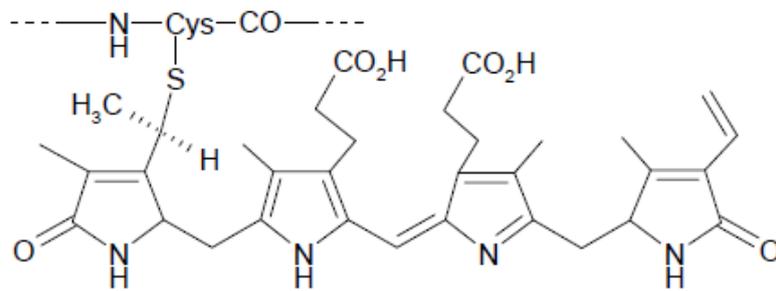
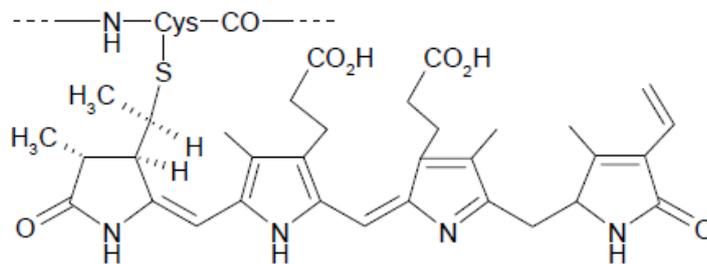
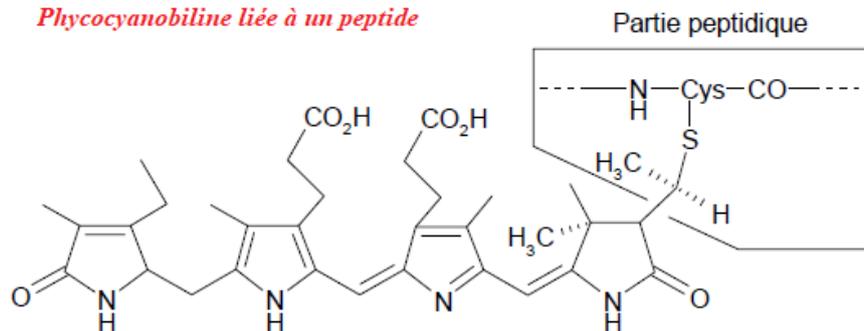
Phycounrobiline liée à un peptide*Phycoérythrobiline liée à un peptide**Phycocyanobiline liée à un peptide*

Figure 4: Structure des Phycobilines (par Ruiz, 2005)

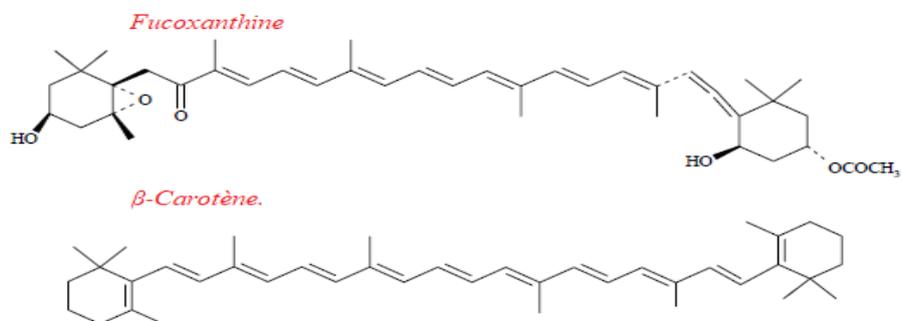


Figure 5: Structure des caroténoïdes (par Ruiz, 2005)

1.4 Reproduction des algues :

Il existe trois modalités de reproduction chez les algues, la reproduction asexuée par division végétative, la reproduction sexuée par les cellules reproductrices de gamètes ou une combinaison de ces dernières (Garon-Lardiere,2004).

1.4.1 Reproduction asexuée :

Peut se faire par division végétative ou par des cellules ou organes spécialisés qui germent pour donner de nouveaux individus.

- **Par divisions :**

- Division cellulaire par scission (scissiparité) chez les procaryotes et par mitose chez les eucaryotes, le résultat est des cellules filles identiques à la cellule mère.

- Simple fragmentation du thalle.

- **Par cellules ou organes spécialisés :**

- Les akinètes retrouvés chez certaines Cyanobactéries et Chlorophycées (*Oedogonium*, *Cladophara*).

- Les spores.

- Les bulbilles (*Nitellopsis*) (Laplace-Treyture et al, 2014).

1.4.2 Reproduction sexuée :

Elle n'existe que chez les algues eucaryotes, caractérisée par la fusion (gamie) de deux cellules spécialisées haploïdes à n (gamètes) mâle et femelle pour se féconder et donner un zygote diploïde à $2n$ qui donne, après germination, un nouvel individu. Dans les conditions défavorables ce zygote rentre en phase de vie ralentie : il accumule des ressources nécessaires pour rester en vie et s'entoure d'une coque épaisse pour sa protection.

Il existe plusieurs types de reproduction sexuées qui diffèrent selon plusieurs paramètres :

- L'aplanogamie : Fusion de deux gamètes immobiles et obtention d'une grosse oosphère capable de capter une spermatie (gamète mâle inerte).
- La planogamie : c'est lorsque les deux gamètes sont mobiles.

- L'oogamie : est lorsqu'une grosse oosphère immobile (gamète femelle) contenue dans un oocyste se réunit avec un spermatozoïde de taille relativement petite produit par un spermatocyste (*Vaucheria*, *Oedogonium*)
- L'isogamie : Lorsque les gamètes sont de structure identique (*Ulothrix zonata*).
- L'anisogamie : Lorsque les gamètes sont de structure différente (*Ulva*).

La cystogamie des zygnématales caractérise la conjugaison des gamètes dépourvues de flagelles. Le gamète mâle est donc véhiculé dans un siphon ou tube de conjugaison jusqu'au gamète femelle (*Spirogyra*).

Certaines algues rouges se reproduisent par trychogamie où l'oosphère capte la spermatie par un prolongement spécial appelé le trychogyne (*Batrachospermum*) (Laplace-Treyture, 2014).

1.5 Mode de nutrition des algues :

Les algues sont photosynthétiques, elles captent l'énergie solaire et la transforment en énergie chimique grâce aux pigments chlorophylliens (chlorophylle a) située au niveau des plastes chez les eucaryotes ou dans l'hyaloplasme chez les procaryotes. L'énergie chimique obtenue est utilisée pour élaborer des composés organiques carbonés à partir des composés minéraux retrouvés dans le milieu. Et de l'oxygène est dégagé suite à cette opération (Laplace-Treyture, 2014).

Ainsi, les algues sont généralement autotrophes mais il existe quelques espèces exceptionnelles. Certaines espèces sont incapables d'élaborer des facteurs de croissance ou des vitamines qu'elles ont besoin, elles sont donc auxotrophes. D'autres espèces sont hétérotrophes en absence de lumière, elles utilisent des molécules organiques simples qu'elles retrouvent dans l'environnement comme les glucides, les acétates et les pyruvates (Davet, 1996).

1.6 Facteurs de répartition des algues :

La répartition des algues marines dépend de plusieurs facteurs, résumés dans la figure qui suit (**Fig 6**) :

Facteurs physiques	Facteurs dynamiques	Facteurs chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Lumière • Température • Nature du substrat 	<ul style="list-style-type: none"> • Vitesse du courant • Agitation de l'eau 	<ul style="list-style-type: none"> • PH • Oxygénation • Salinité de l'eau • Sels nutritifs

Figure 6: Facteurs de répartition des algues.

1.6.1 Facteurs physiques :

1.6.1.1 Lumière :

Pour se développer, les algues exigent une quantité de lumière suffisante aux besoins de leurs assimilations chlorophylliennes. La quantité et la qualité de lumière captées par les algues sont influencées par l'épaisseur de l'eau qui agit comme un filtre pour les longueurs d'ondes mais aussi par la photopériode et surtout par l'intensité de la lumière (Luning et Neushul, 1978 ; Coelho et *al*, 2001)

Les radiations du rayonnement solaire sont absorbées et transformées en chlorophylle ainsi : les algues vertes possèdent de la chlorophylle donc elles absorbent les radiations rouges et jaunes en premier lieu, et ensuite les algues brunes et rouges possédant les caroténoïdes et les phycobilines (pigments surnuméraires) respectivement absorbent le bleu et le vert (Lobban et Harrisson, 1994).

1.6.1.2 Température :

Les algues sont très sensibles aux changements climatiques et aux variations de température. C'est un facteur écologique qui permet de déterminer la succession des peuplements ou l'étude des pics de développement des espèces (Laplace-Treytore, 2014).

Ce paramètre favorise la germination ou la reprise de l'activité végétative en activant plusieurs enzymes sensibles à la chaleur qui sont nécessaires pour la photosynthèse, la respiration et à la croissance des algues (De Franco, 2009).

1.6.1.3 Nature de substrat :

La nature physique du substrat est très importante pour les algues qui s'y attachent par leurs crampons (Naegele et Naegele, 1961).

La durée de vie des algues fixées est beaucoup plus élevée que celle des algues libres, les algues favorisent alors les biotopes rocheux : les roches rugueuses tels que le granite, le gneiss et le grès grossier sont plus favorables que les surfaces lisses qui se délitent facilement par la mer comme le quartzite et le calcaire. Les fonds sablonneux ou vaseux sont aussi peu favorables (Zellal, 2012).

Il existe des petites espèces d'algues qui se fixent en épiphyte sur d'autres algues plus grandes ou sur les zostères en créant des phanérogames marines (Augier et Boudouresque, 1971).

1.6.2 Facteurs dynamiques :

1.6.2.1 Vitesse du courant :

La vitesse du courant agit mécaniquement sur la forme des filaments et la densité des masses algales (thalle lâche des *Vaucheria*). Certaines formes entrent en dérive sous l'action du courant (*Spirogyra*, *Hydrodictyon*), d'autres sont largement inféodées aux forts courants (*Lemania*). Il existe des espèces qui préfèrent les eaux à courant de faible vitesse, mais ces courants favorisent le développement des végétations errantes ce qui restreint le développement de ces algues comme les characées (Laplace-Treyture, 2014).

1.6.2.2 Agitation de l'eau :

Les agitations de l'eau diffèrent selon la conformation des côtes, on distingue trois modes : mode battu, semi battu et calme, qui représentent respectivement les agitations sur les caps rocheux exposés, au pieds des falaises et calmes au fond des baies abritées. Certaines espèces ont besoin d'une eau battue très oxygénée par les courants et les vagues pour survivre, tandis que d'autres, qui ont un thalle long ou fragile, sont facilement arrachées et déchiquetées du support par les vagues fortes (Zellal, 2012).

1.6.3 Facteurs chimiques :

1.6.3.1 PH :

Le pH de l'eau de mer (environ 8,2) est principalement fixé par les carbonates (CO_2 - HCO_3^- - CO_3^{2-}). Ce pH peut être modifié par les changements des concentrations des carbonates en CO_2 due aux métabolismes des espèces marines comme la respiration, la photosynthèse et les échanges air-océan ou en CO_3^{2-} due à la précipitation. Parfois, la pollution est aussi responsable du changement du pH, et ce par les apports d'eaux continentales ou les rejets industriels (Aminot et Chaussepied, 1983).

1.6.3.2 L'Oxygénation :

L'oxygène moléculaire dissous est un des paramètres et les plus importants qui gouverne les processus biologiques des écosystèmes aquatiques y compris les algues. La concentration en oxygène (O_2) dissous dépend de plusieurs facteurs chimiques, physiques, et biologiques (Aminot et Chaussepied, 1983). Ces Paramètres sont :

- L'utilisation dans les réactions d'oxydation chimique.
- L'échange à l'interface air-océan.
- La diffusion et mélange au sein de la masse d'eau.
- L'utilisation dans les phénomènes de photo-oxydation.
- L'utilisation par les organismes aquatiques pour la respiration et pour la nitrification.
- La production *in situ* par la photosynthèse.

La teneur de l'eau en oxygène est influencée par la salinité, la température mais aussi par les processus purement biologiques comme la production d'oxygène par les végétaux autotrophes, ce qui explique des taux de concentration d'oxygène relativement élevés durant la période printanière coïncidant avec le bloom phytoplanctonique. Cependant, les variations saisonnières des différents paramètres mènent vers la diminution des phosphates et l'augmentation de la concentration des eaux en oxygène. Ceci est due aux fonctions vitales de la flore algale (Grimes *et al.*, 2003).

1.6.3.3 Salinité de l'eau :

La salinité influence la pression osmotique du milieu cellulaire dans les océans, elle est d'environ 33 à 38 g.L⁻¹, et dans les estuaires où arrivent les fleuves, l'eau est diluée et saumâtre avec de fortes variations suivant l'état de la marée, les périodes de crues ou d'étiages. De plus

les pluies ou le fort ensoleillement du médiolittoral supérieur et du supralittoral font fortement varier la teneur en sels (Augier et Boudouresque, 1971 ; Zellal, 2012 ; Laplace-Treyture, 2014).

Les algues d'eau douce ne peuvent pas supporter les stress hypersalins élevés et les algues marines ne peuvent survivre dans les eaux douces. Certaines algues vertes comme *Enteromorpha intestinalis* peuvent vivre en eau douce. D'autres algues brunes comme les laminaires ne supportent par contre pas de grandes variations de salinité : elles sont sténohalines. Les cellules sont alors protégées par des mucilages hydrophiles et des parois robustes. Plusieurs algues régulent leur pression osmotique avec des osmolytes, tels que le mannitol chez les algues brunes (Augier et Boudouresque, 1971 ; Zellal, 2012 ; Laplace-Treyture, 2014).

1.6.3.4 Sels nutritifs :

Les algues se nourrissent de matières minérales comme l'azote sous différentes formes tels que l'ammonium, le nitrate et l'azote gazeux ainsi que le phosphore sous forme de phosphate. La présence excessive de ces éléments essentiellement liée aux activités humaines, à l'agriculture et à l'industrie est néfaste pour certaines algues. Ces éléments polluants enrichissent le milieu et provoquent la prolifération d'algues opportunistes (comme certaines algues vertes comme la laitue de mer, ou les *Ulva* ou bien les algues unicellulaires planctoniques) (Melquiot, 2003 ; Manneville et Grenoble, 2010).

L'azote « N » et le Phosphore « P » sont les macronutriments les plus utilisés par les algues. Ils sont les nutriments essentiels pour la croissance et le développement des algues (Lévêque, 2008).

1.7 Rôle écologique :

Les végétaux aquatiques chlorophylliens jouent un rôle très important dans le fonctionnement de la biosphère. Les cyanobactéries ont permis l'émergence de la vie aérobie en produisant de l'oxygène et ont contribué à élever le pH de l'eau de mer en provoquant la formation de carbonate de calcium (Guillaume, 2010). De plus, les algues, réparties dans tous les océans (jusqu'à 150 m de profondeur), constituent une biomasse qui fournit plus de 70 % de la production annuelle d'oxygène, très loin devant les plantes continentales (1 % pour la forêt équatoriale) (John, 1994 ; Pérez, 1997).

Les macroalgues permettent la réduction de la charge en sels nutritifs (nitrates, phosphates...) en les consommant de façon naturelle, ce qui présente un fort intérêt environnemental pour les zones côtières eutrophisées et les estuaires. La production de ces macroalgues est alors vue comme un moyen de réduire l'impact de l'eutrophisation causée par

les activités anthropiques (l'agriculture et l'urbanisation) sur la qualité de l'environnement et la biodiversité. Une action détoxifiante et dépolluante est rendue possible du fait de la capacité des polysaccharides de paroi (alginates, ulvanes et carraghénanes) à fixer les métaux lourds en se liant aux cations lourds (Person, 2010).

Enfin, les champs sous-marins constituent des habitats écologiques complexes qui participent à l'écosystème local (lieux de ponte, zones d'ombrage) mais aussi à la protection des côtes (Guillaume, 2010).

1.8 Production mondiale des algues :

Avec la grande biodiversité des algues et leur abondance dans le monde, l'homme l'utilise dans plusieurs domaines diversifiés et la demande du marché pour les algues augmente de plus en plus. La production mondiale de macro-algues s'élève à près de 25 millions de tonnes en 2013 (**Fig 7**) : 96 % provient de la culture d'algues dans l'Asie de l'Est et du Sud-Est, et le reste provient d'Amérique du Sud, d'Afrique, d'Europe puis d'Océanie (Lesueur et Comparini, 2015).

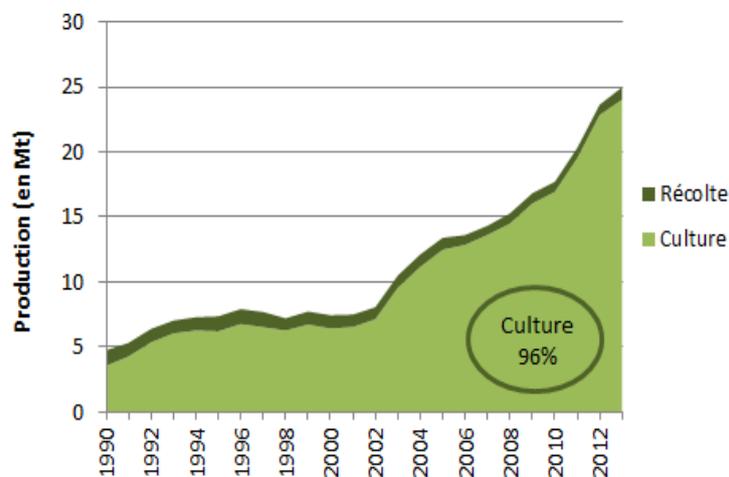


Figure 7: Production mondiale des macro algues (par FAQ 2014)

La majeure utilisation des algues est dans le domaine alimentaire comme « légume » à hauteur de 58% et 39% des productions sont utilisées comme texturants. Elles sont ensuite utilisées dans d'autres domaines tels que la chimie et la microbiologie (pour les milieux de culture), la cosmétique ou la pharmaceutique, le traitement des eaux ou encore l'agrofourmiture en tant que produits phytosanitaires, engrais ou aliments pour bétails. (**Fig 8**). De plus, le

nombre de brevets et articles scientifiques sur les algues de manière générale, dont la valorisation en cosmétique, augmente chaque année (Lesueur et Comparini, 2015).

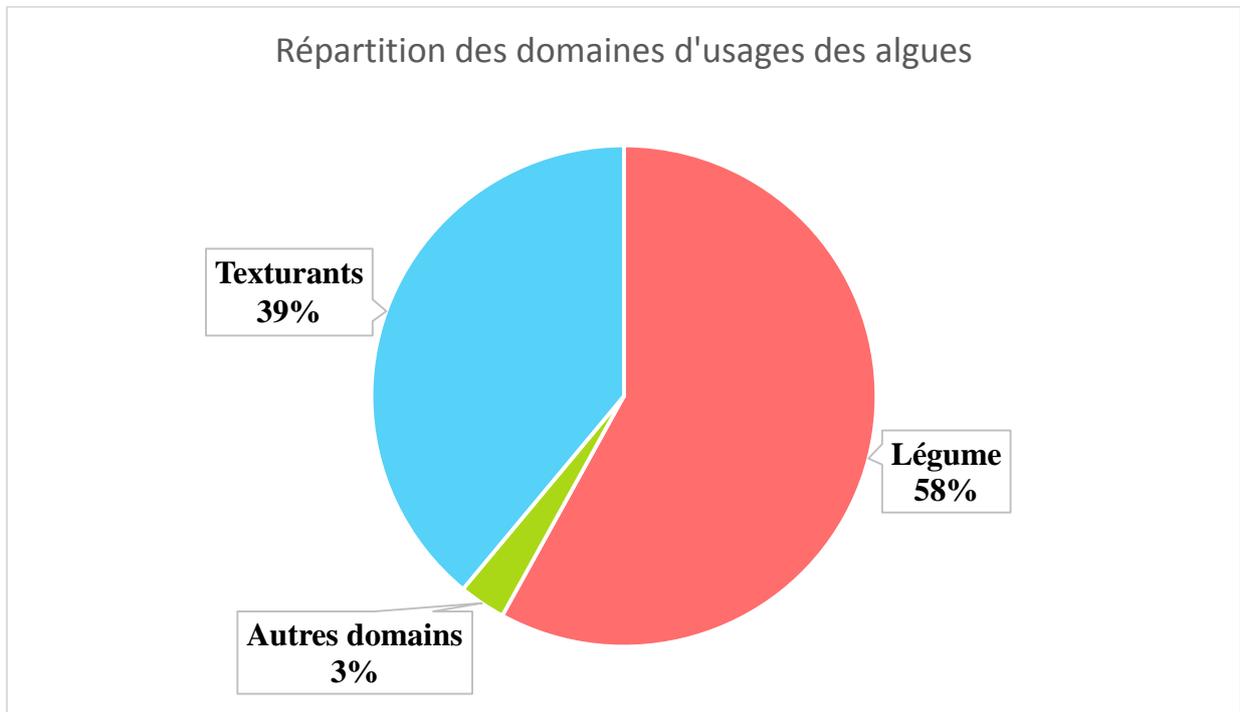


Figure 8: Répartition des domaines d'usages des macro-algues dans le monde.

**CHAPITRE II : LES COMPOSES
PHENOLIQUES DES ALGUES
MARINES**

2.1 Les composés biochimiques des algues marines :

Les algues sont des sources naturelles de composés biochimiques. Une fois introduit dans l'alimentation habituelle, ces composés exercent des effets physiologiques chez l'homme, et pour cette raison ils sont également appelés composés bioactifs. Ces composés phytochimiques fonctionnels peuvent être divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

Les métabolites primaires sont responsables du développement et de la croissance des organismes. Les métabolites secondaire, d'autre part, sont un groupe de composés qui donnent aux organismes la capacité de survivre en leur permettant d'interagir et de s'adapter à leur environnement ; ainsi, les mêmes espèces végétales poussant dans différents endroits peuvent avoir des différents composés à des concentrations variantes (Azmir et *al.*, 2013 ; Jimenez-Lopez et *al.*, 2020).

2.2 Les métabolites primaires :

2.2.1 Les polysaccharides :

Les macroalgues sont riches en polysaccharides classique, mais aussi en polysaccharides très particuliers qui sont les phycocolloïdes. (Person 2010). Ils sont situés principalement au niveau de la paroi, et ont un rôle dans la régulation ionique (Dantas-Santos et *al.*, 2012).

Chez les algues, il existe une grande variété d'unités saccharidiques qui sont mono ou polysaccharidiques (**Tableau 1**). Les monosaccharides sont généralement présents sous forme de pyranose et adoptent la conformation de chaise, qui leur est plus favorable d'un point de vue énergétique (Lahaye, 2001).

Ils sont constitués des résidus glycosidiques et peuvent être liés de façon covalente à des substituants organiques ou inorganiques, ils constituent une catégorie de polymères très hétérogène selon la taille des molécules ou la variabilité des résidus glycosidiques engagés. IL existe deux classes de polysaccharides les homo- et les hétéropolysaccharides. Les homopolysaccharides ne sont composés que de monosaccharides identiques. L'enchaînement des résidus et la présence de ramifications modifient leurs comportements en solution ainsi que leurs propriétés physico-chimiques (Whistler et Bemiller ,1993).

Les hétéropolysaccharides sont constitués d'unités répétitives comportant au moins deux résidus différents par unité, les unités pouvant être ramifiées. Ces derniers peuvent contenir divers substituants liés par des liaisons éther, ester, amide, sulfate ou acétalique. Ces

groupements sont en grande partie responsables des propriétés physico-chimiques des polymères qui les portent (Guillaume, 2010)

Tableau 1: Les différents polysaccharides retrouvés chez les algues.

Algues brunes	<ul style="list-style-type: none"> • Alginates • Fucanes • Laminarines
Algues rouges	<ul style="list-style-type: none"> • Galactanes • carraghénanes • xylomannanes • porphyranes
Algues vertes	<ul style="list-style-type: none"> • Ulvanes

2.2.2 Les protéines :

La teneur en protéines des algues marines est variable du phylum à l'autre. Généralement, la valorisation des algues est étroitement liée à leur composition minérale (fer, calcium, magnésium) ainsi qu'aux propriétés fonctionnelles des polysaccharides qu'elles contiennent. La fraction protéique la plus élevée est enregistrée chez les algues vertes et rouges (10-47% de matière sèche), alors qu'elle est généralement petite chez les algues brunes ; elle varie de 5-24% de la MS (Fleurence, 1999 ; Matanjun *et al.*, 2009).

Parmi les protéines actives qui peuvent être extraites des macroalgues, la lectine, qui, en se liant aux carbohydrates, participe à de nombreux processus biologiques tels que les communications intracellulaires. Elle possède également des activités antivirales, antibactériennes ou anti-inflammatoires (Chojnacka *et al.*, 2012).

Les biliprotéines ou phycobiliprotéines extraites des algues rouges sont utilisées comme des marqueurs fluorescents. Il y'a trois types de phycobiliprotéines : la phycocyanine, l'allophycocyanine et la phycoérythrine (Tierney *et al.*, 2010). Les phycobiliprotéines ont montré des propriétés anti-inflammatoires et antivirales et surtout des propriétés antioxydantes qui sont bénéfiques pour la prévention et le traitement des maladies neurodégénératives, le cancer et les ulcères gastriques (Holdt et Kraan, 2011).

2.2.3 Les lipides :

La teneur en lipides chez les algues est très faible et varie de 1-5% (Person 2010). Les phospholipides et les glycolipides sont les principales classes de lipides et les algues

accumulent des AGPI ou acides gras polyinsaturés, lorsqu'il y a chute de la température environnementale (Holdt et Kraan, 2011).

Les proportions lipidiques chez les algues diffèrent selon les espèces. Les algues rouges, par exemple, contiennent des taux élevés d'AGPI à 20 carbones. On trouve également de l'acide arachidonique (C20 :4 ω 6) et des AGPI à 18 carbones. L'acide eicosapentaénoïque (C20 :5 ω 3) constitue 50% des acides gras polyinsaturés chez les algues rouges *Porphyra sp.* et *Palmaria palmata* (Darcy-Vrillon, 1993).

Les algues brunes ont une distribution en acides gras comparable à celle des algues rouges. Chez certaines algues brunes, les lipides algaux sont des sources de stérols particulières (Fucostérol) (Sánchez-Machado *et al.*, 2004 ; Hamid *et al.*, 2015).

Quant aux algues vertes, elles ont une teneur en acide oléique (C18 :1) et en acide α -linoléique (C18 :3 ω 3) (acides gras indispensables, non synthétisés par l'homme) beaucoup plus élevée que les végétaux (Bigogno et Khozin-Goldberg 2002 ; Chisti 2007).

2.2.4 Les minéraux :

Parmi les particularités importantes des macro-algues, leur richesse en oligo-éléments et minéraux. Les algues puisent de la mer une richesse exceptionnelle en minéraux (jusqu'à 40% de leur masse sèche pour les algues brunes) (Person, 2010).

Les éléments contenus sont très diversifiés : il y'a des macroéléments comme le sodium, le calcium, le magnésium, le potassium, le chlore, le soufre, le phosphore ; des oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium, le molybdène ainsi que d'autres oligo-éléments comme le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel, le cobalt. Il est important de noter que la richesse des macro-algues en iode est exceptionnelle, en particulier les laminaires (algues brunes) et les gracilaires (algues rouges) qui peuvent contenir de l'iode jusqu'à 10 000mg/kg (Person, 2010).

2.3 Les métabolites secondaires :

2.3.1 Les polyphénols :

Les polyphénols, ou composés phénoliques, sont des métabolites secondaires spécifiques du règne végétal. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, mais jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Il en existe approximativement 10.000 composés naturels identifiés. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs noyaux phénoliques à 6 carbones auxquels un

ou plusieurs groupes hydroxyles (OH) libres ou engagés dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside leurs sont liés (Achat, 2013). La figure suivante représente la structure du noyau phénol (**Fig 9**).

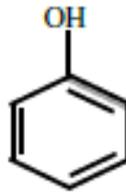


Figure 9: Structure du noyau phénol.

2.3.1.1 Classification des polyphénols :

2.3.1.1.1 Les polyphénols simples :

Ce groupe est formé de phénols qui présentent des substituants hydroxyles en différentes positions : ortho, meta et para (1,2-, 1,3- et 1,4-, respectivement). De plus, les composés phénoliques simples montrent parfois trois groupes fonctionnels. Parmi ces polyphénols on trouve le catéchol, l'hydroquinone et le phloroglucinol, ce dernier, se trouve exclusivement dans les macroalgues (Jimenez-Lopez, 2020).

Une étude a montré que le catéchol a été détecté dans 27 algues Japonaises qui correspondent à des algues vertes ou rouges. Il est également courant de trouver des phénols avec des substituants brome appelés bromophénols (Jimenez-Lopez, 2020).

2.3.1.1.2 Les polyphénols C6-CN :

Ce groupe est formé de composés dont le squelette de base est C6-CN avec ($N \leq N \leq 3$). Au sein de ce groupe, trois subdivisions peuvent être distinguée : C6-C1, C6-C2 et C6-C3.

- **Les acides phénoliques de type C6-C1 :**

Ils correspondent aux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (**Fig 10**) qui se caractérisent par la présence d'un groupe carboxyle lié au phénol (Vermerris et Nicholson, 2006). L'un des plus abondants acides phénoliques appartenant à ce groupe est l'acide gallique. On le retrouve dans certaines algues à des concentrations élevées, comme c'est le cas de l'algue brune *Halopteris scoparia*, qui contient également l'acide gentisique. D'autres acides simples ont

également été trouvés dans les algues, comme l'acide 4-hydroxybenzoïque dans algue brune *Undaria pinnatifida* (Mekinić et al., 2019).

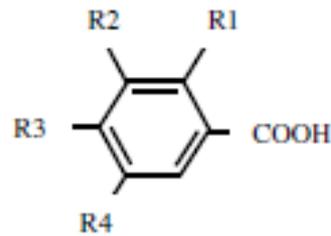


Figure 10: Structure de l'acide hydroxybenzoïque

- **Les acides phénoliques de type C6-C2 :**

Les composés appartenant au groupe C6-C2 sont appelés phényléthanoïdes et comprennent les dérivés hydroxylé et/ou méthoxylés de l'acide phénylacétique, de l'acétophénone et de l'alcool phénéthylique. Ils ne sont pas très courants dans la nature (Jimenez-Lopez, 2020).

- **Les polyphénols de types C6-C3 :**

Dans la catégorie des C6-C3, on trouve les phénylpropanoïdes, parmi lesquels on peut citer les acides hydroxycinnamiques (**Fig 11**), les aldéhydes cinnamiques, les monolignols, les phényl propènes, coumarines, isocoumarines et chromones (Ishii et al, 2004 ; Tsimogiannis et Oréopoulou, 2019).

Les coumarines ont le même squelette que les acides cinnamiques, mais ils ont un hétérocycle d'oxygène dans le cadre de l'unité C3. Ils ont été trouvés dans des algues vertes telles que *Dasycladus vermicularis* et elles peuvent également être retrouvés sous forme de métabolites sulfatés, comme dans le cas du 7- hydroxycoumarine-3,6-disulfate (Achat, 2013 ; Jimenez-Lopez, 2020).

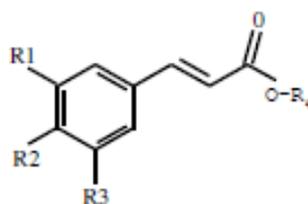


Figure 11: Structure de l'acide hydroxycinnamique

2.3.1.1.3 Les composés phénoliques C6-CN-C6 :

Au sein de ce groupe, quatre subdivisions peuvent être distinguées :

- La catégorie des C6-C1-C6 qui représente les xanthonoïdes.
- La catégorie des C6-C2-C6 (stilbénoides, anthraquinones et anthrones).
- La catégorie des C6-C3-C6 (flavonoïdes).
- La catégorie des C6- C7-C6 (diarylheptanoïdes) (Jimenez-Lopez, 2020)

La catégorie C6-C3-C6 peut être divisée en trois groupes selon l'arrangement du groupe C3 qui relie les deux cycles benzéniques. Ce sont des chalcones (chaîne C3 linéaire), aurones (cyclisation des chalcones) et flavonoïdes (hétérocycle à six membres). (Vermerris et Nicholson, 2006).

2.3.1.1.4 Les polyphénols complexes :

2.3.1.1.4.1 Les tanins :

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques qui se lient aux protéines, elles sont hydrosolubles, avec une masse moléculaire allant de 500 à 3000 Da, et ont une saveur astringente. Ils forment une famille vaste de molécules caractérisées par la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques associés à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés (Bate-Smith, 1954 ; Haslam, 1989 ; Scalbert, 1991).

Ils sont généralement divisés en trois groupes en fonction de leurs structures : tanins hydrolysables, tanins condensés à base de flavonoïdes et les phlorotannins.

a. Tanins hydrolysables :

Ils sont constitués de molécules phénoliques simples. Ce sont des esters d'acide gallique, de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) et de monosaccharides (généralement le glucose), ils sont définis comme étant des esters de glucose. Ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en pyrogallol. Les tanins hydrolysables sont majoritairement présents dans les parois et les espaces intracellulaires (Rira, 2019).

b. Tanins condensés :

Les tanins condensés ne sont pas hydrolysables et ont un poids moléculaire plus élevé. Ils sont issus de la polymérisation d'oligomères (2-10 monomères), des dimères (unités flavan-3-ols) et des polymères (>10 monomères) qui sont hydroxylés en position 3. (**Fig12**). Cette condensation confère aux tanins une structure voisine à celle des flavonoïdes. La diversité structurale des tanins condensés est due aux différenciations des positions, des unités, des orientations et des types des liaisons inter-flavonoïdes. La catéchine, la gallocatéchine, l'épicatéchine et l'épigallocatéchine sont les unités flavan-3-ols les plus répandues (Naumann et al., 2017 ; Rira, 2019).

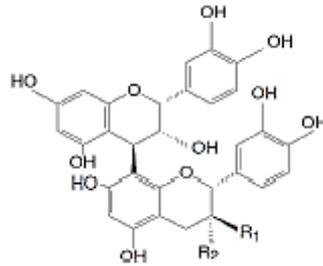


Figure 12: Structure d'un tannin condensé

c. Les phlorotannins :

Le seul groupe de tannins retrouvé chez les algues brunes est le groupe des phlorotannins où il peut constituer jusqu'à 15% de leur poids sec (Targett et Arnold, 1998 ; Zitouni, 2015). Ce sont des polymères de phloroglucinol (1,3,5- trihydroxybenzene) (**Fig 13**). Contenant une sous-unité de phloroglucinol (Tierney et *al.*, 2010 ; Oucif, 2018).

Ces molécules sont d'une haute activité antioxydante, Elles suscitent un grand intérêt dans la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, neurodégénératives et cardiovasculaires (Oucif, 2018).

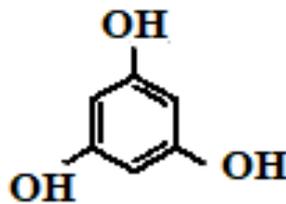


Figure 13: Structure du phloroglucinol

2.3.1.1.4.2 Les anthocyanes :

Ils regroupent les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ce sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycles C. Leur structure de base est caractérisée par un la présence d'un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Ils se différencient par leur degré de méthylation et d'hydroxylation, par le nombre, la nature et la position des oses reliés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine compose le groupement chromophore du pigment (Muanda-Nsemi, 2010).

2.3.1.1.4.3 Lignanes :

Ce type de composés phénoliques est un dimère ou un oligomère qui se forme de 2 unités C6-C3 (monolignols – alcool p-coumarylique, alcool coniférylique et alcool sinapylique) réunis

par une liaison Carbone-Carbone ou lignanes (**Fig 14**). (Vermerris et Nicholson, 2006). Bien que l'on pensait qu'il ne serait présent que dans les plantes terrestres, il a également été découvert dans l'algue rouge intertidale calcifiée *Calliarthron cheilosporioides* Manza (Freile-Peegrín et Robledo, 2013).

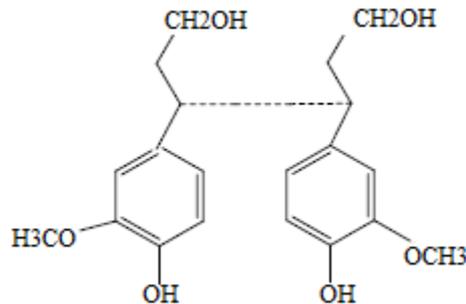


Figure 14: Structure d'une lignane.

2.3.1.1.4.4 Lignines :

Parmi les phénols polymères, il convient de mentionner les lignines. Ces derniers sont les polymères organiques les plus abondants dans la nature, dans lesquels leur structure est composée de complexes monolignol (alcool coumaryl, coniféryle et sinapylique) et des unités lignane (dimères de monolignols), non linéairement et aléatoirement liées, formant un polymère avec un réseau tridimensionnel. Cependant, ils n'ont pas été étudiés de manière approfondie dans les organismes marins, tels que les algues (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2019).

2.3.1.1.4.5 Les flavonoïdes :

Les composés phénoliques les plus répandus sont les flavonoïdes. Ils existent sous forme de glycosides ou sous forme d'aglycones (génines). Plus de 6500 structures sont connues à ce jour et ils peuvent être regroupés en 12 classes selon le degré d'oxydation du noyau central pyranique (Bruneton, 1993 ; Gert et Stephan, 2001).

Ce sont des pigments presque universels des végétaux qui sont responsables de la coloration. On les retrouve comme constituants des plastes particuliers (les chromoplastes) ou dissous dans les vacuoles des cellules à l'état d'hétérosides. On trouve différentes structures des flavonoïdes tels que : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les aurones, les flavylum, les chalcones, les isoflavones.etc. (Muanda-Nsemi,2010).

La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavane (**Fig 15**), qui est composée de 15 atomes de carbone disposés dans une configuration C6-C3-C6, elle est représentée par deux cycles benzéniques (C6), étiquetés A et B, unis par une chaîne linéaire à trois atomes de carbone (C3) sous forme d'un noyau hétérocyclique oxygéné (Ajila *et al.*, 2010 ; Wissam *et al.*, 2012 ; Teh *et al.*, 2014 ; Kumar *et al.*, 2014 ; Rafiq *et al.*, 2016).

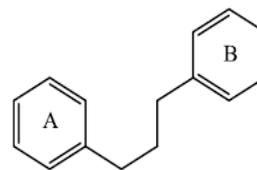


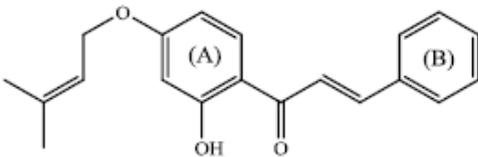
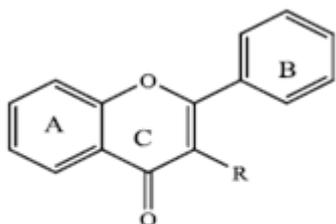
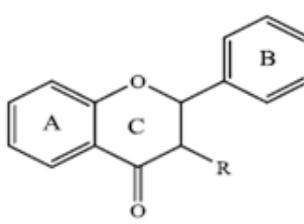
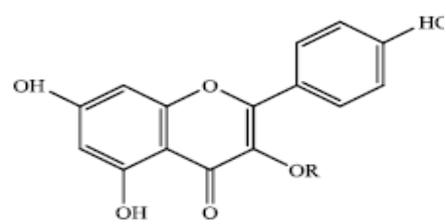
Figure 15: Structure du noyau flavane.

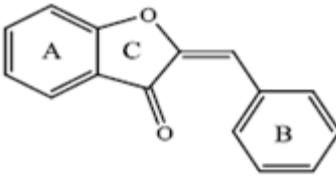
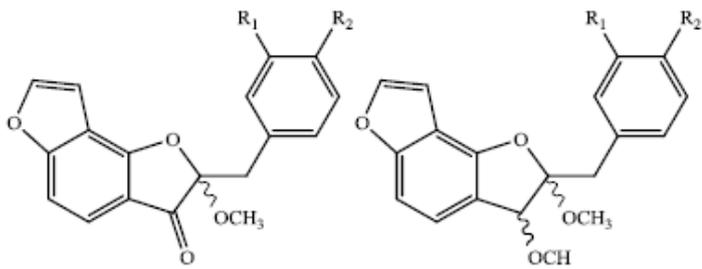
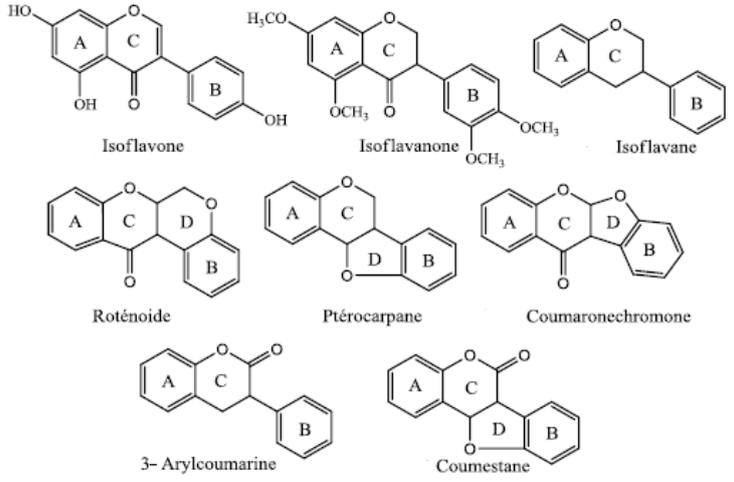
Les flavonoïdes sont classés en six familles qui regroupent les flavanol, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanol. Deux types de structures se distinguent pour chaque famille, celui des flavonoïdes au sens strict avec une structure qui porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des isoflavonoïdes où le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3 (Muanda-Nsemi, 2010).

Le tableau suivant représente les différentes classes des flavonoïdes. (**Tableau 2**)

Tableau 2: Les différentes classes des flavonoïdes.

Classes des flavonoïdes	
Les flavonoïdes au sens strict	<p><u>Chalcones et dérivés :</u></p> <p>Les chalcones (1) des flavonoïdes qui ne comportent pas d'hétérocycle C.</p> <p>Ils sont prénylés souvent sur le noyau A, quant au noyau B, il est parfois peu ou pas substitué.</p> <p>La prénylation peut éventuellement être cyclique du type pyrano (2) ou furano (3).</p> <p>Il existe des chalcones qui présentent une O-</p> <div style="text-align: center;"> <p>chalcone</p> <p>(1) Chalcone</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Isobavachromène</p> <p>(2) Chalcone avec un cycle pyrano</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Castillène E</p> <p>(3) Chalcone avec un cycle furano</p> </div>

<p>prénylation linéaire (4) (Muanda-Nsemi, 2010).</p>	 <p style="text-align: center;">Cordoïne</p> <p>(4) Chalcone avec O-prénylation linéaire.</p>
<p>Flavones et flavanones :</p> <p>Les flavones (5) ont une structure C6-C3-C6 avec un hétérocycle qui porte un groupement carbonyle et d'une insaturation au C3. Les flavanones (6) sont similaire aux flavones mais ils sont dépourvus d'insaturation au niveau de l'herocycle. Les flavanonols (6) et les flavonols (5) correspondent respectivement aux dérivés hydroxylés des flavanones et des flavones. Plusieurs autres composés sont répertoriés dans ce groupe.</p> <p>La quercétine (7), la rutine et l'hypéroside sont presque purement</p>	 <p style="text-align: center;">R= H, flavone R= OH, flavonol</p> <p>(5) Flavones et flavonols</p>  <p style="text-align: center;">R= H, flavanone R= OH, flavanonol</p> <p>(6) Flavanones et flavanonols</p>  <p style="text-align: center;">R= H Ouercétine</p> <p>(7) Quercétine</p>

<p>des flavones prénylés (Muanda-Nsemi, 2010).</p>	
<p><u>Aurones et dérivés :</u> Les aurones (8) sont des molécules isomères de structure des flavones. Ils ont une structure proche mais aussi différente des autres flavonoïdes. Elles dérivent de la chalcone. Lorsque les aurones se forment, la chalcone s'enclose en formant un cycle à 5 atomes, or qu'elle forme un cycle de 6 atomes pour les autres flavonoïdes. La figure (9) représente quelques aurones (Muanda-Nsemi, 2010).</p>	<div style="text-align: center;">  <p>aurone</p> <p>(8) Aurones</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>$R_1 = R_2 = H$ Castillène A $R_1 + R_2 = -OCH_2O-$ Castillène D</p> <p>$R_1 = R_2 = H$ Castillène B $R_1 + R_2 = -OCH_2O-$ Castillène C</p> <p>(9) Quelques Aurones et dérivés.</p> </div>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Les isoflavonoïdes</p> <p><u>Les isoflavonoïdes :</u> Ils engendrent une grande sous classe très diversifiée des flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane. Ils peuvent être classifiés en douze catégories structurales : isoflavanones, coumaronochromones</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Isoflavone Isoflavanone Isoflavane</p> <p>Roténoïde Ptérocarpane Coumaronechromone</p> <p>3-Arylcoumarine Coumestane</p> <p>(10) Différentes classes des isoflavonoïdes</p> </div>

<p>isoflavanes, roténoïdes, ptérocarpanes, roténoïdes, 3-arylcoumarines, isoflavones, (10). Ces catégories se distinguent entre elles, par l'existence ou non, d'hétérocycles supplémentaires et le degré d'oxydation (Muanda-Nsemi, 2010).</p>	
--	--

**CHAPITRE III : LES ACTIVITES
BIOLOGIQUES DES ALGUES
MARINES**

3 Activités biologiques des algues :

Les composés phénoliques ont des différentes propriétés d'intérêt pour diverses applications. Ces molécules sont d'un large éventail d'avantages pour la santé. Étant donné leur effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et cytotoxiques, elles sont parmi les biomolécules les plus étudiées. En outre, plusieurs autres activités biologiques leurs ont été associées, telles que l'activité neuroprotectrices, immun-modulatrice, cardioprotectrice ou diurétique. De plus, les composés phénoliques sont utilisés dans les produits cosmétiques, les médicaments et aussi dans l'industrie alimentaire pour améliorer la qualité des aliments et préserver les avantages nutritionnels des aliments (Kumar et Goel, 2019 ; Gager, 2019).

3.1 Activités antioxydantes :

Les composés phénoliques ont été reconnus comme de puissants antioxydants, prévenant les dommages oxydatifs des acides nucléiques, des protéines et d'autres biomolécules. Leur mécanisme d'action est principalement le piégeage des radicaux libres et l'activation du système antioxydant endogène. Ce potentiel antioxydant des composés phénoliques est fortement liée à sa structure (Kumar et Goel, 2019 ; Gager, 2019).

Le groupe hydroxyle (OH) est donneurs d'hydrogènes et d'électrons, de sorte que son nombre et sa position influencent directement la capacité antioxydant des composés phénoliques. La présence de substituants sur le cycle aromatique affecte la stabilisation de la molécule et, par conséquent, l'activité de piégeage des radicaux (Kumar et Goel, 2019 ; Vuolo et *al.*, 2019).

De nombreuses études ont démontré les propriétés antioxydantes des extraits d'algues riches en composés phénoliques. Les algues vertes et rouges contiennent des concentrations plus faibles en composés phénoliques que les algues brunes. De nombreuses études ont démontré les effets antioxydants des phlorotannins dans diverses lignées cellulaires (Jimenez-Lopez et *al.*, 2020).

3.2 Activités cytotoxiques :

Au cours des dernières décennies, les composés phénoliques présents dans différentes espèces d'algues marines ont été étudiés pour ce qu'ils possèdent comme capacités antitumorales et cytotoxiques. La puissante activité antioxydante des polyphénols les a mis en évidence comme étant des agents anticancéreux potentiels très prometteurs. Les phlorotannins sont les principales molécules phénoliques présentes et isolées à partir des algues, spécifiquement d'algues brunes. La structure moléculaire des phlorotannins contient de

nombreux groupes hydroxyles qui ont été décrits comme responsables de leur pouvoir antioxydant. Ainsi, ce groupe de phénols a été étudié pour prévenir les processus cancérogènes (Gager, 2019).

3.3 Activités antiallergiques et anti-inflammatoires :

Les réactions allergiques et d'hypersensibilité sont un important défi sanitaire dans le monde (Singh et al, 2011 ; Pawankar, 2014). Les mécanismes moléculaires et cellulaires responsables de ces allergies sont complexes et éprouvent fréquemment une diminution de la qualité de vie due à des troubles coexistant, y compris le diabète, l'obésité et les maladies cardiovasculaires (Pawankar 2014). En particulier, l'asthme est une maladie inflammatoire complexe des voies respiratoires qui touche environ 300 millions de personnes dans le monde entier (Gager, 2019).

La recherche de molécules avec des anti allergènes et anti-inflammatoire constitue un enjeu majeur. Actuellement, les algues contenant des polyphénols sont utilisées pour leur activités anti-allergénique (Maeda-Yamamoto et Tachibana 2012). Le mécanisme proposé de l'action de ces polyphénols est notamment la suppression de la phosphorylation de la protéine cellulaire tyrosine-kinase, et la suppression de phosphorylation de la chaîne légère de la myosine (Maeda- Yamamoto et Tachibana, 2012). Récemment, un extrait éthanolique de la macroalgue brune *Scytosiphon sp.* a montré une grande activité anti-allergénique qui est similaire à celle d'épigallocatechine (Chen et al, 2015).

Plusieurs études, principalement sur les algues brunes, ont rapporté un effet anti-allergénique des phlorotannins sous forme d'extraits bruts ou purifiés, qui semblent être des molécules prometteuses contre les allergies et l'inflammation (Jimenez-Lopez et al, 2020).

Les extraits méthanoliques bruts des algues brunes suivantes : *Ecklonia creux*, *Eisenia arborea*, *Sargassum ringgoldianum*, *Ishige foliacea*, *I. okamurae*, *S. thunbergii* et *S. micracanthum* ont montré des activités antiallergéniques en inhibant la dégranulation des mastocytes qui contient de l'histamine (Sugiura et al. 2006). Les activités antiallergéniques d'*Ecklonia . cava* extraits ont été confirmés par (Shim et al. 2009) dans une étude de la régulation des récepteurs IgE. En outre, (Sugiura et al. (2006) ont démontré qu'un extrait chloroforme méthanolique d'*Eisenia arborea* diminue la quantité d'eicosanoïdes, de leucotriènes et de la prostaglandine. Ils ont également signalé qu'un extrait de *Ecklonia stolonifera* a inhibé la libération de β -hexosaminidase qui est un enzyme impliquées dans la réponse inflammatoire.

3.4 Activités antimicrobiennes :

Des études ont montré que les composés phénoliques retrouvés dans les algues possèdent la capacité d'inhiber la croissance de différents microorganismes pathogènes. Des extraits obtenus à partir de certaines espèces d'algues ont été testés contre des bactéries pathogènes et ont montré une activité antibactérienne remarquable (Jimenez-Lopez et al, 2020).

L'analyse de la capacité antimicrobienne de trois espèces d'algues contenant des teneurs en flavonoïdes d'une fourchette de 0,12 à 0,46 mg/g ont montré des effets inhibiteurs vis-à-vis *Vibrio fluvialis* (Jimenez-Lopez et al, 2020).

D'autres molécules importantes, présentes dans les algues marines, qui sont les phlorotannins présentent aussi une importante activité antimicrobienne. De nombreux extraits riches en ces substances ont été étudiés. À titre d'exemple, les extraits de phlorotannins d'*Ecklonia kurome* (algue brune) ont montré des effets bactéricides contre un large éventail de microorganismes pathogènes (Jimenez-Lopez et al, 2020).

3.5 Activités antifongiques :

Les composés phénoliques des algues ont également été démontrés pour posséder des propriétés antifongiques. Certaines études réalisées avec l'algue marine *Ecklonia cava* ont obtenu une activité antifongique puissante contre le champignon filamenteux *Trichophyton rubrum* induite par deux mécanismes d'action différents (Choi et al., 2010).

3.6 Activités antiprolifératives et anticancéreuses :

Les défis à relever pour guérir de nombreuses maladies, comme les cancers, ainsi que la cytotoxicité et les effets secondaires désagréables de nombreux médicaments chimiothérapeutiques a stimulé l'investissement dans la recherche de nouveaux médicaments à partir des algues marines. Une grande variété d'extraits d'algues marines, en particulier ceux enrichi en composés phénoliques, ont présentés des activités cytotoxiques contre une variété de cellules tumorales in vitro (Rocha et al. 2018).

Les composés phénoliques ont été signalés comme étant potentiellement prometteurs dans le traitement du lymphome et de la leucémie. Des travaux ont démontré des activités cytotoxiques des extraits bruts de plusieurs algues notamment *Cystoseira tamariscifolia* contre la lignée cellulaire de Daudi (lymphome de Burkitt), ainsi que contre les cellules Jurkat et K562 (leucémie humaine). Un extrait d'acétate d'éthyle de *Sargassum fusiforme* induit une apoptose dans les cellules U937 de leucémie humaine (Zubia et al., 2009).

Un extrait enrichi en phlorotannines de *Saccharina japonica* a montré une activité anti-proliférative dans une lignée de cellules leucémiques murines (P388) (Zubia et *al.* 2009). De plus, un mérosquiterpène isolé de *Dictyopteris sp.*, a montré des activités anti-prolifératives contre les cellules leucémiques P388 (Leslie, 2019).

De nombreuses études ont également montré que les composés phénoliques pourraient être antiprolifératifs contre le cancer colorectal, par exemple les extraits au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et les fractions méthanoliques de *Cystoseira compressa* ont montrés des activités antiprolifératives contre la lignée cellulaire de carcinome du côlon HCT15 et contre la cellule d'adénocarcinome pulmonaire A549 (Mhadhebi et *al.* 2012).

PARTIE EXPERIMENTALE

4.1 Matériel biologique :

4.1.1 Présentation de l'espèce étudiée :

Le genre *Cystoseira* a été défini par Agardh dans son ouvrage intitulé *Species algarum* en 1820. Le nom provient d'un caractère morphologique et signifie la présence de flotteurs (*cysto-*) disposés en chaînes (*-seira*) sur le thalle de ces algues (Jégou, 2011).

La place actuelle du genre *Cystoseira* dans la hiérarchie du vivant est représentée dans la figure suivante (**Fig 16**) :

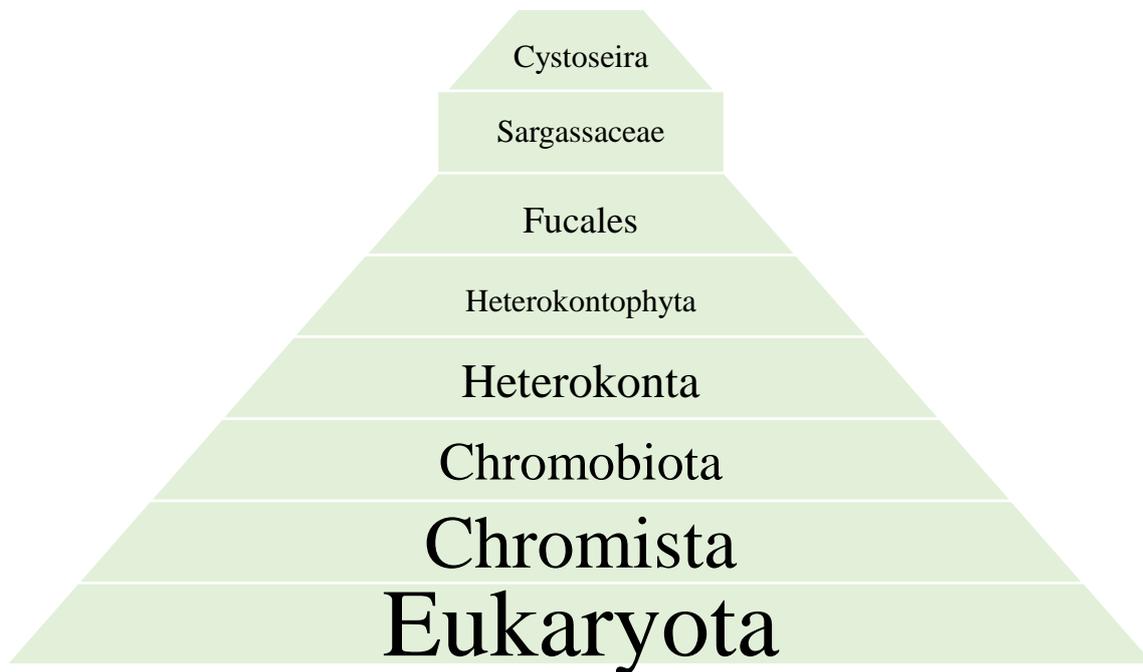


Figure 16: Hiérarchie du genre *Cystoseira* dans l'arbre du vivant. (Empire : Eukaryota, Règne : Chromista, Sous-règne : Chromobiota, Infra-règne : Heterokonta, Embranchement : Heterokontophyta, Ordre : Fucales, Famille : Sargassaceae)

- **Morphologie :**

De façon générale, le thalle d'une cystoseire se présente sous forme d'un système d'axes d'ordres multiples (**Fig 17**) à croissance non limitée, pouvant porter des appendices à croissance limitée, assimilables à des pleuridies. Les axes primaires prennent naissance sur un disque basal conique, qui est le point d'implantation du thalle à son substrat. La présence d'aérocystes ou de flotteurs en position interne dans les axes est typique du genre mais certaines espèces exceptionnelles ne les possèdent pas (Jégou, 2011)

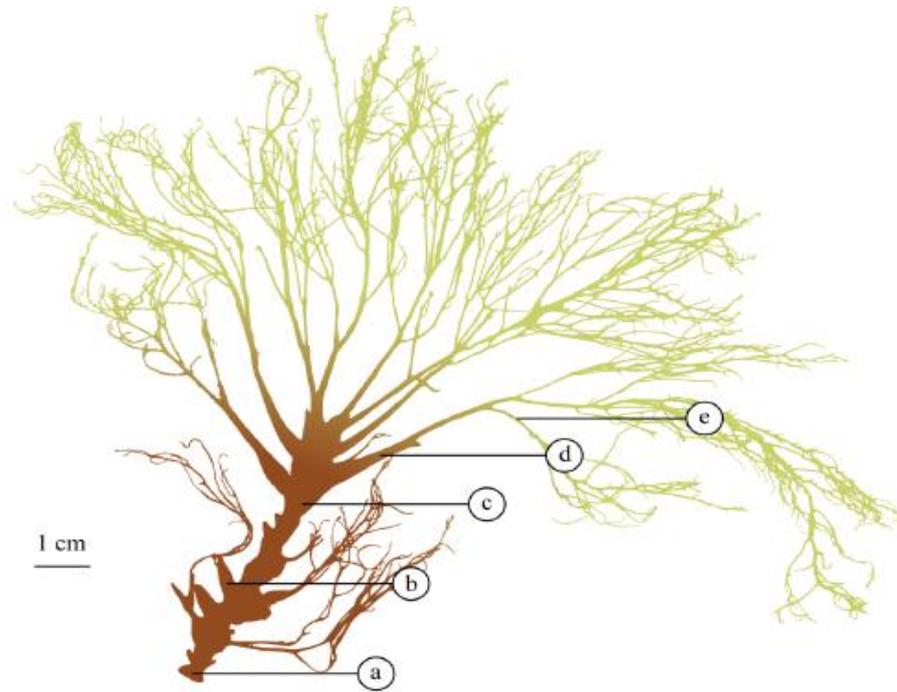


Figure 17: Organisation d'un thalle de cystoseire : exemple de l'espèce tophuleuse *Cystoseira nodicaulis*. (a) : Disque basal réduit ; (b) : tophule ; (c) : axe primaire épais ; (d) : axe secondaire ; (e) : axe tertiaire (iridescent)

4.1.2 Souches microbiennes utilisées :

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail sont des souches alimentaires majoritairement référencées de l'American type culture collection (ATCC) (**Annexe 2**) fournies par **Monsieur TITOUCHE, Y.** (Laboratoire d'analyses microbiologiques, Université MOULOUD MAMMARI Tizi-ouzou). Ce tableau représente les souches utilisées. (**Tableau 1**)

Tableau 3:Tableau représentant les souches bactériennes utilisées

Gram positif	Gram négatif
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Entérocooccus faecalis</i> WDCM 0009 • <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 • <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC 27853 • <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

4.2 Milieux de culture et réactifs :

4.2.1 Milieux de culture :

Tableau 4: Les milieux de culture utilisés.

Milieux de culture
BHIB (Brain Heart Infusion Broth)
BHI (Brain Heart Infusion)
MH (Mueller Hinton)

4.2.2 Réactifs :

Tableau 5: Liste des réactifs utilisés.

Réactifs
Acide gallique
Carbonates de Sodium
Chlorure d'aluminium
Chlorure de Sodium
Folin- Cioecalteu
Hydroxyde de Sodium
Quercétine

4.2.3 Appareilles :

Tableau 6: Liste des appareils utilisés.

Appareilles	Source
Agitateur à barreau magnétique non Chauffant	GERHARDT (Allemagne)
Autoclave	WEBECO (Allemagne)
Bain marie	MEMMERT (Allemagne)
Balance de précision	SARTORIUS BP121S (Allemagne)
Etuve 37°	MEMMERT à 37°C (Allemagne)
Réfrigérateur	ENIEM (Algérie)
Spectrophotomètre	Vis-7220G Biotech Engineering. Management CO.LTD (UK)
Vortex	HEIDOLPH (Allemagne)

4.2.4 Solvants :

Tableau 7: Liste des solvants utilisés.

Solvants
Dimethylsulfoxyde (DMSO)
Eau distillée
Ethanol
Méthanol

4.3 Méthodologie :

4.3.1 Pré-traitement de l'échantillon :

Les algues sont rincées à l'eau de robinet, afin d'éliminer les impuretés, égouttés puis séchés à température ambiante à l'abri de la lumière, les algues sèches sont moulues finement avec un moulin électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. La poudre est conservée dans des flacons ombrés en verre dans endroit sec.

4.3.2 Préparation des extraits par macération :

La méthode d'extraction doit préserver les composés chimiques d'intérêt et éviter leurs modifications, pour cela, l'éthanol et l'eau sont généralement les solvants d'extraction les plus utilisés (Turkmen et *al.*, 2007).

1- Principe :

C'est une extraction solide-liquide dont le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide pour pouvoir dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. L'entrée du solvant se fait grâce au changement de la pression osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (Ribereau, 1968).

2- Mode opératoire :

10g de la poudre d'algue *Cystoseira sp* séchée sont mis à macérer dans 100ml de différents solvant (Extrait 1 : eau distillée, extrait 2 : éthanol absolu, extrait 3 : mélange eau/éthanol à 50%), l'ensemble est mis à macérer pendant 24 heures à l'obscurité. Le filtrat est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 3000 rpm puis filtré avec du papier filtre, ensuite, l'extrait est séché à l'air libre. L'extrait est récupéré et conservé à 4°C dans des tubes ombrés. (**Fig 18**).

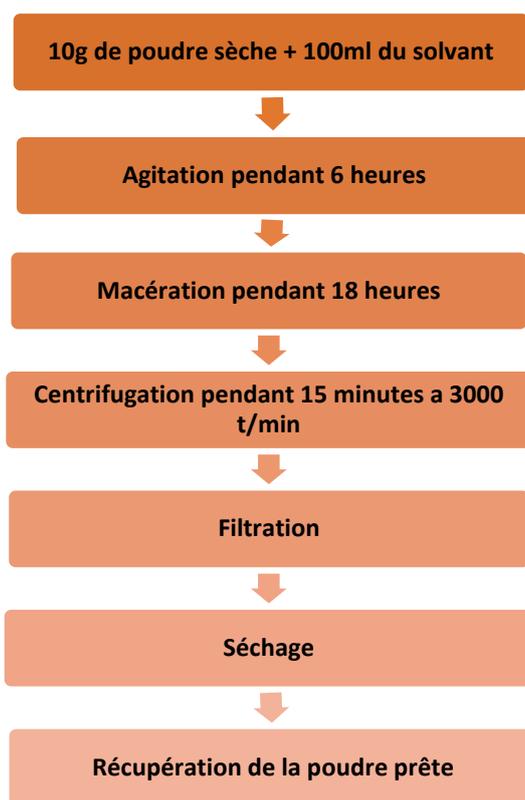


Figure 18: Schéma représentant les étapes de l'extraction.

Le rendement :

Le rendement d'extraction désigne la quantité de l'extrait obtenue après évaporation du solvant, il est calculé selon la formule suivante (Falleh et *al.*, 2008) :

$$R (\%) = 100 (M.\text{ext} / M.\text{éch})$$

Où : R est le rendement en %.

M.ext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M.éch est la masse sèche de l'échantillon végétal en g.

4.3.3 Dosage des polyphénols totaux :

Les dosages ont été fait en suivant la méthode de Folin-Ciocalteu donnée par (Boizot et Charpentier, 2006) avec quelques modifications.

1. Principe :

Le réactif de Folin-Cioecalteu est composé d'un mélange d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique. Lors de l'oxydation des polyphénols, il est réduit en un mélange de molybdène et d'oxydes bleus de tungstène (Singleton et Rossi, 1965 ; Singleton *et al.*, 1999 ; Boizot et Charpentier, 2006).

La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols contenue dans l'extrait végétal (Stankovic, 2011 ; Bonnaillie *et al.*, 2012).

2. Mode opératoire :

À partir de chaque extrait, 100 µl sont prélevés et mélangés avec 500 µl du réactif Folin Cioecalteu dilué a 1/10, 4 minutes après, 400 µl de carbonates de sodium Na_2CO_3 à une concentration de 7,5 % sont ajoutés. Ensuite, Le mélange est agité à l'aide d'un Vortex et incubé à température ambiante à l'obscurité pendant vingt minutes. (Fig 19)

L'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV. En parallèle, une courbe d'étalonnage est réalisé avec de l'acide gallique.

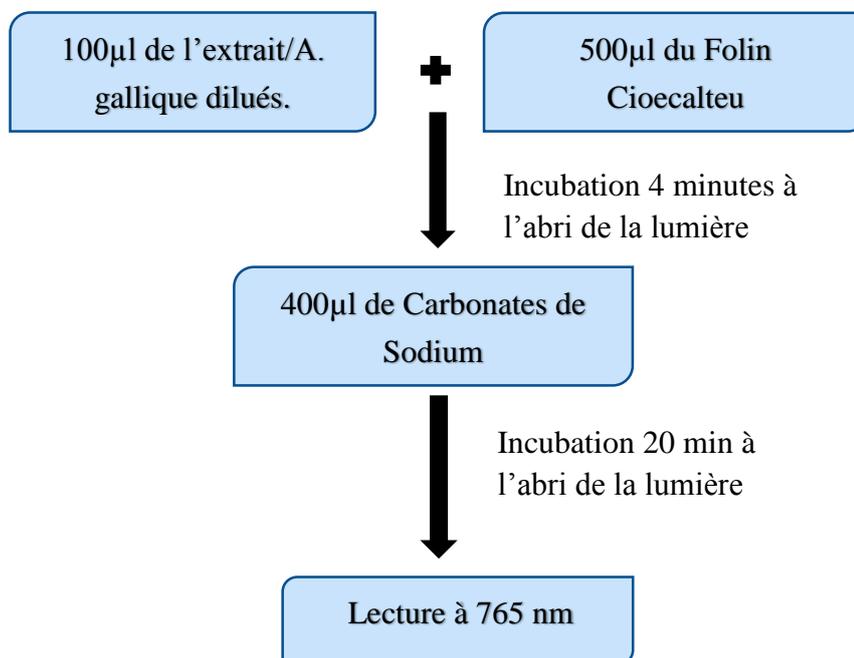


Figure 19: Schéma du protocole du dosage des Polyphénols

La concentration des polyphénols totaux dans l'extrait est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Elle est exprimée en mg

équivalent d'acide gallique/ g de matière sèche de matière sèche (mg EAG/g MS) selon l'équation suivante :

$$T = (C.V)/M.S$$

Où : T = Teneur en composés phénoliques (mg EAG / g de matière sèche) ;

C = Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V = Volume de l'extrait aqueux ou organique (ml)

M.S= Poids de la matière végétale sèche (g).

La figure ci-dessous montre la série des dilutions faites pour réaliser le dosage des polyphénols totaux. **(Fig 20).**



Figure 20: Gamme d'étalonnage de l'acide gallique..

4.3.4 Dosage de Flavonoïdes :

3. Principe :

Les flavonoïdes ont un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, qui donne un complexe coloré avec le groupement CO des chlorures d'aluminium. Ils forment des complexes de couleur jaune par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci est expliqué par le fait que l'aluminium perd deux électrons pour se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule

phénolique en agissant comme donneur d'électrons (Ribereau Gayon et *al.*, 1972 ; Boulekbache, 2005).

4. Mode opératoire :

1ml d'extrait ou de standard est mélangé avec 1ml de Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2%. Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 430nm. (**Fig 21**).

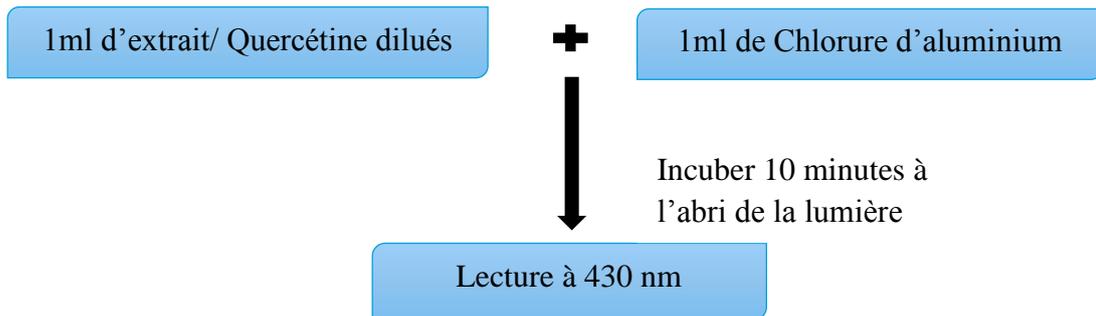


Figure 21: Schéma représentant le protocole du dosage des Flavonoïdes.

En parallèle, une courbe d'étalonnage est réalisée avec de la Quercétine à 1mg/ml diluée dans de l'éthanol à 50%. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine /g de matière sèche (mg EQ/g M.S).

La figure ci-dessous montre la série de dilutions faites pour réaliser le dosage des flavonoïdes. (**Fig 22**).



Figure 22: Gamme d'étalonnage de la quercétine.

4.3.5 Etude de l'activité antibactérienne :

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits d'algues est celle de la diffusion sur gélose en utilisant des disques stériles en papier Wattman décrite par (Ouelhadj *et al.*, 2014).

5. Principe :

Le principe de la méthode est basé sur la diffusion des composés antibactériens sur le tapis bactérien. S'il y'a des composés a activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque. Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à l'activité antimicrobienne de l'échantillon.

6. Mode opératoire :

1- Revivification des souches :

Les souches ont été conservées à -20°C , une revivification est donc nécessaire afin d'effectuer les tests sur des souches jeunes de moins de 24h. Pour cela, les souches sont repiquées aseptiquement dans le bouillon BHIB (Brain heart infusion broth) et incubées dans une étuve à 37° pendant 18 à 24 heures.

2- Repiquage des souches :

Après revivification, les souches bactériennes sont ensuite repiquées sur le milieu BHI gélosé par la technique des trois quadrants et incubés à 37° pendant 24heures.

3- Préparation des extraits :

Des solutions mères sont préparées à partir de chaque extrait (aqueux, éthanolique et l'extrait eau-éthanol) à une concentration de 100mg/ml chacun. (**Fig 23**), dans du DMSO (dimethylsulfoxyde) dilué à 10%.

4- Préparation des inoculums :

Les inoculums sont standardisés afin d'avoir un tapis bactérien d'une opacité égale et correcte. A partir des souches jeunes, on racle quelques colonies bactériennes isolées à l'aide d'une pipette pasteur et on les dépose dans un tube à vis qui contient préalablement 10 ml de l'eau physiologique stérile. A l'aide d'un Vortex, l'inoculum est bien homogénéisé. Sa densité optique doit être comprise entre $0,08 \geq \text{D.O} \geq 0,1$.

La lecture est faite avec le spectrophotomètre a une longueur d'ondes de 625nm. L'inoculum peut être ajusté, soit par l'ajout de la culture s'il est faiblement chargé, ou bien par l'ajout de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé.

5- Réalisation du tapis bactérien :

L'antibiogramme consiste à réaliser un tapis bactérien et y déposer les disques imbibés de l'extrait à tester. Le tapis est réalisé par la technique de l'écouvillonnage.

Un écouvillon stérile est imprégné dans l'inoculum standardisé, serré aux parois du tube pour éliminer le maximum de liquide et ne garder que les cellules bactériennes et est étalé sur une boîte de gélose MH. (**Annexe 1**). L'étalement doit être fait par des traits très serrés 3 fois en tournant la boîte de 30° à chaque fois. (**Fig 23**).

6- Dépôt des disques :

Les disques stériles sont préalablement imbibés avec 20µl d'extrait et laissés s'imbiber pendant 2 minutes. Puis ils sont déposés à l'aide d'une pince sur la gélose. (**Fig 23**). Les boîtes sont ensuite laissées 4 heures à 4°C pour une meilleure diffusion de l'extrait sur la gélose puis incubées à 37°C pendant 18h.

Un disque d'antibiotique, la céfazoline à 30µg, est ajouté comme témoin positif. Le témoin négatif représente le solvant.

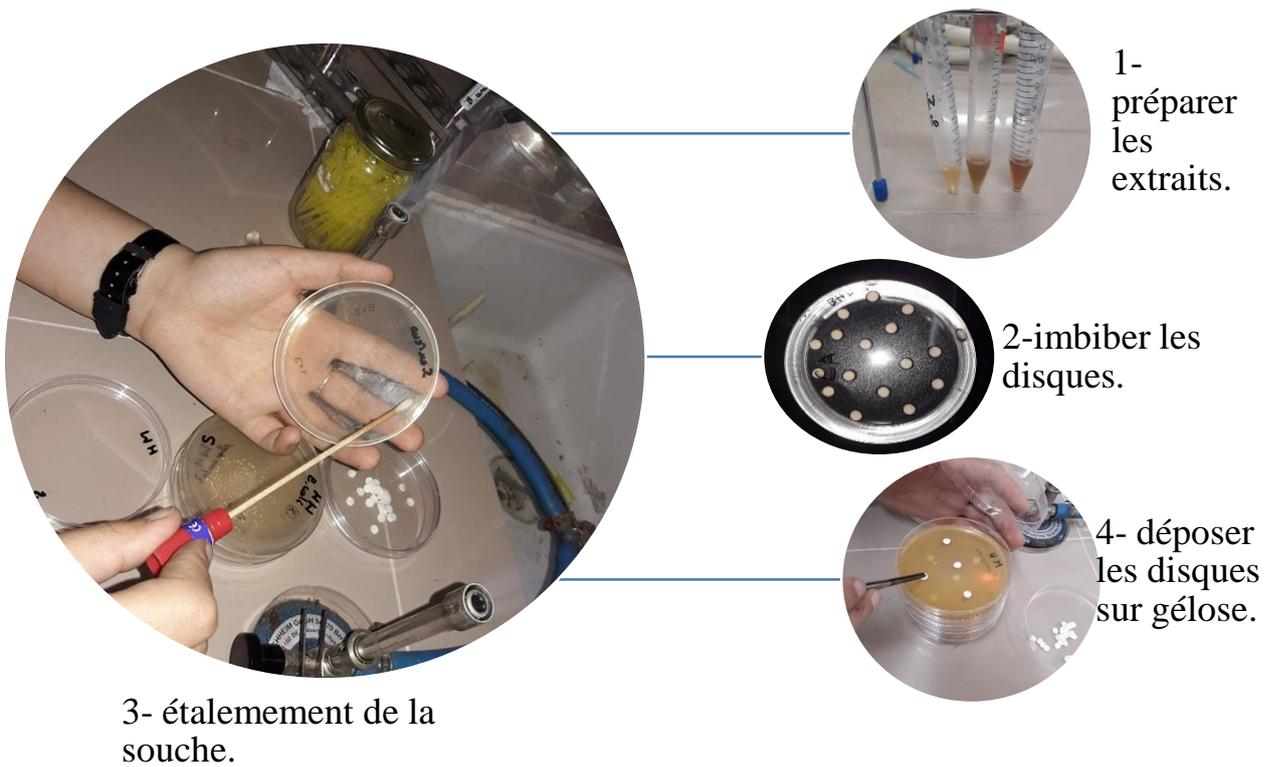


Figure 23: Etapes de réalisation de l'antibiogramme

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion :

5.1 Rendement de l'extraction des polyphénols :

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres tel que le solvant, la température, le pH, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (DO *et al.*, 2014).

Pour la même espèce d'algue brune, trois extractions sont effectuées dans les mêmes conditions avec des solvants différents. (n =1)

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 8**) :

Tableau 8: Caractéristiques et rendement des extraits.

	Solvant 1 : Eau	Solvant 2 : Eau + Ethanol	Solvant 3 : Ethanol
Rendement (%)	9,1	7,6	3,1
Aspect	Poudreux	Poudreux	Pâteux
Couleur	Vert-marron	Vert-marron	Vert foncé

Comme il est indiqué dans le tableau ci-dessus, le rendement des extractions diffère selon le type du solvant. L'extraction à l'eau distillée a permis d'extraire 9,1 % de matière, ce qui représente une quantité beaucoup plus grande que l'extraction à l'éthanol qui a donné un résultat plus faible (3,1 %). Tandis que l'extraction avec le mélange des solvants eau-éthanol (V-V), a donné un rendement relativement moyens (7,6 %).

5.2 Les dosages biochimiques :

5.2.1 La teneur en composés phénoliques :

La teneur en composés phénoliques dans les trois extraits est estimée en utilisant la courbe d'étalonnage (**Fig 24**) réalisée avec l'acide gallique comme standard, et elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg eq.AG/g M.S).

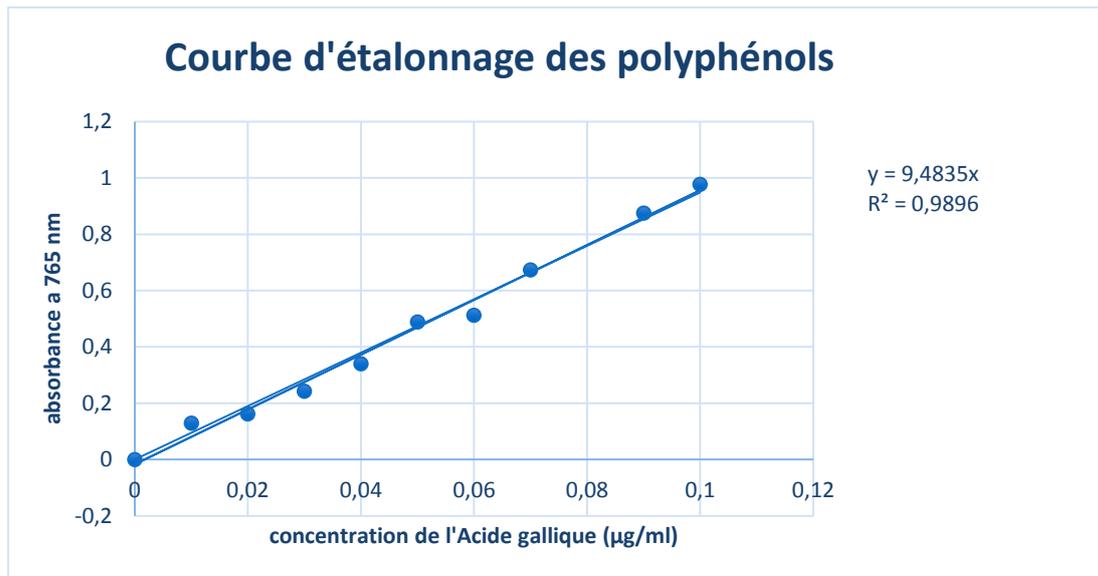


Figure 24: Courbe d'étalonnage des PPT.

Les résultats obtenus pour les dosages des PPT des différents extraits sont représentés dans le tableau (**Tableau 9**) :

Tableau 9: Teneurs des extraits en PPT.

	Extrait 1 : Eau	Extrait 2 : Eau + Ethanol	Extrait 3 : Ethanol
Teneur en polyphénols en mg eq A.G/g M.S	44,63 ± 2,42	57,66 ± 1,15	32,58 ± 1,58

La plus forte teneur en PPT est obtenue par l'extraction avec le mélange de solvant d'eau et d'éthanol qui est de $57,66 \pm 1,15$ mg eqA.G/g M.S, alors que l'extraction aqueuse a donné des valeurs relativement moyennes ($44,63 \pm 2,42$ mg eqA.G/g M.S).

Cependant, l'extraction éthanolique a montré la plus faible teneur estimée à $32,58 \pm 1,58$ mg eqA.G/g M.S.

On remarque que la teneur en PPT obtenue par l'extraction avec un solvant organique (éthanolique) est légèrement inférieure aux résultats obtenus par Kosanic et *al* qui ont obtenu, à partir d'une extraction à l'acétone, $39,96 \pm 1,002$ mg eqAG/g MS pour *Cystoseira compressa* de la mer adriatique (Kosanic et *al.*, 2015).

D'autre part, Kosanic et *al* ont obtenu des teneurs de $61,74 \pm 1,013$ et de $81,28 \pm 1,065$ mg eqAG/g MS pour *C. barbata* et *C. amenatacea* respectivement, qui sont des valeurs très élevées par rapport à nos résultats.

Nos résultats sont aussi légèrement supérieurs à ceux obtenus par l'équipe de Yegdaneh et *al.*, (2015) qui ont obtenus 36 mg eqA.G/g MS de PPT pour *C. merica* des côtes iraniennes.

Cependant, d'autres espèces provenant d'autres zones géographiques dont l'extraction effectuée avec d'autres solvants, les résultats sont remarquablement inférieurs aux teneurs en PPT obtenus dans notre étude. En effet, une extraction méthanolique des PTT de l'espèce *Cystoseira compressa* provenant des côtes tunisiennes réalisée par Mhadhebi en 2012 a donné une teneur en PPT équivalente à $15,23 \pm 0,02$ mg eqA.G/gM.S. D'autres algues brunes provenant de l'Inde (*Sargassum marginatum*, *Padina tetrastomatica* et *Turbinaria conoides*) ont des teneurs allant de 2,78 jusqu'à 26 mg eqA.G/g MS (Chandini et *al.*, 2008).

La teneur en PPT obtenue par l'extraction aqueuse qui est de $44,63 \pm 2,42$ mg eqA.G/gM.S, est légèrement inférieure à l'extrait aqueux de *C. sedoides* qui est de $50,3 \pm 0,1$ mg eqA.G/gM.S et de *C. crinita* ($56,5 \pm 0,3$ mg eqA.G/gM.S) (Mhadhebi et *al.*, 2012).

Ces différences en teneurs en PPT sont dues à la sensibilité des polyphénols qui sont susceptible de subir des dégradations, des hydrolyses ou des oxydations. Plusieurs autres facteurs influencent leur quantification comme les paramètres environnementaux (place géographique, climat, saison ...etc.), l'espèce, le temps et la température de l'extraction, la nature des solvants, le mode de conservation des extraits et mêmes les facteurs génétiques (Li et *al.*, 2006 ; Lagha-Benamrouche et Madani, 2013 ; Aboshora et *al.*, 2014 ; Al-Anbari et Hasan, 2015).

5.2.2 Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes dans les trois extraits est estimée par l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec de la quercétine comme standard, et est exprimée en milligramme équivalent de quercétine/ g Matière sèche (mg eq.Q/g MS). (Fig 25)

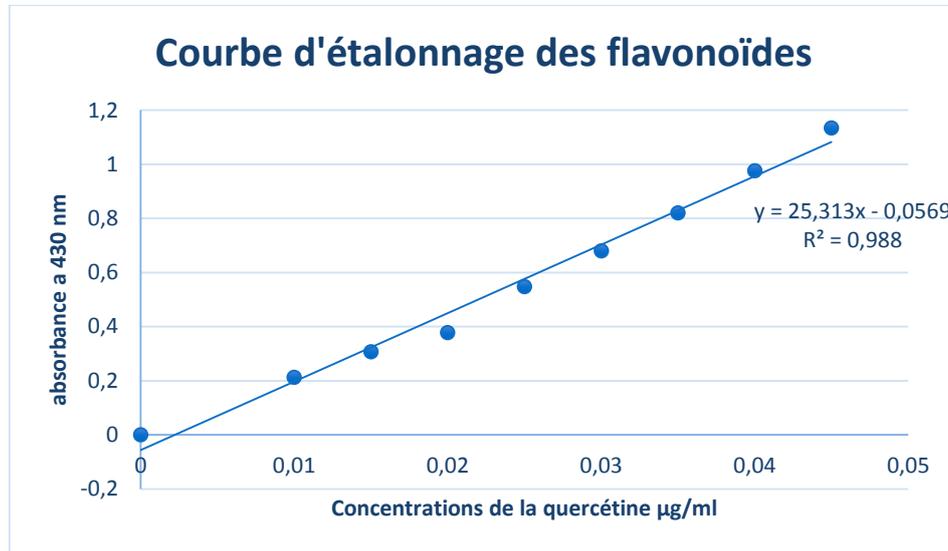


Figure 25: Courbe d'étalonnage de flavonoïdes

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes sont exprimés dans le tableau suivant (Tableau 10) :

Tableau 10: Teneur des extraits en flavonoïdes.

	Extrait 1 : Eau	Extrait 2 : Eau + Ethanol	Extrait 3 : Ethanol
Teneur en flavonoïdes en mg eq Q/g MS	15,33 ± 0,577	20,5 ± 0,5	14,33 ± 0,28

L'extrait réalisé avec un mélange eau-éthanol a montré la plus grande teneur en flavonoïdes qui est de $20,5 \pm 0,5$ mg eq Q/g MS suivie de la quantité en PTT de l'extrait aqueux ($15,33 \pm 0,577$ mg eq Q/g MS) puis celle de l'extrait éthanolique qui a donné la plus faible teneur qui est de $14,33 \pm 0,28$ mg eq Q/g MS.

Le résultat des teneurs en flavonoïdes obtenus par l'extraction Eau + Ethanol, qui est de $20,5 \pm 0,5$ mg eq Q /g M.S, est similaires à celui obtenu par Kosanic et al (2015) qui est de $20,85 \pm 0,991$ mg eq Q/g M.S pour *C. compressa* en utilisant l'acétone comme solvant.

Les teneurs en flavonoïdes peuvent être plus élevées chez les autres espèces du même genre tels que *C. barbata* et *C. amentaceae* qui s'élèvent jusqu'à $55,14 \pm 1,078$ et $64,58 \pm 1,099$ mg eqA.G/gM.S respectivement (Kosanic et al., 2015).

Ces teneurs en flavonoïdes sont différentes par cause de plusieurs paramètres. Principalement, ces différences sont dues à la grande sensibilité des flavonoïdes qui sont susceptible de subir des dégradations, des hydrolyses ou des oxydations. Plusieurs autres facteurs influencent leur quantification comme les paramètres environnementaux (place géographique, climat, saison ...etc.), l'espèce, le temps et la température de l'extraction, la nature des solvants, le mode de conservation des extraits et mêmes les facteurs génétiques (Li et al., 2006 ; Lagha-Benamrouche et madani, 2013 ; Aboshora et al., 2014 ; Al-Anbari et Hasan, 2015).

5.3 Antibiogramme :

La mise en évidence de l'activité antibactérienne pour les 3 extraits a été réalisée avec une concentration de $10.000\mu\text{g/ml}$ (soit 100mg/ml) par la méthode de diffusion sur milieu gélosé décrite par Ouelhadj et al., (2014).

Le milieu utilisé est le milieu Mueller Hinton, et le témoin négatif est le DMSO.

Après 24h d'incubation des souches, les zones d'inhibitions apparues sont mesurées et les résultats sont représentés dans le tableau suivant (**Tableau 11**) :

Tableau 11: Tableau représentant les résultat de l'activité antibactérienne des extrait vis-à-vis des souches utilisées.

	Extrait 1 : Eau	Extrait 2 : Eau + Ethanol	Extrait 3 : Ethanol
Bacillus cereus ATCC 14579	–	$9 \pm 0,5$ mm	7 mm
Escherichia coli ATCC 25922	–	–	–
Pseudomonas aerogenosa ATCC 27853	–	–	–
Staphylococcus aureus ATCC 25923	–	$9,5 \pm 0,5$ mm	$7 \pm 0,5$ mm
Enterococcus faecalis WDCM 0009	–	–	–

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Moreira et *al.*, 2005. Ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm

Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm

La plus grande activité antibactérienne est obtenue par l'extrait eau- éthanol, les bactéries y sont sensibles, suivie de l'extrait éthanolique qui montre des faibles activités antibactériennes et en dernier c'est l'extrait aqueux qui ne révèle aucune activité antibactérienne contre *Bacillus sp.* Ces résultats obtenus sont similaires aux résultats obtenus par Jassbi et *al.*, (2012).

Activité des extraits contre *Bacillus cereus* ATCC 14579 :

L'extrait 1 n'a montré aucune activité antibactérienne contre la souche en question. Le même résultat est obtenu par Jassbi et *al.*, (2012) en utilisant l'extrait aqueux de l'algue brune *Sargassum boveamum* sur *Bacillus subtilis*.

L'extrait 2, extrait eau- éthanol, a montré un effet antibactérien contre *Bacillus cereus*, une zone d'inhibition de 9 mm est apparue : la souche y est donc sensible. Jassbi et *al.*, (2012) a aussi obtenu une inhibition de *Bacillus subtilis* par l'extrait eau- éthanol de *C. myrica*.

L'extrait 3 a aussi montré une activité antibactérienne mais moins efficace que l'extrait 2 : la zone d'inhibition est plus petite et représente 7 mm de diamètre. On ne peut donc pas affirmer que la souche y est sensible, du moins, à la concentration étudiée. Jassbi et *al.* (2012) n'a aucune zone d'inhibition en appliquant l'extrait éthanolique de *C. myrica* sur *Bacillus subtilis*.

On déduit ainsi que les résultats obtenus sont presque similaires aux résultats obtenus par Jassbi et *al.*, (2012) : la plus grande activité antibactérienne est obtenue par l'extrait eau- éthanol, suivie de l'extrait éthanolique qui montre des faibles activités antibactériennes et en dernier c'est l'extrait aqueux qui ne révèle aucune activité antibactérienne contre *Bacillus sp.*

Activité des extraits contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

L'extrait aqueux n'a présenté aucun effet antibactérien sur la souche. Contrairement aux résultats de Jassbi et *al.*, (2012) qui démontrent une activité antibactérienne de *S. aureus* PTCC 1112 par le même procédé d'extraction.

L'extrait 2, dans lequel le solvant représente un mélange équivalent de l'eau et de l'éthanol, l'activité antibactérienne s'est révélée moyenne avec un diamètre de 7,25 mm mais qui reste insuffisant pour confirmer que la bactérie est sensible. Jassbi et al, (2012) n'ont aussi pas eu d'inhibition de *S. aureus* PTCC 1112 par l'extrait eau-éthanol (80%) de *C. myrica*.

Les travaux effectués par Sandsdalen et al., 2003, sur l'algue brune *Fucus vesiculosus*, ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*.

L'extrait 3 (l'extrait éthanolique) par contre, a présenté relativement le plus grand effet antibactérien avec 9 mm de diamètre ce qui marque que la bactérie est sensible. Contrairement aux travaux de Jassbi et al, (2012) qui n'ont pas obtenu une activité anti bactérienne pour *S. aureus* avec l'extrait éthanolique des algues brunes *C. myrica* et de *Sargassum boveamum*.

Activité des extraits contre *Enterococcus faecalis* WDCM 0009 :

Dans cette étude, aucun extrait a montré une activité antibactérienne sur la souche d'*E. faecalis* utilisée. La souche est totalement résistante.

Taskin et al, (2007) par contre, ont trouvé une activité antibactérienne remarquable d'une zone d'inhibition de 10 mm par l'extrait méthanolique de *Cystoseira barbata* récoltée de la mer Égée.

Chbani et al, (2011) n'ont aussi pas obtenu aucune inhibition de *E. faecalis* par l'extrait total de l'algue brune *Pavina padonica* des côtes libanaises.

Activité des extraits contre *Escherichia coli* ATCC 25922 :

Dans cette étude, aucun extrait n'a eu une activité antibactérienne contre la souche d'*Escherichia coli* utilisée. Elle est fortement résistante. Jassbi et al (2012) ont eu des résultats identiques pour la souche *E. coli* PTCC 1330 que ce soit avec l'extrait aqueux, éthanolique ou l'extrait eau-éthanol de *Sargassum Bovernum*.

Contrairement aux travaux réalisés par Bennamara et al, (1999) et Pereira et al, (2011) où les extraits de l'algues brune *Cystoseira tamariscifolia* ont montré une activité antibactérienne contre la même bactérie. Taskin et al (2012) ont aussi démontré que l'extrait méthanolique de *Cystoseira barbata* a une forte activité antibactérienne contre *E. coli* et *E. coli* O157 H7 avec des zones d'inhibition de 11 mm et de 22 mm respectivement.

Activité des extraits contre *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853 :

Aucun extrait a montré une activité antibactérienne sur la souche de *P. aerogenosa* testée, Pareil pour l'extrait éthanolique de l'algue verte *Caulerpa racemosa* des côtes algériennes testé sur la même souche (Kettaoui, 2016).

Dans les travaux effectués par Sandsdalen et al, (2003), l'extrait de l'algue brune *Fucus vesiculosus* a montré une activité antibactérienne contre la même bactérie.

Des différents travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries à Gram + par rapport aux Gram – vis-à-vis des extraits des plantes et des algues (Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007 ; Shan et al., 2007 ; Koné et al., 2004 ; Jassbi et al., 2012). Ceci est probablement due à la différence entre les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle à la membrane externe, qui se compose des phospholipides et des protéines et qui est imperméable à la plupart des molécules (Georgantelis et al., 2007).

Plusieurs classes de polyphénols telles que les acides phénoliques et les tannins servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, et les herbivores pathogènes et sont aussi des substances antibactériennes importante (Falleh et al., 2008 ; Shan et al. 2007).

La figure suivante représente les résultats de l'antibiogramme réalisé. **(Fig 26).**

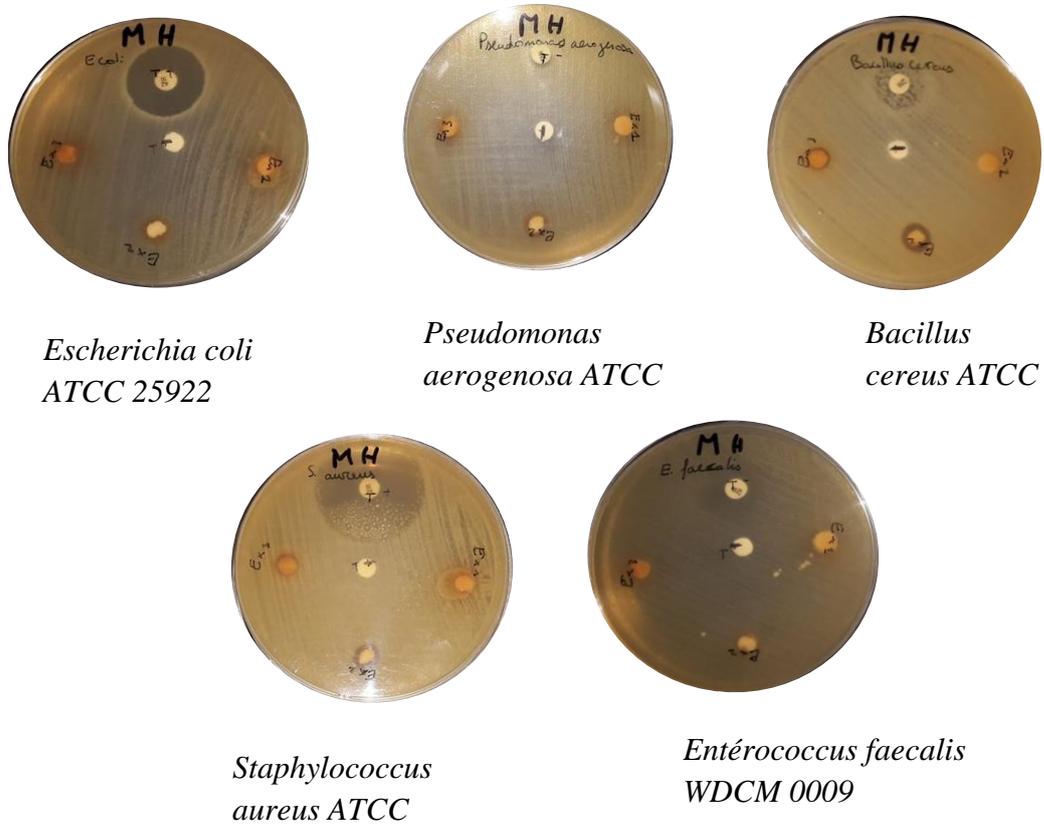


Figure 26: Effets des extraits sur les souches bactériennes.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives :

Ce travail s'est porté sur l'algue brune *Cystoseira sp* de la famille des *Sargassaceae* collectée des côtes Algériennes. Les algues, en Algérie, ne sont que très peu exploitées malgré leur grand intérêt biochimique.

Les résultats obtenus montrent que cette algue brune possède une quantité importante de métabolites secondaires en particulier en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les teneurs révélées diffèrent selon le solvant utilisé lors de l'extraction.

Dans ce travail, trois extractions sont réalisées. Les rendements d'extraction sont variables selon le solvant utilisé, le plus grand rendement est celui obtenu par l'extraction aqueuse, le plus faible est noté pour l'extrait éthanolique et l'extraction par mélange de solvants eau-éthanol (V-V) a donné un rendement relativement moyen.

Concernant les teneurs en métabolites secondaires, notamment les polyphénols totaux et les flavonoïdes, ne dépendent apparemment pas de la quantité du rendement mais de sa qualité qui est influencée du type de solvants : les teneurs les plus élevées sont retrouvées pour l'extrait eau-éthanol, et les plus faibles pour l'extrait éthanolique.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, elle est mise en évidence uniquement pour l'extrait eau-éthanol (extrait qui contient la teneur la plus élevée en biomolécules) contre deux souches gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*). Et aucune inhibition n'a été obtenue sur les bactéries gram négatifs.

En perspectives, une purification de substances biologiquement actives à partir des extraits de *Cystoseira sp* seraient d'intérêts majeurs pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique en Algérie.

De plus, une étude plus approfondie des activités antimicrobiennes et antioxydantes sur d'autres souches, réalisée dans d'autres conditions expérimentales, peut révéler d'autres résultats et ainsi d'autres intérêts pharmaceutiques et médicaux de cette algue.

En fin, l'élargissement du spectre d'étude en comparant les caractéristiques de cette espèce selon différentes zones géographiques et la période de récolte, pourrait révéler des résultats promoteurs pour l'alimentation et la santé humaine.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Ajila. C.M., Brar S.K., Verma. M., Tyagi. R.D., Godbout. S., et Valero, J.R. (2016). Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*. 1 22.

Aminot A. et Chaussepied M., (1983). Manuel des analyses chimiques en milieu marin. *CNEXO.*, 395p.

Ances. (2021). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*. Saisine n°2016-SA-0075, Mars 2021

Augier, H., Boudouresque C.F., (1971). Découverte des cystocarpes de *Feldmannophycus rayssia* (Feld.J. et Feld.G.) nov.gen (Rhodophycées, Gigartinales) Bulletin de la société phytologique, France 16, 25-30.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A. K. M., (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*.

Bate-Smith, E. C. (1954). Leuco-anthocyanins. 1. Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. *Biochemical Journal*, 58, 122-125.

Bennamara, A., Abourriche, A., Berrada, M., Charrouf, M., Chaib, N., Boudouma, M. and Garneau, F. X. (1999). Methoxybifurcarenone: An antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 52, 37-40.

Bigogno, C., et Khozin-Goldberg, I., (2002). Accumulation of arachidonic acid-rich triacylglycerols in the micro-alga *Parietochloris incisa* (*Trebuxiophyceae*, *Chlorophyta*). *Phytochemistry*. 60, 135-143.

Billard, C., (1985) Le complexe nucléoplastidial chez les chromophytes : structure, fonction et intérêt dans une perspective phylogénétique. *Cryptogamie : Algologie VI*, 191-211.

Boizot, N., et Charpentier, J.P., (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA. N°. special.. pp. 79-82.

Bonnaillie. C., Salacs. M., Vassiliova. E., et Saykova. I., (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*). *Revue de Génie Industriel*. 7 : 35-45.

Cabioc'h, J., FJY, (1992) Le Toquin A., Boudouresque C.F., Meinesz A., Verlaque M.. Guide des algues des mers d'Europe : Manche/Atlantique. 1:272.

Chandini SK, Ganesan P, Bhaskar N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chem* 107:707–713.

Chbani. A., Mawlawi. H., Etahiri. S., (2011). Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises. ISSN 1813 548X.

Chen, Y., Lin, H., Li, Z. and Mou, Q. (2015). The antiallergic activity of polyphenol extracted from five marine algae. *Journal of Ocean University of China*, 14, 681-684.

Chisti, Y., (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*. 25, 294-306.

Choi, H., Engene, N., Smith, J. E., Preskin, L. B. and Gerwick, W. H. (2010). Crossbyanols A–D, toxic brominated polyphenyl ethers from the Hawai'ian bloom-forming cyanobacterium *Leptolyngbya crossbyana*. *Journal of Natural Products*, 73, 517-522.

Chojnacka K., Saeid A., Witkowska Z. et Tuhy L., (2012). Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application. *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 20-28.

Coelho, S ., Rijstenbil, J.W., Sousa-Pinto, I., Brown, M.T., (2001) Réponses cellulaires à des niveaux de lumière dans les embryons de *Fucus spiralis* pendant les premiers jours après la fécondation. *Plante, Cellule et environnement* 24 : 801-810

Collén, J., Cornish, M.L., Craigie, J., Ficko-Blean, E., Hervé, C., Krueger-Hadfield, S.A., Leblanc, C., Michel, G., Potin, P., Tonon, T., et al (2014) *Chondrus crispus* – A Present and Historical Model Organism for Red Seaweeds. *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp 53–89

Dantas-Santos, N., Gomes, D. L., Costa, L. S., Cordeiro, S. L., Costa, M. S. S. P., Trindade, E. S., Rocha, H. A. O., (2012) “Freshwater plants synthesize sulfated polysaccharides : heterogalactans from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)”. *International journal of molecular sciences*, 13(1), 961-976.

Davet, P., (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. *Mieux comprendre*. INRA édition. Paris, 61p.

De Franco.P. O., (2009). Étude des glutathion S-transférases chez les algues brunes *Laminaria digitata* et *Ectocarpus siliculosus*. *Génomique, Transcriptomique et Protéomique [q-bio.GN]*. Rennes 1, Français. tel-01110214

De Reviere, B., (2002). Biologie et phylogénie des algues, cours tome 2, Edition Belin n° 003512-01.

Dehpour, A.A., Ibrahimzadeh, M.A., Seyed Fazel, N., et Seyed Mohammad, N., (2009). Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*. Vol. 60pp. 405-412.

Deniaud-Bouët, E., Kervarec, N., Michel, G., Tonon, T., Kloareg, B. and Hervé, C., (2014) "Chemical and enzymatic fractionation of cell walls from Fucales: insights into the structure of the extracellular matrix of brown algae". *Annals of Botany*, **114**, 1203-1216.

Dworkin. M.M., et Falkow. S., (2006). Proteobacteria : Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, 20, p. 1248.

Euzeby, J.P., (2011). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47: 13-17.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb. K., Karray-Bouraoui. N., Trabelsi. N., Boulaaba. M., et Abdelly. C., (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* Vol. 331. pp. 372-379.

Fleurence, J., (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 10, 25-28.

Fraga, M., Prieto, M.A., Simal-Gandara, J., (2020). Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits, *Food Chemistry*.

Franks, F. (1998). Freeze-drying of bioproducts: Putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 45(3), 221–229.

Garon-Lardièrre, S., (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonne maisoniales). Thèse de doctorat en chimie. Fac. Sci. Université de Bretagne occidentale, France. 332p.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. 76: 172-181.

Giada, M. de L. R. (2016). Food Phenolic Compounds : Main classes, sources and their antioxidant power. In Intech (Ed.), *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants* (Vol. i, p. 13).

Gibbs, S. P., (1962). Nuclear envelope-chloroplast relationships in algae..

Grimes S., Boutiba Z., Bakalem A., Bouderbala M., Boudjellal B., Boumaza S., Boutiba M., Guedioura A., Hafferssas A., Hemida F., Kaidi N., Khelifi H., Kerzabi F., Merzoug A., Nouar A., Sellali B., Sellali-Merabtine H., Semroud R., Seridi H., Taleb M.Z. et Touabria T.,(2003). Biodiversité marine et littorale Algérienne. Laboratoire : Réseau de Surveillance Environnementale, Université d'Oran. 362p.

Guillaume, P., (2010) Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes- Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. Sciences agricoles. Université de La Rochelle, France. NNT : 2010LAROS314. tel-00618169

Guiry, W., (2013) In M. D. Guiry, et G. M. Guiry (Eds.), *AlgaeBase*. Galway: World-wide electronic publication, National University of Ireland. <http://www.algaebase.org>.

Hamid N., Ma Q., Boulom S., Liu T., Zheng Z., Balbas J. et Robertson, J., (2015). Chapter 8- Seaweed minor constituents. In : Troy D.J., Ed. *Seaweed Sustainability, food and non-food applications* Academic Press, San Diego, 193-242.

Haslam, E. (1989). Plant Polyphenols - Vegetables and Tannins Revisited. 9th ed. Cambridge University Press. 230 pp.

Hayouni, E.A, Abedrabba, M ., Bouix, M., Hamdi, M., (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 Chem. (in press).

Hervé, C., Siméon, A., Jam, M., Cassin, A., Johnson, K.L., Salmeán, A.A., Willats, W.G.T., Doblin, M.S., Bacic, A. and Kloareg, B., (2016) "Arabinogalactan proteins have deep roots in eukaryotes: identification of genes and epitopes in brown algae and their role in *Fucus serratus* embryo development". *New Phytologist*, **209**, 1428-1441.

Holdt S.-L. et Kraan S., (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Physiology*, **23**: 543-597.

Ishii, T., Okino, T., Suzuki, M., et Machiguchi, Y. (2004). Tichocarpols A and B, two novel phenylpropanoids with feeding-deterrent activity from the reel alga *Tichocarpus crinitus*. *Journal of Natural Products*, 67(10), 1764–1766.

Jassbi, A.R., Mohabati, M., Eslami, S., Sohrabipour, J., Miri, R., (2012). Biological activity and chemical constituents of red and brown algae from the Persian gulf. Medicinal and natural products chemistry research center. Shiraz, Iran.

Jégou, C., (2011). Étude du genre *Cystoseira* des côtes bretonnes : taxinomie, écologie et caractérisation des substances naturelles. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bretagne Occidentale, Français. Tel-01167228

Jett, B.D., Huycke, M.M., et Gilmore, M.S., (1994). Virulence of enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.*7:462-478.

Jimenez-Lopez, C., Pereira, A.G., Lourenço-Lopes, C., Garcia-Oliveira, P., Cassani, L., John, D.M., (1994). Biodiversity and conservation: an algal perspective. *The Phycologist*. 38, 5-15.

Khanbabaee, K., van Ree, T. (2001). Tannins : classification and definition. *Natural product reports*, 18, 641 649.

Koné, W.M., Kamanzi Atindehou, K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M. (2004). Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.* 93: 43-49.

Kosanic, M., Rankovic, B., et Stanojkovic, T., (2015). Biological potential of marine macroalgae of genus *Cystoseira*. *Acta Biologica Hungarica* 66(4). Pp 374-384. Serbia.

Kumar H., Choudary N., Varsha. K.N., Suma N. et Seth. R., (2014).

Lahaye, M., (2001). Developments on gelling algal galactans, their structure and physico-chemistry. *Journal of Applied Phycology.* 13, 173-184.

Lancefield, R. C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.* 57:571-595.

Laplace-Treytore, C., Peltre, M.C., Lambert. E., Rodriguez, S., Vergeon, J.P., Chauvin, C., (2014). Guide pratique de détermination des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes. Les éditions d'irstea, Bordeaux. Cesta, 204p.

Le Lann, K., Jégou, C., et Stiger-Pouvreau, V. (2008). Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: Comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. *Phycological Research*, 56(4), 238–245.

Le Minor, L., (1984). Genus III. Salmonella, In: Krieg N., Holt, J. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1), Williams and Wilkins : Baltimore, 1984, 427-458.

Leclerc, V., et Floc'h, J.Y.,(2010). Les secrets des algues, 1ère Edition. Quae, 13p.

Leslie, G., (2019). Composés phénoliques d'algues brunes bretonnes : de la ressource algale à leur extraction éco-responsable et caractérisation chimique jusqu'à leur formulation en cosmétique. Biologie végétale. Université de Bretagne occidentale - Brest Français. NNT : 2019BRES0016. Tel-03270907

Leveque C., (2008). La biodiversité au quotidien : Le développement durable à l'épreuve des faits. *IRD Editions*, 126p.

Lim, Y. Y., et Murtijaya, J. (2007). Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1664– 1669.

Lobban, C., Harrisson, P., (1994) Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press.

Luning, K ., Neushul, M., (1978) Light and temperature demands for growth and reproduction of Laminarian gametophytes in Southern and Central California. *Marine Biology* 45: 297-309

Mabeau, S., Kloareg, B., (1987) Isolation and Analysis of the Cell Walls of Brown Algae: spiralis, F. ceranoides, F. vesiculosus, F. serratus, *Bifurcaria bifurcata* and *Laminaria Fucus digitata* *Exp Bot* 38:1573–1580.

Maeda-Yamamoto, M. and Tachibana, H. (2012). Antiallergic action of *O*-methylated EGCG in green tea Cultivar benifuuki. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20, 313-317.

Maillard, M. N., et Berset, C. (1995). Evolution of antioxidant activity during Kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of Barley and Malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1789 1793.

Manneville O., et Grenoble, S.U., (2010). Les lichens et algues de nos côtes (surtout

rocheuses).

Matanjun P., Mohamed S., Mustapha N.-M. et Muhammad K., (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, **21**: 75-80

Megran, D. W. (1992). Enterococcal endocarditis. *Clin. Infect. Dis.* 15:63-71.

Mekinić, I. G., Skroza, D., Šimat, V., Hamed, I., Čagalj, M., et Perković, Z. P. (2019). Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*, 9(6), 244. <https://doi.org/10.3390/biom9060244>

Melquiot, P., (2003). 1001 mots et abréviations de l'environnement et du développement durable. *Version 1.1 édition RECYCONSULT*.

Melzer Mark, Petersen Irene. (2007). Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non-ESBL producing *E. coli*. *Journal of Infection* ; 55: 254-259.

Mhadhebi, L., Dellai, A., Clary-Laroche, A., Ben Said, R., Robert, J. and Bouraoui, A. (2012). Anti-inflammatory and antiproliferative activities of *Cystoseira compressa*. *Drug Development Research*, 73, 82-89.

Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005) Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Leaving Water Temperature*, 38: 565-570.

Muanda-Nsemi, F., (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Biologie végétale*. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français. NNT : 2010METZ011S. tel-01752680

Mueller-Harvey, I., (2001). Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 3-20. [https://DOI.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00227-9](https://DOI.org/10.1016/S0377-8401(01)00227-9)

Naegele, E., Naegele, A., (1961). Que sais-je sur les algues. Presses universitaires de France, N° 918.

Nakajima. V.M., Macedo. G.A., et Macedo. J.A., (2014). Citrus bioactive Oilseed Cakes : Effect of Solvents. *Antioxidants*. 3: 67-80.

Oudot-Le Secq, M.P., (2000) Organisation et structure des génomes mitochondriaux des algues brunes *Pylaiella littoralis* et *Laminaria digitata*. *Génomique, Transcriptomique et Protéomique [q-bio.GN]*. Rennes 1., Français. tel-01117839

Ouelhadj, A., Amel, A., Sazine, K., et Djenane, D., (2014). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* récolté en Algérie. *Revue de Microbiologie Industrielle, sanitaire et Environnementale*. 2(8) : 145-162.

Paulsen, I. T., L. Banerjei, G. S. Myers, K. E. Nelson, R. Seshadri, T. D. Read, D. E. Fouts, J. A. Eisen, S. R. Gill, J. F. Heidelberg, H. Tettelin, R. J. Dodson, L. Umayam, L. Brinkac, M. Beanan, S. Daugherty, R. T. DeBoy, S. Durkin, J. Kolonay, R. Madupu, W. Nelson, J. Vamathevan, B. Tran, J. Upton, T. Hansen, J. Shetty, H. Khouri, T. Utterback, D. Radune, K. A. Ketchum, B. A. Dougherty, and C. M. Fraser. (2003). Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Science* 299:2071-2074

Pawankar, R. (2014). Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *World Allergy Organization Journal*, 7, 12.

peel as a source of functional ingredient. *Journal of the Saudi Society of Agricultural*

Percival SL.(2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston , p. 480.

Pereira, D. M., Cheel, J., Areche, C., San-Martin, A., Roviroso, J., Silva, L. R., Valentao, P. and Andrade, P. B. (2011). Anti-proliferative activity of meroditerpenoids isolated from the brown alga *Styopodium flabelliforme* against several cancer cell lines. *Marine Drugs*, 9, 852-862.

Pérez, R., (1997). Ces algues qui nous entourent. In: Arbault, S., Barbaroux, O., Phliponeau, P., Rouxel, C. (Eds.). France, Plouzané, Editions IFREMER, 272 p.

Person, J., (2010). Algues, filières du futur, colloque algues : filières du futur, livre turquoise, Adèbiotech- Romainville. 200pp.

Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(3): 675-682.

Phenolic compounds and their health benefits: A review. *Journal of Food Research and*

phenolics: Role in the obesity treatment. *LWT-Food Science and Technology*. 59: 1205-

polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of*

Popper, Z. A., Michel, G., Hervé, C., Domozych, D. S., Willats, W. G., Tuohy, M. G. et al., (2011) « Evolution and diversity of plant cell walls: from algae to flowering plants ». *Annual review of plant biology*, 62, 567-590.

Pujol C.A., Estevez J.M., Carlucci M.J., Ciancia M., Cerezo A.S. et Damonte E.B., (2002). Novel DL-galactan hybrids from the red seaweed *Gymnogongrus torulosus* are potent

inhibitors of herpes simplex virus and dengue virus. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, **132**: 83-89.

Quideau, S., (2009). Chemistry and Biology of Ellagitannins, An Underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols; World Scientific Publishing.

Quinet B, Mitanchez D, Salauze B, Carbonne A, Bingen E, Fournier S, Moissenet D, Vu-Thien H. (2010). Description et investigation d'une épidémie nosocomiale de colonisations et d'infections à *Escherichia coli* producteur d'une bêta-lactamase à spectre étendu dans un service de néonatalogie. *Archives de Pédiatrie*; 17:S145-S149.

Rafiq. S., Kaul. R , Sofi. S.A., Bashir. N., Nazir. F., et Naik. G.A., (2016). Citrus

Ramade, A., (2009). Eléments d'écologie appliquée. Dunod, 4ème Edition Paris, France. 689pp.

Ribereau. G. P., (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Editions Dunod*, Paris. P 254.

Ribereau-Gayon J., Peynaud M., Ribereau-Gayon. P., et Sudraud. P., (1972). Sciences et techniques du vin. Tome1, analyse et contrôle des vins. *Edition Dunod*, Paris. p671.

Richardson J. E., Fay M. F., Cronk Q. C. B., Bowman D. and Chase M. W. A. (2000). phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trnL-F plastid DNA sequences. *Am. J. Bot* ;87: 1309-1324.

Rira. M., (2019). Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *Agronomie*. Université Clermont Auvergne, Français. NNT : 2019CLFAC065. tel-02861917

Rocha, D., Seca, A. and Pinto, D. (2018). Seaweed secondary metabolites *in vitro* and *in vivo* anticancer activity. *Marine Drugs*, 16, 410.

Roland, J.C., El Maarouf Boureau,.H., Boureau F., (1999) Atlas biologie végétale : organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons, 7ém édition Dunod, Paris. 139 pp.

Ruiz, G., (2005). Extraction, Détermination structurale et valorisation chimique de Phycocolloïdes d'Algues rouges. *Thèse de doctorat en chimie appliquée-chimie des Substances Naturelles, université de limoges*, Ecole Doctorale. Sciences-technologie-santé, 229p.

Salmeán, A.A., Duffieux, D., Harholt, J., Qin, F., Michel, G., Czjzek, M., et al., (2017) "Insoluble (1→ 3),(1→ 4)-β-D-glucan is a component of cell walls in brown algae (Phaeophyceae) and is masked by alginates in tissues". *Scientific Reports*, 7.

Sánchez-Machado D.-I., López-Cervantes J., López-Hernández J. et Paseiro-Losada P., (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, **85**: 439- 444.

Sandsdalen, E., Haug, T., Stenvag, K. and Styrvold, O. (2003). The antibacterial effect of a polyhydroxylated fucophlorethol from the marine brown alga, *Fucus vesiculosus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *19*, 777-782.

Saunders, G.W., et Hommersand, M.H., (2004) Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *Am J Bot* **91**: 1494–1507

Scalbert, A., (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, *30*, 3875-3883. [https://DOI.org/10.1016/0031-9422\(91\)83426-L](https://DOI.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L)
Sciences. *30* : 1-8.

Seitzinger, S.P, Kroeze, C., Styles, R.V., (2000). Global distribution of N₂O emissions from aquatic systems: Natural emissions and anthropogenic effects. *Chemosphere: Global Change Science*, *2*, 267–279.

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007) The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology*. *117*:112- 119.

Shim, S. Y., Quang-To, L., Lee, S. H. and Kim, S. K. (2009). *Ecklonia cava* extract suppresses the high affinity IgE 319 receptor, F epsilonRI expression. *Food and Chemical Toxicology*, *47*, 555-560.

Silberfeld, T., Rousseau, F., De Reviers, B. D., (2014) “An updated classification of brown algae (Ochrophyta, Phaeophyceae)”. *Cryptogamie, Algologie*, **35(2)**, 117-156.

Silva Pinto, M., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, *107*, 1629-1635. <https://DOI.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.038>

Simeon, A., (2018) Localisations et rôles des polysaccharides de paroi au cours du développement de deux modèles d’algues brunes : le zygote de *Fucus* et *Ectocarpus*. *Biologie végétale*. Sorbonne Université, Français. NNT : 2018SORUS233. tel-02479684

Singh, A., Holvoet, S. and Mercenier, A. (2011). Dietary polyphenols in the prevention and treatment of allergic diseases: Polyphenols alleviate allergic inflammation. *Clinical and Experimental Allergy*, *41*, 1346-1359.

Singleton. V.L. et Rossi. J.A., (1965). Indice de Folin, polyphénols totaux. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16:144-158.

Singleton. V.L., Orthoffer. R., et Lamuela-Raventos. R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.

Stanković. M.S., (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum L.* extracts. *Kragujevac. Journal of Science*. 33: 63-72.

Sugiura, Y., Takeuchi, Y., Kakinuma, M. and Amano, H. (2006). Inhibitory effects of seaweeds on histamine release from rat basophile leukemia cells (RBL-2H3). *Fisheries Science*, 72, 1286-1291.

Taskin. E., Ozturk. M., Taskin. E., Kurt. O., (2007). Antibacterial activities of some marine algae from the aegean sea (Turkey). *African journal of biotechnology* Vol 6 (24). Pp . 2746 2751.

Technology. 2(2): 46-59.

Teh. S.S., Bekhit. A.E., et Birch. J., (2014). Antioxidative Polyphenols from Defatted

Tierney M.-S., Croft A.-K. et Hayes M., (2010). A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina*, **53**: 387-408.

Tsimogiannis, D., et Oreopoulou, V. (2019). Classification of Phenolic Compounds in Plants. In *Polyphenols in Plants* (pp. 263–284). Elsevier Inc.

Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007) Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. 12:484-496.

Van Delden C. and Iglewski B. H. (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis*; 4: 551-5

Vermerris, W., et Nicholson, R. (2006). Phenolic compound biochemistry. *Phenolic Compound Biochemistry*

Whistler, R., et Bemiller, J., (1993). Industrial gums Polysaccharides and their derivatives (3rd edition). Whistler, R., et Bemiller, J., (Eds). United Kingdom, London, Academic Press, 642p.

Wijesinghe, W.A.J.P, JYJ. (2011) Biological activities and potential cosmeceutical applications of bioactive components from brown seaweeds: a review *Phytochemistry Reviews* 10:431-443.

Wissam. Z, Ghada. B., Wassim. A., et Warid. K., (2012). Effective extraction of

Wong, K., et Chikeung Cheung, P. (2001). Influence of drying treatment on three *Sargassum* species. Protein extractability, *in vitro* protein digestibility and amino acid profile of protein concentrates. *Journal of Applied Phycology*, 13(1), 51–58.

Yegdaneh. A., Ghannadi. A., Dayani. L., (2016). Chemical constituents and biological activity of two iranian *Cystoseira* species. Isfahan University of medical sciences. Iran.

Zellal, A., (2012). La croissance et le développement d'une Rhodophyte agarophyte *Geldium sesquipedale* de la côte rocheuse de Mostaganem : étude préliminaire. Mémoire de magistère en biotechnologie, Université d'oran Algérie.

Zitouni, H., (2015). Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine, 161 p.

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

ANNEXES

ANNEXE I : MILIEUX DE CULTURE UTILISES

Milieux liquides :

Eau physiologique stérile (Composition en g/l)

Chlorure de sodium (NaCl).....9g

Eau distillée.....1000ml

pH= 7

Préparation : 9g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 mn.

Bouillon Coeur-Cervele (Composition en g/l)

Infusion de cerveau de veau.....200g

Infusion de coeur de vache.....250g

Peptone pancréatique de gélatine.....10g

Na Cl.....5g

Phosphate disodique.....2,5g

Dextrose.....2,5g

Ph=7,4 ± 0.2

Préparation : : 37g par litre d'eau distillée. Bien agité puis stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. (Fig 27).



Figure 27: Préparation du milieu BHIB

Milieux solides :

Muller Hinton (Composition en g/l)

Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Infusion de viande.....	300g
Amidon soluble.....	1,5g
Agar bactériologique.....	17g

Ph = 7,3 ± 0.1

Préparation : : 38g par litre d'eau distillée. Préchauffé en bain marie pendant 30 minutes. Puis stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Bouillon Cœur-Cervele gélosé (BHI) :

Infusion de cerveau de veau.....	200g
Infusion de coeur de vache.....	250g
Peptone pancréatique de gélatine.....	10g
Na Cl.....	5g
Phosphate disodique.....	2,5g
Dextrose.....	2,5g
Agar	13,5g

Ph=7,4 ± 0.2

Préparation : 38g par litre d'eau distillée. Préchauffé en bain marie pendant 30 minutes. Puis stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. (**Fig 28**)



Figure 28: Milieux gélosés préparés.

ANNEXE II : SOUCHES BACTERIENNES UTILISEES.

Escherichia coli :

Caractéristiques :

Les *Escherichia coli* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elles sont des bacilles à coloration Gram négative, aéro-anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates. Ces bactéries ne possèdent pas d'oxydase et elles sont catalase positives. (Le Minor *et al.*, 1990). Elles font parties de la flore commensale de l'Homme et de plusieurs animaux. (Euzéby, 2011).

Pouvoir pathogène :

Escherichia coli est à l'origine d'infections communautaires et hospitalières, Elle est une cause fréquente de bactériémie. Elle provoque 40 à 50% de toutes les infections nosocomiales. (Melzer et Petersen, 2007). C'est l'un des germes le plus fréquent des infections néonatales notamment les méningites ou les septicémies. (Quinet *et al.*, 2010).

Bacillus cereus :

Caractéristiques :

Bacillus cereus, comme indique leur nom, sont des bacilles à coloration de Gram positive, qui appartient à la famille des *Bacillaceae*. Elles sont sporulantes et aéro-anaérobie facultatives. Elles possèdent des capacités d'adaptation thermique différentes, des plus psychrotrophes aux plus thermotolérants. (Ances, 2021).

Pouvoir pathogène :

Elles sont d'un grand pouvoir pathogène, elles provoquent des toxi-infection alimentaires caractérisées par des symptômes diarrhéiques, ainsi que d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques en sécrétant des entéro-toxines. (Ances, 2021).

Staphylocoques aureus :

Caractéristiques :

Les staphylocoques sont des coques immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas (du grec staphylo, grappe de raisin), à un diamètre moyen 0.8 à 1µm à gram positif. La grande majorité des souches de *Staphylococcus aureus* sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture. Les principaux caractères biochimiques pris en compte sont, la production d'arginine dihydrolase, la capacité à métaboliser les sucres et la production de catalase. (Jean Paul, 2010)

Le pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, d'intoxications alimentaires et endocardite aigue. (Dworkin et Falkow, 2006).

L'espèce *Enterococcus faecalis* :

Caractéristiques :

Les entérocoques sont des bactéries, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes à Gram positif, oxydase et catalase négatives, ce sont des organismes anaérobies aérotolérants, (Paulsen *et al.*,2003).

Les entérocoques ont une température de croissance optimale de 35 °C bien que la plupart des espèces de ce genre peuvent croître à des températures allant de 10 à 45 °C. Ils peuvent aussi croître en présence de 6,5 % de NaCl, et à pH 9,6. (Lancefield,1933).

Le pouvoir pathogène :

Les entérocoques sont une des causes majeures d'infections nosocomiales. Ils sont parmi les agents pathogènes nosocomiaux les plus communs, et responsables d'infections urinaires ou intra-abdominales, de septicémies, d'abcès viscéraux, de pneumonies, d'endocardites et de méningites. (Jett *et al.*,1994, Megran,1992). *Enterococcus* est aussi l'agent le plus souvent cité lors d'infections de plaies chirurgicales. (Richards *et al.*,2000).

***Pseudomonas aeruginosa* :**

Caractéristiques :

P. aeruginosa est plus communément appelé bacille pyocyanique. C'est un bacille à Gram négatif, non sporulé et rendu mobile, surtout anaérobiose, par une ciliature polaire. Elle se présente sous forme de bâtonnets droits, de 1 à 3 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large.

C'est une bactérie avec un métabolisme strictement respiratoire. Cette espèce produit de façon habituelle deux pigments : la pyocyanine (caractère spécifique de l'espèce) et la pyoverdine (caractère spécifique du groupe génomique fluorescent). On remarque la production d'un voile fragile visqueux et peu épais à la surface des milieux liquides avec une odeur aromatique caractéristique (odeur de seringa). (Percival, 2004).

Le pouvoir pathogène :

Les infections dues à *Pseudomonas aeruginosa* peuvent toucher n'importe quel système ou partie du corps :

- Les yeux au niveau de la cornée par des kératites, des conjonctivites pouvant aller jusqu'à la perte complète de l'œil.
- Le système nerveux central par des méningites.
- Les oreilles par des otites.

Annexes

- L'appareil digestif avec des gastro-entérites.
- Les infections de l'appareil urinaire sont le plus souvent dues à l'instrumentation en milieu hospitalier ;
- L'appareil respiratoire en causant des pneumonies ;
- Le cœur avec des endocardites ;
- La peau semble être la plus fréquemment affectée par les infections pseudomonales au travers des dermatites et plus particulièrement les folliculites. (Van Delden et Iglewski, 1998).

La figure suivante représente les souches bactériennes utilisées. (Fig29)



Entérocooccus faecalis WDCM 0009



Staphylococcus aureus ATCC 25923



Pseudomonas aerogenosa ATCC



Escherichia coli ATCC 25922



Bacillus cereus ATCC 14579

Figure 29: Souches bactériennes utilisées.