



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
قسم العلوم البيولوجية
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et Conservation des Ecosystèmes

Thème

Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de
l'algue marine *Sphaerococcus coronopifolius*

Présenté par : Arab Baya
Benkherouf salma
Hallag rebiha

Devant le jury :

Président :	M ^r DJENIDI R.	Professeur	(Université de BBA)
Encadrant :	M ^{me} FELLAH F.	MAA	(Université de BBA)
Examineur :	M ^r DIAFAT A.	MCA	(Université de BBA)

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah tout puissant de nous avoir donné le courage,

La force, la volonté et la patience de réaliser ce travail.

*Nous remercions le **Professeur DJENIDI R.** pour avoir accepté de présider le Jury.*

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadreur **Mme FELLAH F.** Maitre-Assistant Classe A, qui a accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous la remercions pour sa patience, son aide très précieuse et ses corrections sérieuses.*

*Un grand merci à **Monsieur DIAFAT A.** Maitre de Conférence Classe A, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont au professeur **DJENIDI R.** pour sa contribution dans la correction de ce modeste travail.*

Nous tenons également à remercier tous les étudiants de notre promotion (2016-2017).

Un grand merci à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers et particulièrement nos enseignants de spécialité Biodiversité et conservation des écosystèmes.

*Nos remerciements vont également à tous les techniciens du laboratoire de Phytopathologie et précisément **Monsieur MAKHOUK N.** responsable des laboratoires de notre faculté.*

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

L'extraction des composés phénoliques de l'algue marine *Sphaerococcus coronopifolius* a été étudiée. Les effets de la nature du solvant (acétone, éthanol, méthanol et eau distillée), de la concentration du solvants (50%), du rapport solide/solvant (0.1/10, 0.2/10, 0.4/10, 0.6/10 g/ml), du temps d'extraction en min (30, 60, 90, 120 et 150 min) et de la température (°C) (25, 40, 50, 70, et 90°C) sur l'extraction des composés phénoliques des extraits ont été évalués. La teneur en polyphénols totaux (PPT) a été déterminée afin d'optimiser les meilleures conditions d'extraction.

D'après nos résultats, les meilleures conditions d'extraction sont : l'eau distillée, 0,1g/10 ml, 40°C, 60 min pour le carbonate de sodium et 120 min pour le bicarbonate de soude.

Mots-clés: Algue rouge ; *Sphaerococcus coronopifolius* ; Conditions d'extraction; Composés phénoliques ; Carbonate de soude ; Bicarbonate de soude.

Abstract:

The extraction of phenolic compounds from marine algae *Sphaerococcus coronopifolius* was studied. The effects of the solvent nature (acetone, ethanol, methanol and distilled water), solvent concentration (50%), solvent ratio / solvent (0.1 / 10, 0.2 / 10, 0.4 / 10, 0.6 / 10 g / ml), extraction time in min (30, 60, 90, 120 and 150 min) and temperature

(° C) (25, 40, 50, 70, and 90 ° C) on extraction of phenolic compounds from extracts were evaluated. The total polyphenol content (PPT) was determined in order to optimize the best extraction conditions. According to our results, the best extraction conditions are: distilled water, 0.1 g / 10 ml, 40 ° C., 60 minutes for sodium carbonate and 120 minutes for sodium bicarbonate.

Keywords: Red algae; *Sphaerococcus coronopifolius*; Extraction conditions; Phenolic compounds; Carbonate of soda; Baking soda.

ملخص:

تم القيام بدراسة استخراج المركبات الفينولية من الطحلب البحري *Sphaerococcus coronopifolius*. تم تقييم الآثار المترتبة على طبيعة المذيب (الأسيتون، والإيثانول والميثانول والماء المقطر)، وتركيز المذيب (50٪) من العلاقة الصلبة / نسبة المذيبات (0.1 / 0.2 / 0.4 / 0.6 / 10 ز / مل)، ووقت الاستخراج (30، 60، 90، 120 و 150 دقيقة) ودرجة الحرارة (25، 40، 50، 70، و 90 درجة س) على استخراج المركبات الفينولية للمستخلصات. وتم تحديد إجمالي محتوى البوليفينول (PPT) من أجل تحسين ظروف استخراج أفضل. وفقا لنتائجنا، فإن أفضل شروط استخراج هي: الماء المقطر، 0.1 غ / 10 مل، 40 ° س، 60 دقيقة لكاربونات الصوديوم، و 120 دقيقة لبيكربونات الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: علق أحمر؛ سفاروكوكوسكورونوفوليوس؛ شروط الإستخراج، مركبات الفينوليك؛ كاربونات الصوديوم؛ بيكربونات الصوديوم.

Atm: Atmosphère

B: Buaya

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane

Cm: Centimètre

CO₂: Dioxyde carbone

EAG: Equivalent d'acide gallique

ERO: Espèce réactives de l'oxygène

G: Giant

Kg : Kilogramme

Kj: Kilojoule

Km: kilomètre

M: Mètre

Min: Minute

µm : Micro mètre

ML : millilitre :

MS: Matière sèche

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

PC: Pression critique

PPT: Poly phénols totaux

Liste d'abréviation

ROS: Reactive Oxygen Species= Espèces réactives de l'oxygène

SD: Ecarte type

TC: Température critique

TPC: Capacité antioxydante totale

W: Wakame

Wi: Wakame-instant

Liste de figures

Figure 01. Le stress oxydant	9
Figure 02. Photographie de <i>S.coronopifolius</i>	19
Figure 03. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (en utilisant le Carbonate de sodium).....	22
Figure 04. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (en utilisant Bicarbonate de sodium).....	22
Figure 05. Comparaison des teneurs en polyphénols totaux entre le carbonate et le bicarbonate de soude.....	23
Figure 06. Dosage des polyphénols totaux par fixation de solvant dans le protocole d'extraction (cas d'un carbonate de sodium).....	24
Figure 07. Fixation de quantité de poudre (cas d'un carbonate de sodium)	25
Figure 08. Fixation de temps d'extraction (cas d'un carbonate de sodium)	26
Figure 09. Fixation de la température (cas d'un carbonate de sodium).....	26
Figure 10. Fixation de solvant (cas d'un bicarbonate de sodium).....	27
Figure 11. Fixation de la quantité de poudre (cas d'un bicarbonate de sodium).....	28
Figure 12. Fixation de temps d'extraction (cas d'un bicarbonate de sodium).....	29
Figure 13. Fixation de température (cas d'un bicarbonate de sodium)	29

Sommaire

Remerciements

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction.....1

Chapitre I: GENERALITES SUR LES ALGUES MARINES.

I.1. Généralités sur les algues.....3

I.1.1. Définition3

I.1.2. Classification.....3

I.1.3. Conditions de vie des algues.....5

I.1.4. Mode de reproduction des algues.....6

I.1.5. Composition chimique des algues.....6

I.1.6. Utilisations des algues.....7

I.1.7. Caractéristiques de l'espèce étudiée (*Sphaerococcus coronopifolius*).....7

I.2. Stress oxydatif et antioxydants.....9

I.2.1. Stress oxydatif.....9

I.2.2. Les antioxydants.....9

I.2.3. Mécanisme d'action d'un antioxydant.....11

I.2.4. Utilisations des antioxydants11

I.3. Les méthodes d'extraction13

I.3.1. Méthodes d'extraction traditionnelles.....13

I.3.2. Méthodes d'extraction modernes14

Chapitre II: MATERIEL ET METHODES

II.1. Collecte et extraction de <i>S. coronopifolius</i>	19
II.2. Mode opératoire.....	20
II.2.1. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols.....	20
II.2.2. Protocole d'extraction de base.....	20
II.2.2. Analyses quantitatives.....	20

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS.....	22
III.1.1. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	22
III.1.2. Comparaison entre le Carbonate et le Bicarbonate.....	23
III.1.2. Cas du Carbonate de sodium.....	23
III.1.2.1. Choix du solvant d'extraction	23
III.1.2.2. Rapport solide/liquide.....	24
III.1.2.3. Temps d'extraction.....	25
III.1.2.4. Température.....	26
III.1.3. Cas du Bicarbonate de sodium.....	27
III.1.3.1. Choix du solvant d'extraction	27
III.1.3.2. Rapport solide/liquide.....	28
III.1.3.3. Temps d'extraction	29
III.1.3.4. Température d'extraction.....	29
III.2. DISCUSSION	31

Conclusion générale et perspectives

Références bibliographiques

Introduction

Les algues marines sont utilisées dans le monde depuis des millénaires par les populations littorales pour leurs hautes valeurs nutritives. Elles ont des potentialités nutritionnelles très riches qui se justifient par la présence d'une fraction minérale variée et abondante, qui constitue un apport important de macroéléments et oligoéléments, des protéines en quantités non négligeables, en général bien équilibrées en acides aminés, un contenu vitaminique varié où la plupart des vitamines sont représentées, une fraction lipidique faible mais, cependant, dans certaines espèces riche en acides gras polyinsaturés et un contenu en fibres ayant des structures variées et originales différentes des fibres des végétaux terrestres (**Zitouni, 2015**).

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants. Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore de petits métabolites de nature phénolique (**Deslandes et al., 2000**) ou terpénique (**Fleury et al., 1994; Ravi et al., 1982**).

Les activités décrites et associées aux algues marines sont très diverses: antimicrobiennes (**Etahiri et al., 2007**) anti-malariales (**Wright et al., 1997**) anti oxydantes (**Etahiri et al., 2001 ; Zubia et al., 2007**), anti-inflammatoires et cytotoxiques (**Ktari et Guyot, 1999**), antivirales (**Cacamesse et al., 1980**) ainsi que d'autres activités.

L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux (**Tebbal, 2011**). Les premières études remontent à la fin du 19ème siècle auxquelles se sont ajoutées celles de **Perret-Boudouresque et Séridi (1989)**. En regroupant tous les taxons et stades d'algues signalés sur les côtes Algériennes (d'Ouest en Est), plus de 468 taxons ont été inventoriés à partir de la compilation des travaux anciens et récents sur la communauté algale de l'Algérie. Selon **Séridi (2007)**, la flore algale de l'Algérie reste peu étudiée. En adoptant la méthode phytosociologique, cet auteur signale que le nombre d'algues a légèrement augmenté (497 espèces). Cependant, ces travaux algologiques sont essentiellement de type inventaire floristique. D'autres études orientées sur l'aspect écologique ont été réalisées par **Ould Ahmed (1994)** dans la région d'Arzew et par **Kadari (1994)** dans la baie de Bou-Ismaïl. Par ailleurs, des contributions d'ordre chimique ont porté sur l'extraction et la purification des alginates chez *Cystoseira sp.*

des côtes algériennes (**Benchabanne 1988; 1989**) et sur la détermination des stérols d'une algue rouge (**El Hattab-Méziane, 2003**).

C'est dans cette optique que s'inscrit l'objectif de notre travail qui vise à valoriser la flore algale en Algérie et nous avons choisi comme espèce *Sphaerococcus coronopifolius* qui est largement présente dans la côte de Bejaia en étudiant les meilleures conditions d'extraction des polyphénols.

- Le présent travail est organisé en trois chapitres :
- Une revue bibliographique, objet du premier chapitre, a été réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les algues et leur pouvoir antioxydant ;
 - Le deuxième chapitre de notre étude, illustre le matériel biologique et les méthodes et techniques utilisés ;
 - Dans le troisième chapitre, les résultats sont exposés et discutés en les comparant à ceux publiés dans la littérature scientifique internationale.
 - L'étude s'achève par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir.

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. GENERALITES SUR LES ALGUES MARINES

1.1.1. Définition

Les Algues, ou *Phycophytes*(du grec *phukos*= algue ; *phuton*= plante), sont des Thallophytes chlorophylliens(**Jean-claude et al.,2008**).

Les algues sont des organismes photosynthétiques que l'on trouve dans les milieux aquatiques d'eau douce ou marine (**Garon-Lardiere, 2004**) dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé thalle. Celui-ci contient une structure à sa base (rhizoïdes, crampons, disques...) permettant l'ancrage de l'algue sur un support: une roche (algues épilithes), ou une plante (algues épiphytes), ou un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable (**Zitouni, 2015**). Leur taille varie du micromètre à plusieurs dizaines de mètres pour certaines algues. Près de 30000 espèces d'algues ont été répertoriées jusqu'ici (**Faller, 2011**).

Les algues peuvent néanmoins être classées en une dizaine d'Embranchements selon des critères basés sur leurs compositions pigmentaires, leurs polysaccharides de réserve ou leurs caractéristiques structurales(**Nil, 2011**). Depuis les années 1830, on a classé les algues en groupes principaux basés sur leur couleur (rouge, verte, brune), un pigment accessoire impliqué dans la photosynthèse pouvant masquer le vert de la chlorophylle (**Gerald, 2015**).

1.1.2. Classification

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture. En effet, les algues sont un groupe d'organismes très diversifiés qui varient en forme et en grosseur : unicellulaire, pluricellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplastes (**Kardache et Khoualdi, 2016**).

1.1.2.1. Les algues vertes (Chlorophycées)

Elles appartiennent à un vaste ensemble, les chlorobionta (organismes verts). Les chlorobionta contiennent deux infra-règnes : les chlorophyta, qui incluent les algues vertes marines et une grande partie des algues d'eau douce et aériennes, et les streptophyta, qui comprennent des algues d'eau douce aériennes mais aussi des embryophyta (**De Reviers, 2002**).

1.1.2.2. Les algues brunes (Phéophycées)

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Zitouni, 2015**).

1.1.2.3. Les algues rouges (Rhodophycées)

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, laphycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon-Lardiere, 2004**).

1.1.2.4. Les algues bleues (Cyanobactéries)

Ces organismes unicellulaires ou pluricellulaires, ont longtemps été inclus dans les algues et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et de leur coloration bleu-vert. Il est actuellement admis que leur ultrastructure de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de cyanobactéries qui leur est désormais appliqué. Ce sont des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l'œil nu, soit des populations très importantes formant des « fleurs d'eau » exploitées depuis longtemps dans certaines régions (Spirulines du Tchad ou Mexique

(**Hireche et Lalami, 2016**).

1.1.3. Conditions de vie des algues

1.1.3.1. La lumière

La lumière intervient sur l'algue de diverses façons: par l'intensité lumineuse, par la nature des radiations et par la durée des périodes de luminosité et d'obscurité. La quantité et la qualité de l'algue dépend de la pénétration de la lumière dans les masses d'eau. Elle peut favoriser ou freiner son développement. Les algues détiennent des pigments différant selon les espèces, qui interviennent dans la capture de la lumière. Elles ne font pas toutes le même usage des radiations lumineuses: certaines recherchent beaucoup de lumière et d'autres peu **(Kardache et Khoualdi, 2016)**.

1.1.3.2. Le substrat

Les algues n'ont pas de racines et ne peuvent donc tirer aucune nourriture de leur support. Les éléments nutritifs viennent du milieu qui les baigne. Néanmoins, le substrat ou support joue un rôle par sa nature et ses caractéristiques et déterminera l'espèce qui viendra s'y fixer. Les roches calcaires par exemple, sont envahies par les algues perforantes microscopiques, ce qui leur confère une coloration spécifique. A l'inverse, certaines autres espèces fuiront le substrat calcaire. **(Kardache et Khoualdi, 2016)**.

En outre, le support peut être en eau profonde ou peu profonde comme sur les rochers, les constructions portuaires, les bouées ou les coques de bateaux. Elles peuvent aussi se développer sur un organisme vivant animal ou végétal **(Kardache et Khoualdi, 2016)**.

1.1.3.3. Les facteurs hydrodynamiques

Les vagues, les courants et les marées créent une agitation de l'eau de laquelle dépendent les réactions des algues. Ainsi, chaque espèce supporte différemment ces facteurs hydrodynamiques. Ceux-là agissent donc sur la composition des peuplements d'algues **(Kardache et Khoualdi, 2016)**.

1.1.3.4. La température

Elle agit sur le système métabolique et reproducteur de l'algue. C'est alors que des variations de température peuvent agir sur la dispersion ou la régression des peuplements **(Kardache et Khoualdi, 2016)**.

1.1.3.5. La salinité de l'eau

La salinité agit de deux façons sur l'algue: soit par dissolution du sel dans l'eau, soit par la concentration du sel dans l'eau. Ces modifications temporaires ou permanentes peuvent incommoder la vie de l'algue. Les zones à salinité variable limitent l'adaptation des algues. Cette instabilité intervient sur le métabolisme, le perturbe à tel point parfois qu'elle entraîne une élimination des espèces. Seules les algues vertes réussissent à s'adapter (**Kardache et Khoualdi, 2016**).

1.1.4. Mode de reproduction des algues

Deux modalités de reproduction existent chez les algues : la reproduction asexuée (ou multiplication végétative) et la reproduction sexuée qui met en jeu l'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle. Chez certains taxons (Cyanobactéries ou algues bleus), le mode asexué est le seul connu ; chez d'autres, il coexiste avec la reproduction sexuée, notamment chez les Characées pour lesquelles ce dernier mode est prépondérant (**Kardache et Khoualdi, 2016**).

1.1.5. Composition chimique des algues

Les algues marines ont une grande valeur biologique due à leurs richesses en:

- **Fibres:** de 33 à 61% (**Lahaye, 1991**).
- **Calcium:** les algues sont une source abondante de calcium qui peut aller jusqu'à 34% de la matière sèche (**Frestedt et al., 2008**).
- **Vitamines B12** à des teneurs assez importantes, contrairement aux plantes terrestres (**Watanabe et al., 1999**).
- **Iode:** la teneur en iode des algues brunes est exceptionnelle et peut atteindre jusqu'à 14296 mg/kg de matière sèche (**Maro et al., 1999**).
- **Protéines:** Les phycobiliprotéines sont les principaux pigments des algues rouges (phycoérythrine) et bleues (Phycocyanines). Elles possèdent des propriétés antioxydants utilisées dans le traitement de certains cancers et maladies inflammatoires liées au stress oxydatif (**Gonzalez et al., 1999 ; Padula et Boiteux, 1999 ; Ramirez et al., 1999**).
- **Polyphénols:** appelés phlorotannins chez les algues, ils sont présents surtout dans les phéophycées et montrent une activité antioxydant dans les tests *in vitro* (**Shibata et al., 2008**).
- **Caroténoïdes:** sont des puissants antioxydants. Les algues brunes en sont riches en plus des fucoxanthine, β -carotène et violaxanthine. De nombreuses études ont montré

l'activité antioxydant des caroténoïdes et leurs effets préventifs contre les pathologies liées au stress oxydatif (Yan et al., 1999).

1.1.6. Utilisations des algues

Il existe plusieurs domaines économiques qui font appel à des algues ou à des phycocolloïdes. Elles présentent actuellement une source nutritionnelle et un produit à valeur montante, surtout en Asie où elles sont utilisées directement comme aliments, ou indirectement surtout par l'industrie de phycocolloïdes (agars et alginates). Elles sont utilisées en agriculture comme engrais et fourrage, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, dans le textile, et dans bien d'autres domaines (Kardache et khoualdi, 2016).

1.1.7. Caractéristiques de l'espèce étudiée (*Sphaerococcus coronopifolius*)

- **Position systématique**
 - **Embranchement** : *Rhodobionta / Rhodophyta*
 - **Sous-embranchement** : *Eurhodophytina*
 - **Classe** : *Florideophyceae*
 - **Sous-classe** : *Rhodymeniophycidae*
 - **Ordre** : *Gigartinales*
 - **Famille** : *Sphaerococcaceae*
 - **Genre** : *Sphaerococcus*
 - **Espèce** : *coronopifolius*

- **Morphologie** : Thalle rouge vif, cartilagineux, très ramifié; les axes principaux sont aplatis, ramifiés de façon pseudodichotome à irrégulière; les rameaux de dernier ordre portent de petite ramules épineuses. La taille commune est de 20 à 25 cm (Fischer et al., 1987)

- **Structure** : Uniaxiale. En coupe transversale, l'axe central est entouré d'hyphes réfringentes abondantes engendrées par les cellules péricentrales peu discernables (Fischer et al., 1987).

- **Reproduction** : Cycle trigénétique avec gamétophyte et tétra sporophyte isomorphe. Les tétrasporocystes (zonés) sont disséminés dans le cortex du thalle; les cystoscopes, très proéminents, sont portés par de petites proliférations marginales des ramules (Fischer et al., 1987).

- **Habitat et écologie** : Colonise les substrats durs des étages infra- et circa-littoral, à une profondeur de 1 à 60 m ((Fischer et al., 1987).

- **Récolte et utilisation** : Récoltée à la main pour une utilisation potentielle médicale si on se réfère à son exploitation en Chine (**Fischer et al., 1987**).

I.2. STRESS OXYDATIF ET ANTIOXYDANTS

I.2.1. Stress oxydatif

Des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (**Fig. 01**). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Christophe et Christophe, 2011; Papazian et Roch, 2008**).

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, comme l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (**Poirier, 2004 ; Médart, 2009**).

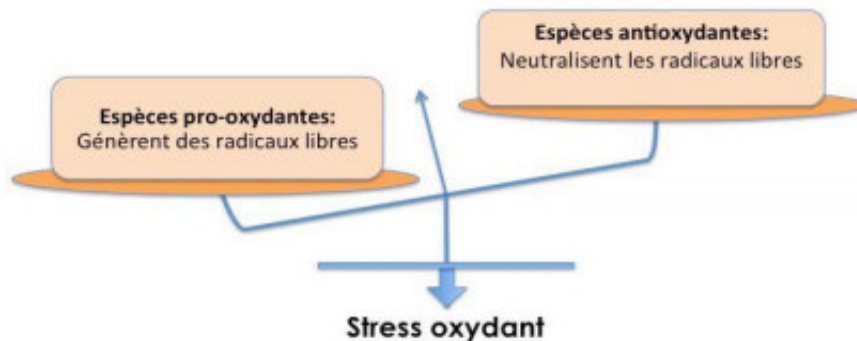


Figure 01. Le stress oxydant (Baraka-vidot, 2004)

I.2.2. Les antioxydants

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ils peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle (**Favier, 2003**).

I.2.2.1. Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase et Glutathionperoxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika et al., 2004).

I.2.2.2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont présents dans l'alimentation comme les vitamines A, C, E et les polyphénols, avec en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse. De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels, ...etc., sont considérées comme étant des antioxydants (Bougandoura, 2011).

a. Composés phénoliques

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimates et celle de l'acétate (Boutalbi, 2014). Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, largement utilisés pour leurs vertus thérapeutiques comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires et antimicrobiens (Bruneton, 1993).

a.1. Principales classes de composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans leur squelette de base. Ces structures peuvent être sous forme libre ou liée à l'ester ou hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins) (Boutalbi, 2014).

a.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (Bougandoura, 2011). Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes. Certains flavonoïdes ont également montré un potentiel d'agent vasodilatateur. Ils ont été surnommés les «modificateurs naturels des réponses biologiques» (Bruneton, 1993).

a.1.2. Tanins

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**Haslam, 1989**).

- **les tanins hydrolysables:** ce sont des esters de glucose et d'acide gallique (**Guignard, 2000**). Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide, l'acide éllagique (**Guignard, 2000**).
- **les tanins condensés:** ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères (**Harborne, 1980;Awika etRooney,2004**). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Guignard, 2000**)

Les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien, antiviral, anti-inflammatoire et une activité antimutagène. Les tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, de problèmes de sécrétions trop importantes, d'infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (**Bruneton, 1993**).

I.2.3. Mécanisme d'action d'un antioxydant

D'après Helliwell (1996) les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ROS ;
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS (**Daas amiour, 2009**).

I.2.4. Utilisations des antioxydants

Les antioxydants ont des utilisations variées dans différents domaines (**Hennebelle, 2006**) :

- L'industrie pharmaceutique : présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques avérés.
- L'industrie alimentaire.
- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.

- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisés pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les mêmes que dans l'industrie alimentaire.

I.3. LES METHODES D'EXTRACTION

I.3.1. Méthodes d'extraction traditionnelles

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres, exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (**Handa, 2008**).

I.3.1.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple qui se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et bien les tremper afin d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Kraft et Hobbs, 2004**).

I.3.1.2. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dures ou très dures : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles comme l'acide silicique. Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 minutes, pour bien extraire les principes médicinaux (**Kraft et Hobbs, 2004**).

I.3.1.3. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser.

Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain dessables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Elle est également utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**).

Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Benzeggouta, 2015**).

I.3.1.4. Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (**Shakeel, 1999; Goetz et Busser, 2007**). De nos jours cette technique traditionnelle est encore utilisée à Constantine pour l'extraction de certaines plantes aromatiques (**Benzeggouta, 2015**).

I.3.2. Méthodes d'extraction modernes

I.3.2.1. Extraction par fluides supercritiques

Toutes les substances sur Terre possèdent trois états: solide, liquide et gaz, alors que l'état supercritique est distinct et ne peut être atteint que si la substance est soumise à une température et une pression au-delà de son point critique. Ce dernier se caractérise par une température critique (T_c) et une pression critique (P_c), qui au-dessus desquelles les phases liquide et gaz n'existent pas et leurs propriétés spécifiques disparaissent, ce qui veut dire que le fluide supercritique ne peut pas être liquéfié par la modification de la température ou la pression. Le fluide supercritique ressemble au gaz dans sa propriété de diffusion, viscosité et tension de surface, et il ressemble au liquide dans sa densité et son pouvoir de solvatation. Ces propriétés le rendent convenable pour l'extraction des composés en un temps court avec un rendement élevé (**Evans, 2002**).

Le dioxyde de carbone (CO_2) est considéré comme étant le solvant idéal pour l'extraction supercritique. Sa température critique est de $31^\circ C$ qui est proche de la température ambiante, alors que sa pression critique est faible de l'ordre de 74 bars (pour l'eau $T_c=374^\circ C$, $P_c=220\text{atm}$), ce qui offre la possibilité d'opérer à des pressions modérées généralement comprises entre 100 et 450 bars. L'inconvénient du CO_2 est qu'il a une faible polarité qui le rend idéal pour les lipides, les graisses et les substances non polaires, mais inapproprié pour la plupart des échantillons pharmaceutiques. Ce problème a pu être surpassé par l'usage de petites quantités de solvants chimiques pour augmenter la polarité du CO_2 . Par exemple,

0,5ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) peuvent augmenter l'extraction qui est égale à quatre heures d'hydrodistillation(Azmir *et al.*, 2013).

En industrie, le CO_2 supercritique possède un avantage environnemental par rapport aux solvants organiques usuels car il ne laisse aucun résidu de solvant dans le produit. Cependant, les hautes pressions et pour certaines substances les hautes températures impliquées dans l'extraction supercritique, sont les principaux inconvénients de la technique (Evans, 2002).

Certains avantages de cette technique se résument comme suit (Azmir *et al.*, 2013):

- Coefficient de diffusion élevé et faible viscosité et tension de surface par rapport aux solvants liquides, ce qui permet une bonne pénétration dans la matrice de l'échantillon pour favoriser le transfert de masse ;
- La sélectivité est supérieure aux solvants liquides du fait que le pouvoir de solvation peut être réglé par changement de température ou/et de pression.
- La séparation du solvant est facile et se fait par dépressurisation du liquide supercritique, ce qui économisera le temps.
- Le travail à température ambiante est parfait pour l'extraction des molécules thermolabiles.
- Cette technique utilise de faibles quantités de solvants organiques et par conséquent elle est considérée comme «amie» de l'environnement.
- Elle est utile pour les molécules très volatiles du fait qu'elle peut être couplée aux techniques chromatographiques.
- Le recyclage et l'usage à nouveau du fluide supercritique est possible, ce qui diminue la génération des déchets.
- L'échelle peut être arrangée selon l'échantillon étudié de l'ordre de quelques milligrammes au laboratoire, jusqu'à plusieurs tonnes à l'industrie.
- Avec cette technique plusieurs métabolites secondaires ont pu être extraits: alcaloïdes (caféine, nicotine), polyphénols, huiles essentielles (arômes et parfums), huiles alimentaires (olive et soja), glycosides, jus de fruits, saponines et oléorésines (Zancanet *et al.*, 2002; Scopel *et al.*, 2014; Bitencourt *et al.*, 2014).

I.3.2.2.Extraction par eau surchauffée ou subcritique

En essayant de chercher des méthodes alternatives pour remplacer les solvants organiques dans l'extraction des produits naturels à partir des plantes, une technique utilisant

l'eau surchauffée a été utilisée depuis quelques décennies. L'objectif était de réduire la pollution dans les lieux de travail et l'environnement et éviter les résidus indésirables des solvants organiques qui sont souvent présents dans les produits alimentaires et les parfums **(Benzeggouta, 2015)**.

L'eau surchauffée ou subcritique est l'eau liquide au-dessus de sa température d'ébullition (100°C) sous pression. Sous ces conditions, l'eau liquide est moins polaire qu'à la température ambiante et possède une capacité croissante à dissoudre les composés organiques, lui donnant ainsi un caractère étendu des solvants organiques polaires. Le terme eau surchauffée est attribué à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100°C et 374°C qui est sa température critique. Pour l'extraction des produits naturels, la température ne peut pas être trop élevée à cause de leur thermo sensibilité, alors l'intervalle entre 100 et 200°C est le plus utilisé. Les propriétés de l'eau changent lorsque sa température augmente, à cause de la rupture des liaisons hydrogène et sa constante diélectrique diminue. A température ambiante, cette constante est de l'ordre de 80, mais lorsque la température augmente, elle chute. A 205°C la constante diélectrique est égale à 33 comme celle du méthanol à température ambiante. Ainsi, entre 100 et 200°C l'eau surchauffée se comporte comme un mélange eau-méthanol **(Benzeggouta, 2015)**.

Parmi les avantages de cette technique, on peut noter le faible coût, la non toxicité, un rendement meilleur, une bonne qualité de produits propres, un bénéfice environnemental, et de l'économie d'énergie (pour l'élévation de la température de l'eau de 30 à 150°C il faut 505kJ/kg, alors que pour transformer l'eau à 30°C en vapeur à 100°C il faut 2550kJ/kg)**(Smith, 2002)**

I.3.2.3. Extraction assistée par micro-ondes

C'est un chauffage sélectif utilisant les radiations micro-ondes qui interagissent avec les dipôles des molécules polaires ou polarisables. Les molécules polaires tentent de s'orienter (rotation) dans la direction du champ et comme cela elles chauffent. L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique qui est ensuite transformée partiellement en chaleur par cette rotation dipolaire. L'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (liaisons hydrogène et de Van der Waals) qui peuvent être assimilées à des forces de frottement internes, qui s'opposent à la libre rotation des molécules et de la friction produite naît le dégagement de chaleur. Sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui-même source de chaleur, on parle de dégagement de chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide

que son milieu, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel comme l'exemple de la plaque chauffante (**Pangarkar, 2008; Ferhat et al., 2010**).

Dans le cas des solvants non polaires et sans groupements polarisables, le chauffage est faible, il y a une absorption diélectrique seulement qui est due à la polarisation atomique et électronique. Cet effet thermique est presque instantané à l'échelle moléculaire mais limité à une petite région en profondeur proche de la surface du matériau, le reste est chauffé par conduction. Ainsi, les particules larges ou agglomérats des petites particules ne peuvent pas être chauffées uniformément, et c'est l'inconvénient majeur du chauffage par micro-ondes. Il est possible d'utiliser des sources d'énergie élevées pour augmenter la profondeur de la pénétration, mais les radiations micro-ondes montrent un déclin exponentiel une fois à l'intérieur d'un solide absorbant (**Pangarkar, 2008**).

Cette technique comporte certains avantages:

- amélioration du produit existant ;
- augmente la pureté de l'extrait ;
- réduit la dégradation par la chaleur ;
- réduit les coûts du procédé ;
- extraction significativement rapide ;
- application de très faible énergie ;
- usage de très faibles quantités de solvant(**Benzeggouta, 2015**).

L'extraction assistée par micro-ondes a été utilisée selon plusieurs procédés (par solvants, entraînement à l'air, hydro distillation sous pression réduite, sans solvants...) pour extraire une variété de métabolites secondaires (**Ferhat et al., 2010; Li et al., 2013; Leone et al., 2014; Dahmoune et al., 2015**).

I.3.2.4.Extraction par ultrasons ou sonication

La technique d'extraction par ultrasons est la plus utilisée à l'échelle industrielle pour améliorer les phénomènes de transfert de masse. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des plantes et leurs huiles (carvone, gingerols, huile d'amande...), les protéines (soja), polyphénols, anthocyanines, saponines de ginseng, polysaccharides, la pasteurisation et la production de produits laitiers(**Chemmat et al., 2011; Adam et al., 2012; Goula, 2013; Both et al., 2014**).

Les avantages de la technique incluent (**Handa, 2008;Penchev, 2010;Goula, 2013**):

- Amélioration du rendement de l'extraction ;
- Amélioration du procédé de l'extraction aqueuse lorsque les solvants ne peuvent pas être utilisés, exemple du concentré de jus ;
- Fournir l'occasion d'utiliser des solvants alternatifs par l'amélioration de leur performance d'extraction ;
- Augmentation de l'extraction de composés thermosensibles avec des conditions qui donnent ailleurs de faibles rendements ;
- La technique permet l'utilisation d'une large gamme de solvants ;
- Augmente la perméabilité des parois cellulaires et produit des cavitations.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Collecte et extraction de *S. Coronopifolius*

Les échantillons d'algue ont été récoltés sur des rochers submergés entre 6 et 7 m de profondeur pendant le mois de Septembre 2014 à l'Îlot de Tiskerth (Ile de l'ail) (36°48'N, 4°58'E) dans la région de Boulimat située à 15 Km à l'ouest de la ville de Bejaïa. Les échantillons récoltés (**Fig. 02**) sont triés à la main au laboratoire, afin d'éliminer les plantes épiphytes et les parasites. Puis ils sont lavés abondamment à l'eau du robinet puis subissent un dernier rinçage à l'eau distillée. Les échantillons d'algues sont ensuite étalés à l'ombre dans un endroit aéré à température ambiante pour être séchés, jusqu'à déshydratation complète. Après un passage à l'étuve à 40°C, les échantillons d'algues sont hachés grossièrement puis broyés finement. La poudre obtenue est passée au tamis à 125 µm et conservée dans des flacons opaques pour servir aux différentes analyses.



Figure 02. Photographie de *S. coronopifolius* (Fellah, 2014).

II.2. Mode opératoire

II.2.1. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols de l'algue *Sphaerococcus coronopifolius*, 05 paramètres ont été étudiés : la nature du solvant (éthanol, méthanol, acétone et eau distillée), la concentration du solvant (25%, 50%, 75% et 100 %), la quantité de poudre (0,1g, 0,2g, 0,4g et 0,6g), le temps d'extraction (30min, 60min, 90min, 120 min et 150min) et la température (25°C, 40°C, 50°C, 70°C et 90°C).

Pour chaque essai, nous avons fait varier un paramètre et nous avons fixé tous les paramètres qui restent.

Pour le protocole de dosage des polyphénols, nous avons essayé le dosage avec le carbonate de sodium et le bicarbonate de sodium.

II.2.2. Protocole d'extraction de base

Les polyphénols sont extraits par macération de 100 mg de poudre algale dans 10 ml de solvant sous agitation. Après 1 heure, à une température de 25°C le mélange est filtré et conservé.

II.2.2. Analyses quantitatives

II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, et décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Kayumba, 2001**).

Le dosage des phénols totaux d'extrait de *Sphaerococcus coronopifolius* a été effectué avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Une quantité de 0,1 ml de l'extrait brut est introduite dans des tubes à essai, auquel on ajoute 0,5ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,4 ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les

Chapitre II : Matériel et méthode

mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif .Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de la matière sèche algale (mg EAG/100g MS).

II.2.2.2. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (SD) à l'aide du logiciel Graph padPrism 7. Les analyses statistiques ont été effectuées par analyse de variance à un seul critère de classification (ANOVA One-way). Le test de Tukey a été réalisé et la différence significative a été détectée à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. Droite d'étalonnage de l'acide gallique

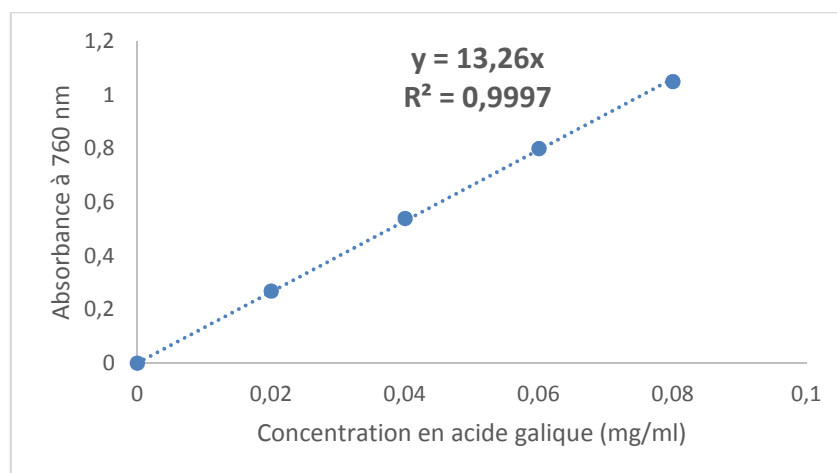


Figure 03. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (en utilisant le Carbonate de sodium)

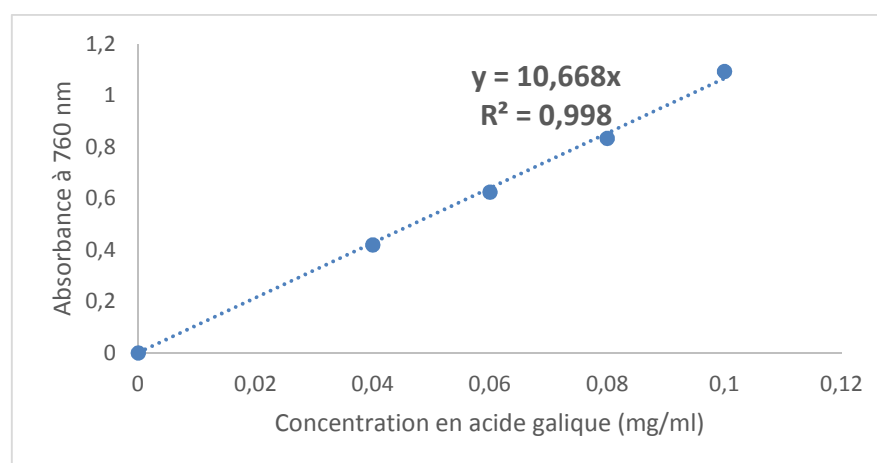


Figure 04. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (en utilisant Bicarbonate de sodium)

III.1.2. Comparaison entre le Carbonate et le Bicarbonate de sodium

Les résultats de la quantification des polyphénols totaux comparativement entre le carbonate de soude et le bicarbonate de soude, sont illustrés dans la **Figure 5** en fixant les paramètres d'extraction comme suit : 0.1 g de poudre dans 10 ml d'eau distillée à 25°C durant 60 min d'agitation.

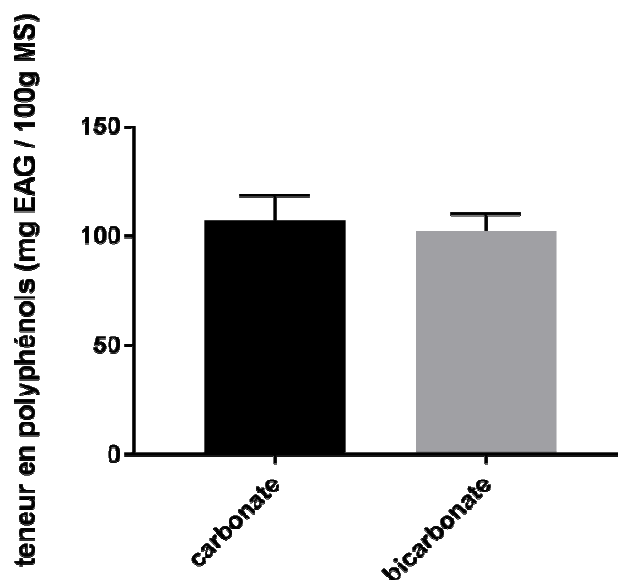


Figure 05. Comparaison des teneurs en polyphénols totaux du carbonate et du bicarbonate de soude

Le t- test indique que les deux paramètres (carbonate et bicarbonate de soude) ne présentent aucune différence significative ($p < 0.05$).

III.1.3. Carbonate de sodium

III.1.3.1. Choix du solvant d'extraction

Dans la première partie de cette étude, quatre solvants de polarité croissante ont été employés pour l'extraction des composées phénoliques à partir de *Sphaerococcus coronopifolius* à savoir : l'éthanol à 50% (polarité : 5,2), l'acétone à 50% (polarité : 5,4), le méthanol à 50% (polarité : 6,6) et l'eau (polarité : 9).

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en polyphénols totaux (PPT) varient en fonction du solvant utilisé et en fonction du rapport solvant/eau (**Fig. 6**).

Les teneurs les plus élevées en PPT sont obtenues en utilisant comme solvant l'eau distillée.

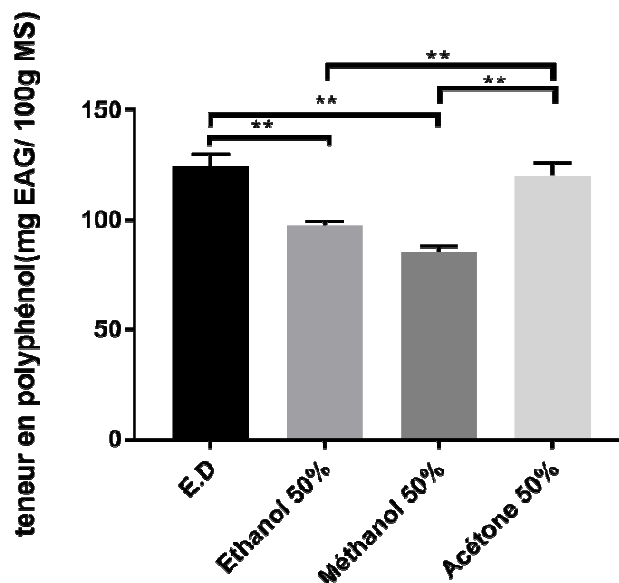


Figure 06. Dosage des polyphénols totaux par fixation du solvant dans le protocole d'extraction

La teneur en polyphénols totaux est de 124.25 ± 5.869 mg EAG/100g MS pour l'eau distillée, de $120.18 \pm 5,911$ mg EAG/100g MS pour l'acétone (50%), de 97.61 ± 2 mg EAG/100g MS pour l'éthanol (50%) et de 85.34 ± 2.849 mg EAG/100g MS pour le méthanol (50%).

L'analyse statistique indique une différence hautement significative entre l'eau distillée, le méthanol et l'éthanol et entre l'acétone, le méthanol et l'éthanol.

III.1.3.2. Rapport solide/liquide

L'impact du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols de l'algue marine *Sphaerococcus coronopifolius* est mesuré avec les rapports 0.1 /10, 0.2 /10, 0.4 /10, 0.6/ 10, et 0.8 /10 ; P/ V (**Fig. 7**). En augmentant le rapport solide/liquide, celui-ci a un effet négatif sur l'extraction.

En effet, le rapport solide/liquide de **0.1/10** est celui qui permet d'extraire le meilleur taux de polyphénols, avec en moyenne 101.56 ± 4.711 mg EAG/100g MS, suivi par 0.2/10 (91.42 ± 1.900 mg EAG/100g MS), 0.4/10 (79.26 ± 2.436 mg EAG/100g MS), 0.6/10 (72.19 ± 1.091 mg EAG/100g MS)

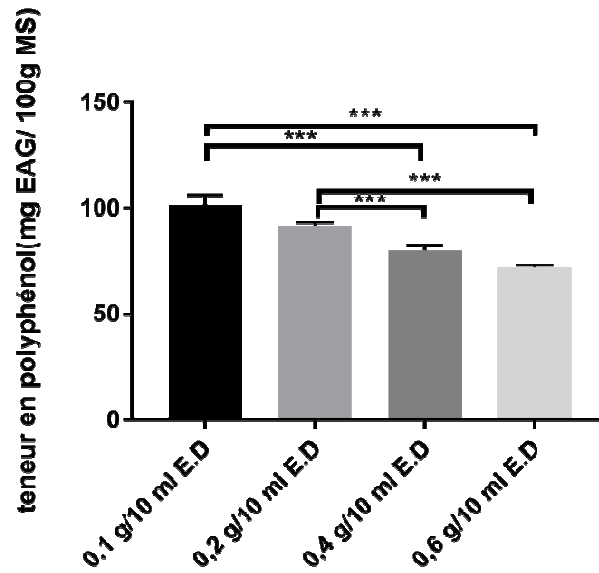


Figure 07. Fixation de quantité de poudre

L'analyse statistique indique une différence très hautement significative entre les rapports utilisés.

III.1.3.3. Temps d'extraction

Les échantillons ont été extraits en utilisant le meilleur solvant et le meilleur rapport solide /liquide, une température constante de 25°C, et nous avons varié le temps d'extraction de 30, 60, 90, 120 et 150 minutes.

Le contenu en Ppt augmente considérablement quand le temps d'extraction augmente de 30 à 120min (98.35 ± 1.106 mg EAG/100g MS; 101.69 ± 1.336 mg EAG/100g MS; 108.16 ± 1.882 mg EAG/100g MS ; 109.58 ± 3.640 mg EAG/100g MS respectivement), alors qu'elle diminue à 150 min (105.64 ± 2.367 mg EAG/100g MS) (**Fig. 8**).

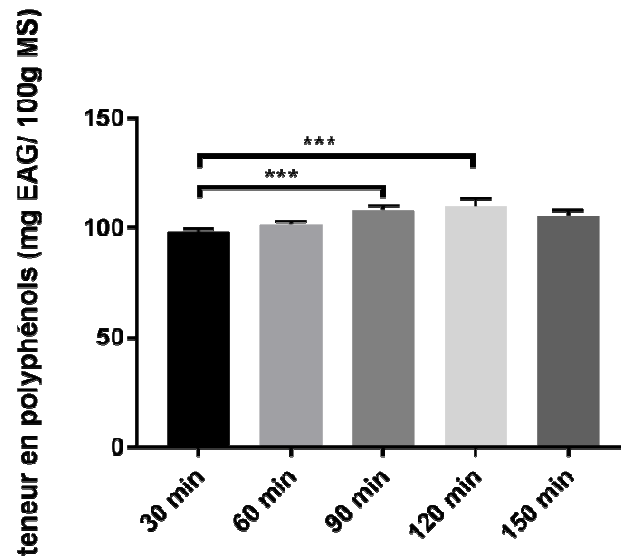


Figure 08. Fixation de temps d'extraction

D'après nos résultats, la durée d'extraction de 120 min donne la moyenne la plus élevée comparativement aux autres valeurs, avec une différence très hautement significative (***) entre 120 min et 30 min et entre 30 min et 90 min. Mais aucune différence significative n'a été signalée entre 60 min et 120 min.

III.1.3.4. Température

Les températures d'extraction testées sont : 25°C, 40°C, 50°C, 70°C, 90 °C. Les résultats ont été présentés dans la Figure 9.

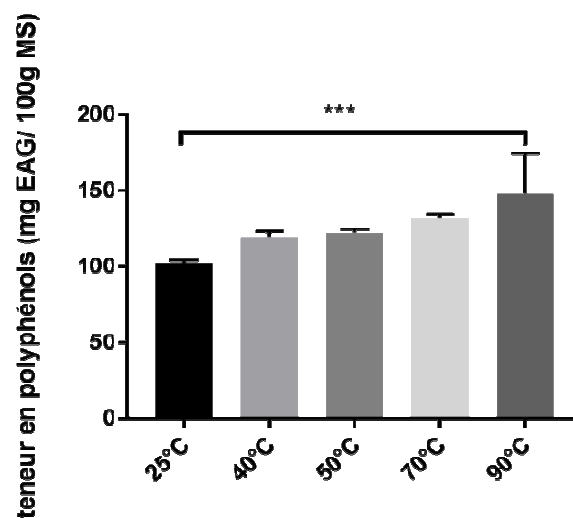


Figure 09. Fixation de la température

La température impacte de manière significative sur l'extraction des polyphénols en constatant que 90 °C est la meilleur température qui donne un rendement maximal (161.98 ± 3.738 mg EAG/100g MS). Par contre, 25°C est la température qui donne le rendement le plus bas (102.24 ± 1.990 mg EAG/100g MS).

Les résultats ne présentent aucune différence significative sauf entre 25°C et 90°C qui montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$). Cela veut dire que n'y a pas une différence entre 40°C et 90°C.

En résumé, 0.1 g de poudre dans 10 ml d'eau distillée à 40°C pendant 60 min d'agitation représente la meilleure manière pour l'extraction des polyphénols chez *Sphaerococcus coronopifolius*. Sachant que nous avons choisi par commodité 60 min au lieu de 120 min et 40°C au lieu de 90°C tant qu'il n'y a pas de différences significatives entre ces valeurs.

III.1.4. Bicarbonate de sodium

III.1.4.1. Choix du solvant d'extraction

A travers l'observation de nos résultats, l'eau distillée donne un meilleur rendement d'extraction (100.22 ± 2.438 mg EAG/100g MS) tandis que l'éthanol (50 %) enregistre une moyenne de 74.05 ± 2.296 mg EAG/100g MS, le méthanol (50 %) donne 70.76 ± 2.932 mg EAG/100g MS et l'acétone (50 %) enregistre une moyenne de 69.50 ± 4.588 mg EAG/100g MS.

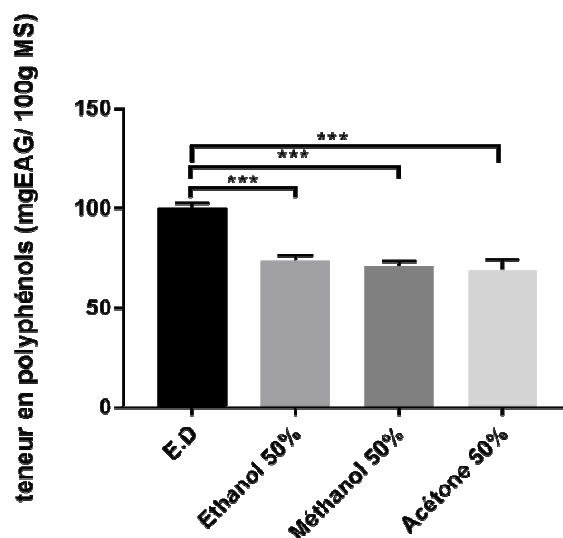


Figure 10. Fixation du solvant

L'étude statistique indique qu'y a une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre l'eau distillée et les trois autres solvants utilisés.

III.1.4.2. Rapport solide/liquide

L'effet de différents rapports poudre/solvant (P/V) ont été examinés (**Fig. 11**). En augmentant le rapport solide/liquide, celui-ci a un effet négatif sur l'extraction.

En effet, le rapport solide/liquide de 0.1/10 est celui qui a permis d'extraire le meilleur taux de polyphénols, avec une moyenne de 113.67 ± 6.58 mg EAG/100g MS suivi par les rapports : 0.2/10 (97.43 ± 6.53 mg EAG/100g MS), 0.4/10 (78.81 ± 2.97 mg EAG/100g MS) et 0.6/10 (72.33 ± 2.87 mg EAG/100g MS).

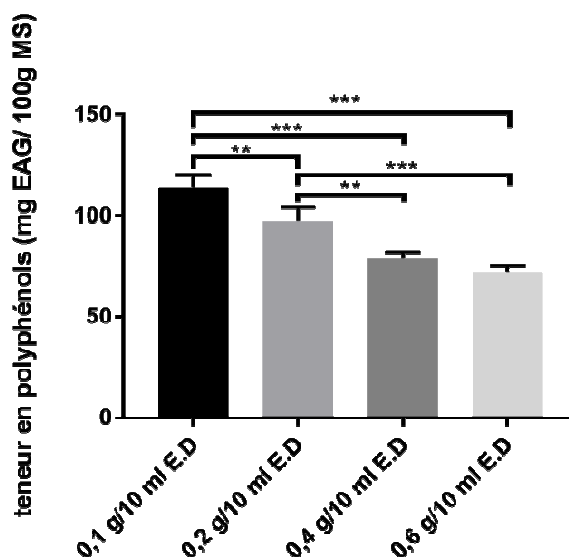


Figure 11. Fixation de la quantité de poudre

D'après l'analyse statistique, y a une différence hautement significative entre 0.1 et 0.2, et entre 0.2 et 0.4 ($p < 0.01$). Une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre 0.1 et 0.4, entre 0.1 et 0.6 et entre 0.2 et 0.6 a été signalée.

III.1.4.3. Temps d'extraction :

Les rendements d'extraction des différentes durées d'extraction ont été présentés dans la **Figure 12**.

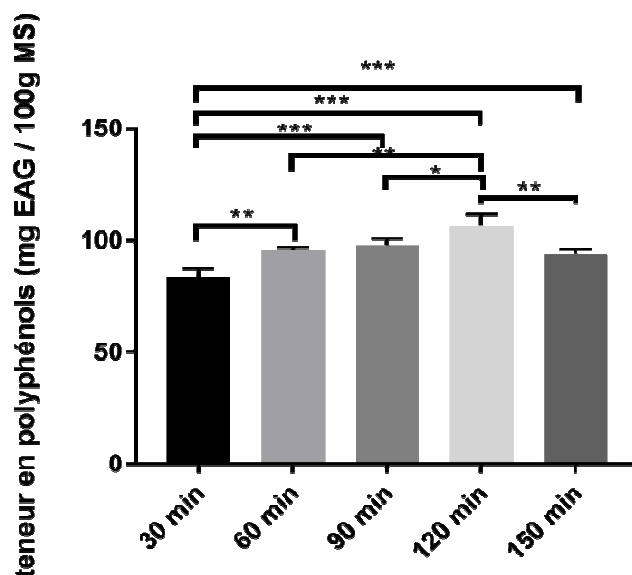


Figure 12. Fixation du temps d'extraction

Les résultats montrent que 120 min (106.62 ± 5.206 mg EAG/100g MS) donne le meilleur rendement d'extraction et le faible rendement d'extractions revient à 30min (83.47 ± 4.114 mg EAG/100g MS). L'analyse statistique montre qu'y a une différence significative (*) entre 120 min et 90 min par rapport aux autres temps où il a été signalé des différences hautement et très hautement significatives.

III.1.4.4. Température d'extraction

Les résultats de la variation de la température d'extraction ont été présentés dans la Figure 13.

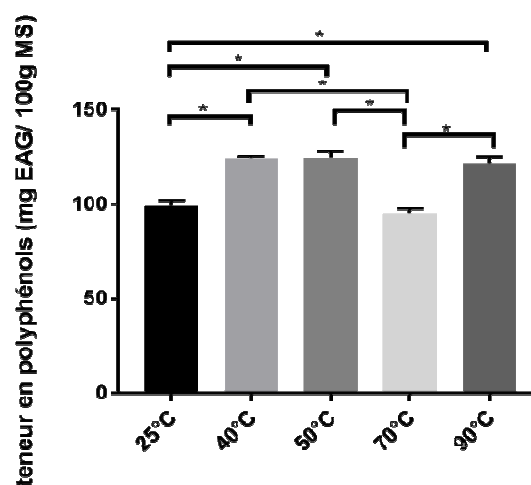


Figure 13. Fixation de la température d'extraction

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en polyphénols totaux (PPT) varient en fonction de la température 25°C (99.15 ± 2.758 mg EAG/100g MS) ; 40 °C (124.16 ±1.261 mg EAG/100g MS) ; 50°C (124.38 ±3.678 mg EAG/100g MS) ; 70°C (95.05± 2.446 mg EAG/100g MS) ; et 90 °C (121.32± 3.579 mg EAG/100g MS). La température de 50°C donne le meilleurs taux en polyphénols. L'étude statistique indique qu'il n'y a pas de différence significative entre 40°C et 50°C.

En résumé, 0.1 g de poudre dans 10 ml d'eau distillée à 40°C pendant 120 min d'agitation représentent la meilleure manière pour l'extraction des polyphénols chez *Sphaerococcus coronopifolius* si on opte pour l'utilisation du bicarbonate de sodium dans le dosage des polyphénols totaux, sachant que nous avons choisi par commodité 40°C au lieu de 50°C tant qu'il n'y a pas de différences significatives entre eux.

III.2. DISCUSSION

Le principe qui résulte de cette étude est que les acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques dans le réactif phénol de Folin-Ciocalteu peuvent être réduits en un complexe bleu dans un environnement alcalin. Plusieurs substances de base peuvent aider à créer un environnement alcalin, tandis que Na_2CO_3 a été préféré par la plupart des scientifiques car il donne une plus grande reproductibilité que les autres. Par exemple, la solution de NaOH peut provoquer une formation de trouble en raison de la complexation avec des minéraux (Zhao, 2012).

Comme résumé par Box (1983), après l'évaluation des solutions alcalines comme moyen de support, un alcali léger comme Na_2CO_3 était supérieur à un alcali fort puisque des changements dans le volume total introduit moins de variation.

Cependant, la concentration de la solution de bicarbonate de sodium utilisée dans la méthode de Folin-Ciocalteu varie considérablement, allant de 2% à 35% et aucune explication pour cette variation n'a été trouvée (Zhao, 2012).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par plusieurs auteurs (Ludmila et al., 2015) qui ont trouvé que l'extraction à l'aide de l'eau distillée semblait être la procédure la plus efficace pour la quasi-totalité des échantillons d'algues analysés, à l'exception de l'algue marine *Laminaria japonica* et de l'algue verte de l'eau douce *Chlorella pyrenoidosa*, où l'extraction par 80% de méthanol (extraction / 3 /) et 100% de méthanol (extraction / 5 /), respectivement, étaient les méthodes les plus efficaces.

L'eau distillée est considérée comme un bon solvant pour l'isolement des composés phénoliques (Lopez et al., 2011).

Pour l'algue marine *Stypocaulon scoparium*, le taux le plus élevé qui a été obtenu pour les polyphénols est de 329 mg / 100 g MS en utilisant l'eau distillée comme solvant d'extraction et le plus bas a été pour l'extrait éthanoïque (2,36 mg / 100 g MS) (Katarzyna et al., 2016).

Nos résultats sont identiques à ceux rapportés par Tierney et al. (2013) qui ont observé que l'eau utilisée est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques de macroalgues irlandaises (*Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata*, *Fucus spiralis* et *Ulva testinalis*).

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

D'après **Fu et al. (2016)**, le rapport 1/10, a donné un rendement maximum pour les quatre algues marines *Sargassum polycystum*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappa phycusalvarezzi* (B) et *Kappa phycusalvarezzi* (G). Une autre étude faite par **Yajing Li et al., (2017)**, indique que le rapport 1/5 donne un meilleur rendement pour l'algue marine *Sargassum fusiforme*. Nos résultats chevauchent avec ceux de ces auteurs dont nous avons reporté que le rapport 0.1/10 a un meilleur rendement pour l'algue marine *Sphaerococcus coronopifolius*. Un rapport de 0.8/10 a été utilisé, mais aucun extrait n'a été obtenu dans notre cas. D'après **Fu et al. (2016)**, les échantillons ont absorbé le solvant et a augmenté pendant l'extraction, formant une épaisseur et une masse semi-solide visqueuse. Cela pourrait être attribué à un solvant insuffisant pour pénétrer l'échantillon et donc, aucune extraction n'est survenue.

D'après **Yajing Li et al., 2017** : Le temps de 30 min est la valeur optimale pour un meilleur rendement pour l'algue marine *Sargassum fusiforme*, 120 min pour *Sargassum polycystum*, 240 min pour *Kappa phycusalvarezzi* (B), 300 min *Kappa phycusalvarezzi* (G) et 180 min pour *Eucheuma denticulatum* (**Fu et al., 2016**), tandis que la durée de 120 min a donné un meilleur rendement en polyphénols dans notre cas. Le temps d'extraction est déterminé uniquement par le taille moléculaire, la quantité et la structure chimique des composés phénoliques dans l'échantillon (**Chirinos et al., 2007**). Par exemple, certains phénols nécessitent un temps d'extraction plus long parce que ces phénols sont liés à des fibres (**Benjama et Masniyom, 2011**). Des phénols étroitement liés à des polymères de parois cellulaires peuvent avoir besoin d'un temps d'extraction plus long par rapport aux composés phénoliques libres (**Fu et al., 2016**).

Le temps d'extraction prolongé conduit à la décomposition des composés actifs (**Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005**) en raison de longues exposition à l'environnement, c'est-à-dire à la température, la lumière et l'oxygène augmentant les chances que les composés phénoliques s'oxydent, ce qui diminue leur pouvoir antioxydant (**Lafka et al., 2007**).

En outre, des réactions indésirables telles que l'oxydation enzymatique et la polymérisation pourraient être favorisées par un temps d'extraction prolongé (**Biesaga et Pyrzynska, 2013**).

D'après **Fu et al. (2016)**, le une température de 65°C atteint un rendement maximal de polyphénols pour les échantillons d'algues *Sargassum polycystum*, *Kappa phycusalvarezzi*, *Kappa phycusalvarezzi* G et *Eucheuma denticulatum*. Néanmoins, une température de 25°C a donné une meilleure extraction pour *Sargassum fusiforme* (**Yajing Li et al., 2017**). Dans notre cas, nous avons obtenu 40°C comme meilleure température d'extraction.

La variation de la température d'extraction est due aux divers facteurs tels que : l'espèce d'algue, le temps d'extraction, le rapport du solvant à la matière et à lataille de l'échantillon (**Boi et al., 2017**).

L'eau chaude affaiblit les constituants cellulaires des algues, libérant plus de phénols liés dans le solvant (**Spigno et al., 2007**).

Conclusion et perspective

Le présent travail s'oriente vers une voie de valorisation très peu exploitée en Algérie. Il vise à étudier les potentialités naturelles des algues rouges marines qui forment une source intéressante et très prometteuse de substances biologiquement actives.

La recherche entreprise englobe une étude phytochimique et l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de l'extrait d'algue rouge *Sphaerococcus coronopifolius* collectée au niveau de l'Îlot Tiskerth (Île de l'ail) dans la région de Boulimat située à 15 Km à l'ouest de la ville de Bejaïa.

Les résultats obtenus après l'étude statistique ont permis de conclure qu'aucune différence significative n'existe entre le carbonate et le bicarbonate de soude à $p < 0.05$. D'après l'analyse statistique ANOVA One-way (test de Tukey), les meilleures conditions d'extraction pour le carbonate de soude sont : l'eau distillée, 0.1g/ 10ml, 60min et 40 °C, alors que pour le bicarbonate de soude: l'eau distillée, 0.1g/ 10ml, 120 min et 40°C.

Afin d'approfondir ce travail de recherche nous proposons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de travailler sur d'autres sites avec un nombre plus élevé d'espèces.
- L'élargissement d'études et la recherche sur les algues marines, et en particulier les espèces qui ne sont pas étudiées, comme dans le cas de l'espèce que nous avons étudiée.
- Faire une étude et des tests de pouvoir antioxydant, anti radicalaire et autres.
- Adopter des méthodes d'extraction moderne comme l'extraction par les Fluides Supercritiques, l'Eau Surchauffée ou Subcritique et les Micro-ondes.

- Adam F., Abert-Vian M., Peltier G. & Chemat F., 2012:** Solvent-free Ultrasound-Assisted Extraction of Lipids from Fresh Microalgae Cells: A Green, Clean and Scalable process. *Bioresource Technology* **114**, 457-465
- Awika J.M. & Rooney L.W., 2004:** Sorghum photochemical and their potential aspects on human health. *J.Agric. Food. Chem* **52**, 4388-4359.
- Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N. & Omar A.K.M., 2013:** Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials. A Review. *Journal of Food Engineering* **117**, 426-436.
- Baraka-Vidot J., 2014 :** Stress oxydant et pathologie diabétique a l'île de rênion identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionelles de l'albumine glyquée. *Thèse de doctorat*. Université de la reunion. 196p.
- Benjama O. & Masniyom P., 2011:** Nutritional composition and physicochemical properties of two green seaweeds (*Ulva pertusa* and *U. intestinalis*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. Songklanakarin. *Journal Science Technology* **33(5)**, 575-583.
- Benzeggouta N., 2005 :** Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. *Mémoire de Magister*. Université Mentouri Constantine. 156p.
- Biesaga M. & Pyrzynska K., 2013:** Stabilité of bioactive polyphenols from honey during différent extraction méthodes. *Food Chemistry* **136**, 46-54.
- Bitencourt R.G., Queiroga C.L. & Montanari J. I., 2014:** Fractionated Extraction of Saponins from Brazilian Ginseng by Sequential Process Using Supercritical CO₂, Ethanol and Water. *The Journal of Supercritical Fluids* **92**, 272-281.
- Boi V.N., Cuong D. X. & Vinh P.T.K., 2017:** Effects of extraction conditions over the phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae *Sargassum serratum* (Nguyen Huu Dai 2004). *Free Radicals and Antioxidants* **7(1)**, 115-122.
- Both S., Chemat F. & Strube J., 2014:** Extraction of Polyphenols from Black Tea Conventional and Ultrasound Assisted Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* **21**, 1030-1034.
- Bougandoura N., 2011 :** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja laminthassnepta* (nabta)et *AjugaivaL.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. *Mémoire de magister*. université Tlemcen. 125p.
- Boutalbi S., 2014 :** Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospira platensis*).*mémoire de master academique*. Université d'Ouargla. 58p.
- Box J. D., 1983:** Investigation of the Folin-Ciocalteau phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research* **17**, 511-525.

- Bruneton J., 1993 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2^{eme} édition Lavoisier. Paris p 916
- Bruno De reviers., 2016 :** Algues, Encyclopoedia Universalis. En ligne : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/algues>.
- Cacamesse S., Azzolina R., Rurnari G., Gormaci M. & Grasso S., 1980 :** Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Bot. Mar* **23**, 285-288.
- Chemat F., Huma, Z.E. & Khan M.K., 2011:** Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* **18**, 813-835.
- Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. & Larondell Y., 2007:** Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology* **55**, 217-225.
- Christophe P. & Christophe S., 2011 :** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Springer*. 84p.
- Daas Amiour S., 2009 :** " Etude Quantitative des Composés Phénoliques des extraits de trois Variétés de dattes (Phoenix Dactylifera L.) et évaluation in vitro de leur activité Biologique." *Thèse de magister*, Université El-Hadj Lakhdar . Batna. 160p.
- Dahmoune F., Nayak B., Moussi K., Remini H. & Madani K., 2015:** Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves, *Food Chemistry* **166**, 585-595.
- Deslandes E., Pondaven E., Auperin T., Roussakis C., Guézennec J., Stiger V. & Payri C., 2000 :** Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line . *Journal of Applied Phycology* **6**, 257–262.
- Etahiri S., Bultel-Poncé V., Caux C. & Guyot M., 2001 :** New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products* **64**(1). 1024-1027.
- Etahiri S., El kouri A., Bultel-Ponce V., Guyot M. & Assobhei O., 2007:** *Antibacterial bromophenol from the marine red alga Pterosiphonia complanata. Natural Product communication* **2**, 749-752.
- Evans W.C., 2002:** Trease and Evans Pharmacognosy. *Saunders, Edinburgh, UK*. P 616
- Faller H., 2011 :** Les applications et la toxicité des algues marines. *Thèse de doctorat*. université de Limoges. 132p.
- Favier A., 2003 :** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* **11**, 108-115.

- Ferhat M.A., Meklati B. Y. & Chemat F., 2010:** Citrus d'Algérie, Les Huiles Essentielles et leurs Procédés d'Extractions. *O.P.U. Algerian*. 119p.
- Fischer W. Schneider M. & Bauchot M. L., 1987 :** Méditerranée et mer noire. *Fiche FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche* p 759.
- Fleury B.G., Kelecom A., Periera R.C. & Teixeira V.L., 1994:** Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta), *Bot Mar* **37**, 457- 462.
- Frestedt J., Zenk J., Kuskowski M., Ward L. & Bastian E., 2008:** A whey-protein G.N.U. Free documentation licence (2006). (En ligne) http://en.wikipedia.org/wiki/GNU_Free_Documentation_Licence.
- Fu C.W.F., Ho C.W., Yong W.T.L., Abas F., Tan T.B. & Tan C.P., 2016:** Extraction of phenolic antioxidants from four selected seaweeds obtained from Sabah . *International Food Research Journal* **23(6)**, 2363-2369.
- Garon-lardiere S., 2004 :** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). *Thèse de doctorat*. Université de bretagne occidentale école doctorale des sciences de la matière, de l'information et du vivant. 332p.
- Gerald M.C., 2015 :** Le beau Livre de la Biologie De l'origine de la vie à la génomique. *DUNOD*. 30p.
- Goetz P. & Busser C., 2007 :** La Phytocosmétologie Thérapeutique. *Springer-Verlag France, Paris*. 247p.
- Gonzalez, R., Rodriguez S., Romay C., Ancheta O., Gonzalez A., Armesto J., Ramirez D. & Merino N., 1999:** Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Research* **39 (1)**, 55-59.
- Goula A.M., 2013:** Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate Seed Oil Kinetic Modeling. *Journal of Food Engineering* **117**, 492-498.
- Guignard J.L., 2000 :** Biochimie végétal. *Dunod*. 188 p.
- Handa S.S., 2008:** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G. & Rakesh D. D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy*. 260p.
- Hennebelle T., 2006 :** Investigation chimique, chimio taxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum* *ballota larendana*, *ballota pseudodictamnus* (lamiacées) et *lippia alba* (verbénacées). *Thèse de doctorat*. Université des Sciences et Technologies de Lille-lille1. 304p.

- Hireche I., & Lalami F., 2016 :** Effet réparateur d'un extrait d'algue marine *personnelia sp* deux modèles de stress : CMS et ligature de nerf sciatique. Etude comportementale et histologique. *Mémoire de Master*. Université de Bordj Bou Arreridj. 83p.
- Harborne J.B., 1980:** Secondary Plant Products. *Encyclopedia of Plant Physiology* **8**, 329-402
- Haslam E., 1989:** Plant polyphenols, vegetable tannins revisited cambridge. *Thèse de doctorat*. University Press, Combridge, 230p.
- Jean-Claude R., El Maarouf-Bouteau H. & Bouteau F., 2008 :** ATLAS BIOLOGIE VÉGÉTALE 1. Organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons. *DUNOD*, 154p.
- Kadari M. Y., 1994 :** Contribution à l'étude de l'impact de la pollution sur la distribution spatio-temporelle des peuplements phytobenthiques dans la Baie de Bou Ismail. *Thèse de magister. ENS Alger*. 226p.
- Kardache A. & khoualdi Y., 2016 :** Etude des activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques d'extraits d'algues marines d'origines Algérienne. *Mémoire de master*. université de constantine. 79p.
- Katarzyna G., Izabela M., Aukasz T. & Katarzyna Chojnacka., 2016:** Plant Growth Biostimulants Based on Different Methods of Seaweed Extraction with Water. *BioMed Research International* **25**, p11
- Ktari L. & Guyot M., 1999:** A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, *Journal of Applied Phycology* **11**, 511-513.
- Kayumba A., 2001 :** Suivi de la décomposition des litières des zones alluviales de la Sarine. Travail de diplôme, laboratoire d'écologie végétale, Université de Neuchâtel. Suisse.
- Kraft K. & Hobbs C., 2004:** Pocket Guide to Herbal Medicine. *Thieme, Stuttgart, New York*. p419
- L'opez A., Rico M., Rivero A. & Suárez de Tangil M., 2011:** The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry* **125**, 1104–1109.
- Lafka T.I., Sinanoglou V. & Lazos E.S., 2007:** On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry* **104**, 1206-1214.
- Lahaye M., 1991:** Marine algae as sources of fibres: détermination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some sea vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **54**, 587-594.
- Leone A., Tamborrino A., Romaniello R., Zagaria R. & Sabella E., 2014:** Specification and Implementation of a Continuous Microwave-Assisted System for Paste Malaxation in an Olive Oil Extraction Plant. *Biosystems Engineering* **125**, 24-35.

- Li Y., Fabiano-Tixier A.S., Abert Vian M. & Chemat F., 2013:** Solvent-Free Microwave Extraction of Bioactive Compounds Provides a Tool for Green Analytical Chemistry. *Trends in Analytical Chemistry* **47**, 1-11.
- Liyana-Pathirana C. & Shahidi F., 2005:** Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry* **93**, 47-56.
- Ludmila M., Ladislava M., Jarmila V. A., Jana O., Jiri M. , Jiri S. & Tunde J., 2015:** Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products. *Molecules* **2015**, **20**, 1118-1133.
- Maro D., Hebert D., Gandon R. & Solier L., 1999:** Dosage par spectrométrie gamma de l'iode 129 dans les échantillons biologiques marins et terrestres, Application à des algues prélevées le long des côtes de la Manche: *Fucus serratus* et *Laminaria digitata*. *Radio protection* **34 (1)**, 13-24.
- Médart J., 2009 :** Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. *Boeck Supérieur*. 49p.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R. & Luthje S., 2004:** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews* **(3)**, 173-193.
- Naghraoui M., 2014 :** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid). *Mémoire de master*. université de Tlemcen. 82p.
- Nil S., 2011 :** Variation saisonnières du rendement et des propriétés physicochimiques de l'agar de la rhodophycée *Gelidium sesquipedale* de la cote de Mostaganem.-Activité antibactérienne et antifongique de l'extrait algal. *Thèse de magister*. université d'oran. 96p.
- Ould Ahmed., 1994 :** Etude des espèces phytobenthiques, au voisinage de la centrale thermique de Mersa El Hedjadj (Golf d'Arzew) ouest algérien, mention particulière sur une espèce remarquable, cualerpal : *Caulerpa prolifera* (Forsskal) LAMARROUX. Thèse de magister ENSSMAL. Alger 181p.
- Pâdula M. & Boiteux S., 1999:** Photodynamic DNA damage induced by phycocyanin and its repair in *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Médical and Biological Research* **32(9)**, 1063-1071.
- Pangarkar V.G., 2008:** Microdistillation, Thermomicrodistillation and Molecular Distillation Techniques. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., and Longo G., Rakesh D.D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy*. 266p.
- Papazian L. & Roch A., 2008 :** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Springer*, 153p.
- Penchev P.I., 2010 :** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. *Thèse de Doctorat*. Université de Toulouse, France. 239p.

- Perret C., 2001** : Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. *Thèse de doctorat* .Université de Neuchâtel. 184p.
- Perret B. & Séridi M., 1989** : Inventaire des algues marines benthiques d'Algérie. Gis posidonie publ, *Marseille France* .117p.
- Poirier J., 2004** : L'indispensable pour vivre en santé. *Merlin*. 72p.
- Ravi b. N., Murphy P. T., Lidgard R. O., Warren R. G. & Wells R. J. C., 1982**:18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*, *Aust. J. Chem* (35), 171-182.
- Remirez D., Gonzalez A., Merino N., Gonzalez R., Ancheta O., Romay C. & Rodriguez S., 1999**: Effect of phycocyanin in zymosan-Induced arthritis in mice- phycocyanin as an antiarthritic compound. *Drug Development Research* 48, 70-75.
- Scopel R., Falcão M.A., Lucas A.M., Almeida R.N., Gandolfi P.H.K., Cassel E. & Vargas R.M.F., 2014** : Supercritical Fluid Extraction from *Syzygium aromaticum* Buds: Phase Equilibrium, Mathematical Modeling and Antimicrobial Activity.*The Journal of Supercritical Fluids* 92, 223-230.
- Séridi H., 2007** : Etude de la flore algale de l'Algérie. Etude phytosociologique des peuplements algaux photophyles de l'infra littoral superficiel de substrat dur, *thèse de doctorat en sciences de la nature. USTHB* 174p.
- Shakeel A.J., 1999** : L'Industrie du Parfum dans la Civilisation Islamique. *Afaq Magazine*, 25/26, 153-167.
- Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S., Yoshikawa H. & Hama Y., 2008**: Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *Applied Phycology* 20, 705-711.
- Singleton V.L. & Rossi J.A.J., 1965**: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Smith R.M., 2002** : Extraction with Superheated Water. *Journal of Chromatography A* 975, 31-46.
- Spigno G., Tramelli L. & De Faveri D.M., 2007** : Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* 81, 200-208.
- Strick W.A., Reinecke D.L. & Staden J.V., 2007**: Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. *Journal of applied phycology* 19, 271-276.
- Tebbal A., 2011** : Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza). *Mémoire de magister*. Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. Université d'Alger.

- Tierney M.S., Soler-Vila A., Rai D.K., Croft A.K., Brunton N.P. & Smyth T.J., 2013:** UPLC-MS profiling of low molecular weight phlorotannin polymers in *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata* and *Fucus spiralis*. *Metabolomics* **10**, 524–535.
- Watanabe F., Takenaka S., Katsura H., Masumder S.A.M., Abe K., Tamura Y. & Nakano Y., 1999:** Dried green and purple lavers (nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B₁₂ but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Agricultural and Food Chemistry* **47(6)**, 2341-2343.
- Wright A.D.M., Konigst G., Angerhofer C.K., Greenidge P., Linden A. & Desqueroux faundez R., 1997:** Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity. *Journal of Natural Products* **59**, 710-716.
- Yajing L., Xiaoting F., Delin D., Xiaoyong L., Jiachao X. & Xin G., 2017:** Extraction and Identification of Phlorotannins from the Brown Alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. *Mar. Drugs* **15**, 49 p 15
- Yan X., Chuda Y., Suzuki M. & Nagat T., 1999:** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hifikia fusiformis*, common edible seaweed. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **63(3)**, 605- 607.
- Zancan K.C., Marques M.O.M., Petenate A.J., Meireles M.A.A., 2002:** Extraction of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin with CO₂ and Co-solvents: A Study of the Antioxidant Action of the Extracts. *The Journal of Supercritical Fluids* **24**, 57-76.
- ZHAO Z., 2012:** Antioxidative capacity of rosehip polyphénols and their potential role in type 2 diabetes mellitus prevention and management. *Master of Science Thesis*. 44p.
- 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 de constantine. 196p.
- Zubia D., Robledo D. & Freile-Pelegrin Y., 2007:** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico. *Journal of Applied Phycology* **19**,p 449-556.