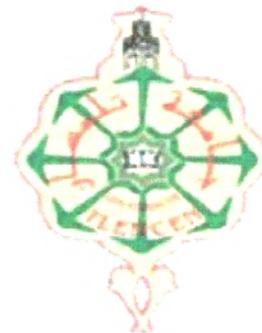




RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOUBEKR BELKAID TLEMCE
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE,
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DES PRODUITS NATURELS

(LAPRONA)

Mémoire de fin d'études

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

Option : Sciences des aliments

Présenté par

M^{lle} NAGHRAOUI MEBARKA

Thème

**Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et
ses fractions de l'algue rouge *Corallina officinalis*, récoltée sur la
côte ouest algérienne (plage de Madrid)**

Soutenu le : 24/06/ 2014

Devant le jury composé :

- M^r ABDELOUAHID D.E. Professeur Président
- M^{me} BENGUEDDA W. Maître de Conférences Examinatrice
- M^{me} BEKHECHI C. Maître de Conférences Examinatrice
- M^{me} BELYAGOUBI-BENHAMMOU N. Maître de Conférences Examinatrice
- M^r BELYAGOUBI L. Maître assistant Encadreur

Année Universitaire : 2013-2014

Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicace.....	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Liste des photos.....	VII
Introduction.....	02
1ère partie : synthèse bibliographique.....	04
Chapitre I : généralités sur les algues.....	05
1. Définition.....	05
2. Classification des algues.....	05
3. Composition chimique.....	06
3. 1. Les éléments minéraux.....	07
3.2. Les lipides.....	07
3.3. Les protéines.....	07
3..4. Les vitamines.....	07
3.5. Les caroténoïdes.....	07
3.6. Les polysaccharides.....	08
3.7. Les fibres.....	08
4. Les métabolites secondaires.....	08
4.1. Les composés phénoliques (polyphénols).....	08
4.1.1 .Les flavonoïdes.....	09
4.1.2 Les tanins.....	10
4.2. Les isoprénoides (Terpénoides).....	10
4.3. Les alcaloïdes.....	11

5. Mode de reproduction	11
6. Utilisation	12
Chapitre II : Etude botanique d'algue <i>Corallina officinalis</i> L.....	13
1. La famille des Corallinacées	13
2 .Le genre <i>Corallina</i>	13
3. <i>Corallina officinalis</i> L.....	13
3.1. Description botanique (morphologique)	13
3.2. Classification.....	14
3.3. Mode de Reproduction et multiplication	14
3.4. Composition	14
3.5. Utilisation	15
3.6. Habitat.....	15
3.7. Travaux antérieurs	16
Chapitre III : Les radicaux libres et Les antioxydants.....	17
1. introduction	17
2. Les radicaux libres	17
3. Origine des radicaux libres	17
4. Les antioxydants	18
4.1. Les antioxydants endogènes	19
4.2. Les antioxydants exogènes	19
5. Activité antioxydante in vitro.....	19
Chapitre IV. Activité antimicrobienne.....	20
1. introduction	20
2. Les microorganismes	20
2.1. <i>Escherichia coli</i>	20
2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21

2.3. <i>Klebseilla pneumonie</i>	21
2.4. <i>Bacillus cereus</i>	21
2.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.6. <i>Micrococcus luteus</i>	22
2.7. <i>Candida albicans</i>	23
2ème partie : Matériel et méthodes	24
Chapitre 1. Matériel végétal	25
1. Zone d'échantillonnage.....	25
2. Identification de l'algue	26
3. Conservation de l'échantillon	26
4. Préparation des extraits algaux	26
4.1. Préparation de l'extrait brut	26
4.2. Fractionnement de l'extrait brut.....	27
II. Dosage des composés phénoliques.....	29
1. Dosage des phénols totaux	29
2. Dosage des flavonoïdes.....	30
3. Dosage des tanis condensés	31
Chapitre2. Evaluation d'Activité antioxydante.....	32
1. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	32
2. Piégeage du radical libre DPPH● (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	33
3. Capacité antioxydante totale (CAT).....	34
Chapitre 3 : Evaluation de l'activité antimicrobienne	35
1. Les Microorganismes utilisés	35
2. Confirmation des souches	35
3. Conservation des souches	36
4. Les milieux de culture	36
5. Antibiogramme	36

5.1. Préparation de l'inoculum	37
5.2. Ensemencement	37
5.3. Application des disques d'antibiogramme	38
5.4. Incubation	38
5.5. Lecture	38
6. Préparation des extraits	38
7. Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques)	38
3ème partie : Résultats et discussion	40
I. Rendements en extraits secs	41
II. Dosage des composés phénoliques.....	41
1. Dosage des phénols totaux.....	42
2. Dosage des flavonoïdes.....	42
3. Dosage des tanins.....	42
III. Pouvoir antioxydant	43
1. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	44
2. Piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	45
3. Capacité antioxydante totale (CAT).....	46
IV. Pouvoir antimicrobien.....	47
1. Résultats de test catalase et coloration de Gram	47
2. Résultat de l'antibiogramme.....	47
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	49
2.2. <i>Bacillus cereus</i>	50
2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
2.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
2.5. <i>Escherichia coli</i>	53
2.6. <i>Micrococcus luteus</i>	54
2.7. <i>Candida albicans</i>	55

3. Résultats de la méthode de disques	55
3.1. <i>Bacillus cereus</i>	55
3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	56
3.3. <i>Candida albicans</i>	57
Conclusion	61
Références bibliographiques	64
Annexes	76

Remerciements

Ce travail de recherche a été effectué au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, de l'Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, sous la direction de Monsieur **Belyagoubi Larbi**.

Je tiens à remercier très sincèrement mon directeur de recherche **Mr. Belyagoubi L.** D'avoir accepté de m'encadrer. Je le remercie pour son aide, ses conseils et ses orientations, sa disponibilité et sa patience avec moi. Je le remercie vivement pour le choix du sujet qui est intéressant et d'actualité.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à **ABDELOUAHID D.E.** Professeur à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, m'avoir fait honneur de présider ce jury.

J'exprime mes vifs remerciements à **M^{me} BENGUEDDA W.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à **M^{me} BEKHECHI C.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Que Madame **Belyagoubi Née Benhammou Nabila**, Maître de Conférences, à l'Université de Tlemcen, Département de Biologie, trouve ici l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Je ne saurai oublier de remercier les doctorantes du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Université de Tlemcen, je cite ici : **Ghania Aissaoui** en témoignage de mon amour, mon profond respect et ma reconnaissance, **Khadidja Kanoun** et **Meriem Benmahdjoub** pour leurs gentillesse et leurs aides dans la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*Ala lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma
vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,*

Courage et sécurité.

*Amon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au
long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses
encouragements.*

Ames sœurs : kaltoum et daouia

Ames frères : Abd allatif, Hamza, Abd samad et Abbas

Atout la famille NAGHRAOUI, ALKHAIR et SARKA

Ames amis

Liste des abréviations

ATCC:	American Type Culture Collection
[C] :	Concentration
°C:	degré Celsius
CAT :	Capacité antioxydante totale
DMSO:	diméthyle sulfoxyde
DO:	densité optique
DPPH· :	Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl
EAA :	Équivalent d'acide ascorbique
EAG:	Équivalents d'acide gallique
EC :	Équivalents de catéchine
g :	Gramme
h :	Heure
EC₅₀ :	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
L:	Litre
M :	Masse.
mg:	Milligramme
min :	Minute
ml:	Millilitre
mm :	Millimètre
m/v:	Masse/Volume
UV :	Radiations ultra-violettes
v:	Volume

Liste des figures

Figure 01 : Structure des phlorotannins	09
Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes	09
Figure 03 : Structure de quelques tanins.....	10
Figure 04 : La molécule d'isoprène	10
Figure 05 : Structure d'acide domoïque	11
Figure 06 : Structure d'acide kainique	11
Figure 07 : Origine des différents radicaux libres oxygénés impliqués en biologie	18
Figure 08 : Situation géographique de station de la récolte	25
Figure 09 : Protocole d'extraction de l'extrait brut	26
Figure 10 : Protocole de fractionnement de l'extrait brut	28
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	42
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes	42
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.....	42
Figure 14 : Pouvoir réducteur des extraits de l'algue <i>C.officinalis</i>	44
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits de <i>C.officinalis</i>	46
Figure 16 : Capacité antioxydante totale des extraits de <i>C .officinalis</i>	47
Figure 17 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Figure18 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Bacillus cereus</i>	50
Figure19 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Figure 20 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Klebseilla pneumonie</i>	52
Figure21 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Escherichia coli</i>	53

Figure 22 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur <i>Micrococcus luteus</i>	54
Figure 23 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testée sur <i>Bacillus cereus</i>	56
Figure 24 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testée sur <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure 25 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testée sur <i>Candida albicans</i>	58

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues.....	06
Tableau 02 : Classification de <i>Corallina officinalis</i> L.....	14
Tableau 03 : Composition d'algue <i>Corallina officinalis</i> L.....	15
Tableau 04 : Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude.....	25
Tableau 05 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.....	35
Tableau 06 : Liste des antibiotiques testés sur les bactéries.....	37
Tableau 07 : Rendements en extraits obtenus à partir de l'algue <i>Corallina officinalis</i> L.....	41
Tableau 08 : Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les extraits de <i>Corallina officinalis</i>	43
Tableau 09 : Concentrations EC ₅₀ des extraits de <i>Corallina officinalis</i> par le test de réduction de fer.....	45
Tableau 10 : Résultats du test catalase.....	47
Tableau 11 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Tableau 12 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Bacillus cereus</i>	51
Tableau 13 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
Tableau 14 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Klebsiella pneumoniae</i>	53
Tableau 15 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Escherichia coli</i>	54
Tableau 16 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Micrococcus luteus</i>	55

Liste des photos

Photo 01: <i>Corallina officinalis</i> dans la plage de Madrid	13
Photo 02 : Processus d'extraction par Soxhlet	27
Photo 03 : Evaporateur rotatif de type HAHVVAPORHS-2005 V-N	29
Photo 04 : Coloration de Gram des souches bactériennes testées	48
Photo 05 : Evaluation de l'activité antimicrobienne sur <i>C. albicans</i> par la méthode des disques des extraits.....	59

*INTRODUCTION
GENERALE*

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale (**Glombitza et al., 1979 ; Smit , 2004**). Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, ont élaboré des défenses chimiques pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les micro-organismes (**Paul et Fenical, 1987 ; Steinberg et Schneider, 1997**).

Les algues sont des organismes terrestres les plus anciens et les seuls êtres vivants capables de produire de la matière organique par la photosynthèse (**Hervé, 2012**). Plus de 15000 espèces d'algues se trouvent dans les océans de la planète (**Bansemir et al., 2006**). Environ 6000 espèces d'algues ont été identifiées et sont regroupées en différentes catégories à savoir les algues vertes (Chlorophytes), brunes (Phéophytes) et rouges (Rhodophytes).

Les algues sont une source riche potentiellement de métabolites bioactifs pour l'industrie pharmaceutique dans le développement de médicaments (**Abedin et Taha, 2008 ; EL-Gamal, 2010**). Beaucoup d'algues possèdent des composés bioactifs qui inhibent la croissance de certaines bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif (**Siddhanata et al., 1991**) tels que les stérols, les caroténoïdes terpénoïdes, les vitamines, les acides gras, les acides aminés, les antioxydants comme les polyphénols, des alcaloïdes, des polysaccharides tels que l'agar-agar, carraghénanes, les protéoglycanes et l'alginate (**Paniagua Michel, 2009 ; Cynthia Layse, 2011**).

Plusieurs travaux ont été publiés sur la recherche des activités antibactérienne, antioxydante, antifongique, antivirale et anti-inflammatoire des extraits d'algues récoltées le long des côtes atlantiques et méditerranéennes marocaine (**Etahiri et al., 2001 ; Elkouri et al., 2004 ; Etahiri et al., 2007 ; Chiheb et al., 2009 ; Bouhlal et al., 2010 ; Zubia, 2007**).

Plusieurs études ont montré que des extraits de l'algue utilisés en médecine traditionnelle pourraient fournir des composés agissant sur de nouveaux récepteurs avec un nouveau mécanisme d'action contre les souches pathogènes multirésistantes (**Fitton, 2006**).

L'algue rouge, *Corallina officinalis*, est une algue comestible bien connue en Chine et de nombreux autres pays, et aussi documentée qu'un médicament en médecine traditionnelle chinoise depuis plus de 100 ans (Yuling et al., 2011). Elle est également exploitable commercialement comme une source de chaux et d'oligo-éléments dans les industries agricoles, horticoles et médicales.

C'est pour cela nous nous sommes intéressées à étudier les activités antioxydante et antimicrobienne de cette algue rouge *Corallina officinalis* qui est récoltée des roches de la plage Madrid à l'ouest de la wilaya Ain Témouchent en mai 2013.

Notre travail est divisé en trois parties :

La première partie : concernant l'étude bibliographique comprend :

- ✓ Généralités sur les algues en premier chapitre ;
- ✓ La présentation de l'algue *Corallina officinalis* et quelques travaux antérieurs en deuxième chapitre ;
- ✓ Un aperçu général sur les radicaux libres et les antioxydants en troisième chapitre ;
- ✓ En quatrième chapitre, l'activité antimicrobienne et les microorganismes testés.

La deuxième partie : reporte la description du protocole expérimental en cinq étapes en exposant les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail :

- ✓ L'extraction et fractionnement de l'extrait brut de l'algue par des solvants de polarité différente ;
- ✓ Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ;
- ✓ Évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de l'algue *C. officinalis*, par trois méthodes : la capacité antioxydante totale, la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH ;
- ✓ Étude du pouvoir antimicrobien des extraits en testant sept souches microbiennes : six bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonias* et la levure *Candida albicans*

Dans **la troisième partie**, nous interprétons et discutons les résultats obtenus.

Synthèse bibliographie

1. Définition :

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans nos plans d'eau, elles sont capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse (**Rivard-Sirois , 2005**). Dépourvus de racines, de tige et de feuilles, mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer sur le sol ou sur le tronc des arbres (**Michel, 2000**).

Les algues sont classées dans le groupe des thallophytes puisque leur corps est un thalle, mais du fait de la diversité des formes, certaines espèces phytoplanctoniques sont classées dans le règne des protistes qui regroupe les eucaryotes unicellulaires (**Hervé, 2012**).

La taille des algues peut varier de la cellule microscopique unique, à quelques cellules en colonie et jusqu'à 7,5 m (laminaires, sargasses) pour certaines formes multicellulaires (**Hervé, 2012**).

2. Classification des algues :

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, multicellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplastes (**Memory, 2006**).

La classification des algues repose sur cinq critères :

Trois critères biochimiques qui sont :

- ✓ La nature des pigments photosynthétiques
- ✓ La nature des polyholosides de réserve
- ✓ La nature des polyholosides de soutien ;

Deux critères morphocytologiques qui concernent :

- ✓ Le type de flagelle
- ✓ Certains détails de la structure cellulaire.

A partir de ces critères, les algues sont réparties en plusieurs divisions, cependant nous nous intéresserons qu'aux trois grandes divisions d'algues marines macroscopiques qui sont : Les

Chlorophycées (algues verts), les Phéophycées (algues brunes) et les Rhodophycées (algues rouges) (**Tableau 01**).

Tableau 01 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (**Géraldine et Céline, 2009**).

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments	Habitat
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500 d'espèces	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotènes	Eau douce, saumâtre, salée et terrestre
Phéophytes (Plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a,c) Xanthophylles Carotènes	Eau salée et saumâtre
Rhodophytes (Plantes)	Algues rouges	3900 d'espèces	Chlorophylle (a rarement d) Xanthophylles Carotènes, Zéaxanthine, Phycocyanine C, Phycoérythrine	Eau douce, saumâtre et salée
Cyanophytes (Procaryotes)	Cyanobactéries, algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a), Allophycocyanines, Phycocyanine, Phycoérythrine, Phycoérythrocyanine	Eau riche en minéraux

3. Composition chimique

La composition biochimique des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance, de stress... (**Julie, 2010**)

Les algues se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage de glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes.

3. 1. Les éléments minéraux :

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux d'où la fraction minérale peut représenter jusqu'à 36 % de la masse sèche.

Parmi ces éléments présentés dans les algues, nous citons : le potassium, le chlore, le sodium, le calcium, le magnésium, le soufre, le phosphore, l'iode, le fer, le cuivre, le manganèse et de nombreux autres oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, ainsi que bien d'autres oligo-éléments comme le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt. (**Viguerie et al., 2002**).

3.2. Les lipides :

Les lipides dans l'algue peut être divisés en : stérols, tri-, di-, ou mono-acylglycérols et phospholipides. La teneur lipidique est très faible de l'ordre de 1 à 5% de la matière sèche (**Darcy-Vrillon, 1993**). Cependant, du point de vue qualitatif, les lipides algaux présentent une proportion en acides gras essentiels importante dont les algues rouges contiennent des taux élevés d'acides gras polyinsaturés.

3.3. Les protéines :

La teneur en protéines des algues marines est variable, certaines espèces d'algues rouges possèdent une fraction protéique (30–40 % de la matière sèche) comparable, du point de vue quantitatif, à celle des légumineuses (**Fleurence et Kaas, 1999**).

3.4. Les vitamines :

La composition vitaminique des algues est intéressante, malgré de grandes variations saisonnières. L'ensemble des vitamines est bien représenté par les groupes A, B1, B2, B6, B12, C, D et E. L'intérêt principal réside dans la vitamine B12 dont les teneurs sont assez importantes dans les algues contrairement aux plantes (**Watanabe et al., 2012**).

3.5. Les caroténoïdes :

Toutes les macroalgues contiennent des caroténoïdes qui sont des pigments liposolubles composés d'unités isoprènes. Ceux sont de puissants antioxydants. Ils représentent en moyenne 0,1% du poids sec des algues brunes qui sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine, xanthophylles (violaxanthine) et β -carotène (**Yan et al., 1999**).

3.6. Les polysaccharides :

Les algues riches en polysaccharides très particuliers : les phycocolloïdes (18 à 45% de la masse sèche chez les algues brunes). Les polysaccharides sont présentés par les alginates, les agars, les carraghénanes, les ulvanes et les fucoidiens, qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et d'autres branches de l'industrie. Ils sont devenus une source importante de composés naturels bioactifs (**Cumashi et al., 2007 ; Dos Santos Amorim, 2012**).

3.7. Les fibres :

Les algues forment une source importante de fibres (de 33 à 61%) qui facilitent le transit intestinal. La fraction de fibres solubles constituée selon l'espèce d'agar-agar, de carraghénane, de xylane, d'alginate, de fucane, de laminarane et d'ulvane, offre un intérêt particulier lié à la nature chimique originale des monomères constitutifs (**Lahaye, 1991**).

4. Les métabolites secondaires

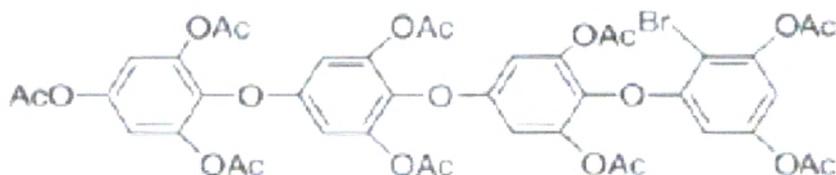
Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes.

Les métabolites secondaires possédant des activités pharmacologiques et biologiques prometteuses ont été mis en évidence dans plusieurs espèces d'algues ; ils constituent environ 35 % des substances chimiques nouvellement découverts durant la période 1977-1987, suivie d'invertébrés marins (**Ioannou et al., 2008**).

Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007**).

4.1. Les composés phénoliques (polyphénols) :

La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelés phlorotannins. Les phlorotannins constituent un groupe très hétérogène de molécules (structure et degré de polymérisation) fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes qui en contiennent entre 5 et 15 % du poids sec (**Glombitza et Keusgen, 1995**). L'activité antioxydante d'extraits de polyphénols d'algues brunes et rouges a été mise en évidence par des études *in vitro* (**Nakamura et al., 1996**).



Phlorotannins

Figure 01 : Structure des phlorotannins (Nakamura *et al.*, 1996).

4.1.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanines (Effendi *et al.*, 2008).

✓ Structure

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyranne (Skerget *et al.*, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Dacosta, 2003).

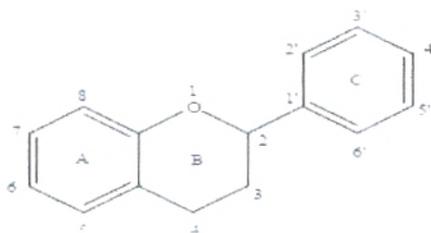


Figure 02: Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo *et al.*, 1999).

4.1.2 Les tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (Paris et Hurabielle, 1981).

On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien par leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

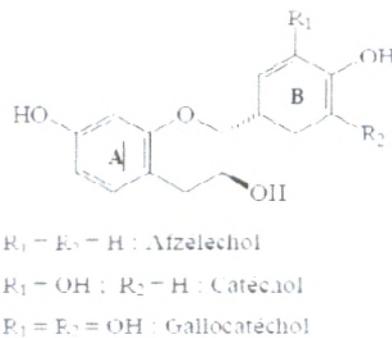


Figure 03 : Structure de quelques tanins (Guigniard, 1996).

4.2. Les isoprénoides (Terpénoïdes) :

Les terpénoïdes sont constitués d'unités isoprènes (C5). Ils sont classés en plusieurs catégories : monoterpènes (C10), diterpènes (C20), triterpènes (C30), sesquiterpènes (C15) et tetraterpènes (C40). Les algues brunes produisent des terpénoïdes et des acétogénines (Harper et al., 2001). Les algues rouges sont aussi caractérisées par la production d'un nombre impressionnant de composés halogénés. Les algues vertes, principalement les espèces de Bryopsidales produisent des composés sesquiterpénoïdes et diterpénoïdes (Blunt et al., 2011).

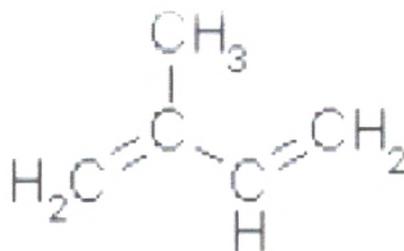


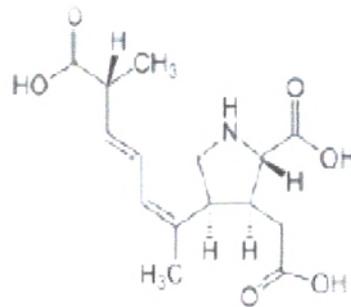
Figure 04 : La molécule d'isoprène (Calixto, 2005).

4.3. Les alcaloïdes :

Les composés azotés trouvés dans les algues marines sont relativement rares et peuvent être divisés en trois groupes : phényléthylamine alcaloïdes, indoles et alcaloïdes indoliques halogénés et autres alcaloïdes.

Structurellement, les alcaloïdes isolés des algues marines pour la plupart appartiennent à des groupes de la phényléthylamine et de l'indole. Les activités biologiques de ces alcaloïdes n'ont pas été pleinement examinées. (Gross et al , 2006).

Les algues marines contiennent des composés hétérocycliques azotés. Parmi eux, les plus intéressants sont l'acide domoïque (Figure 05) et l'acide kainique (Figure 06).



Acide domoïque

Figure 05 : Structure d'acide domoïque(Maeda, 1986)

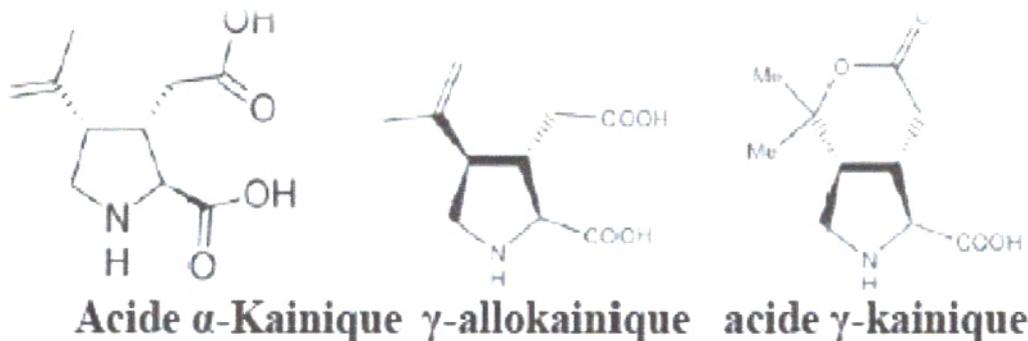


Figure 06 : Structure d'acide kainique (Merck, 1968)

5. Mode de reproduction :

La reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en sporulation : des spores peuvent être formées dans

les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporanges, soit en une fragmentation de thalles : le thalle se sépare en deux parties qui redonneront chacune un nouveau thalle, soit en scission binaire : division du noyau puis du cytoplasme (**Michel, 2000**).

Dans la reproduction sexuée, il y a fusion de gamètes mâle et femelle pour produire un zygote diploïde. Des œufs se forment dans les cellules réceptrices identiques aux cellules somatiques (*Spirogyra*) ou dans des cellules végétatives femelles peu modifiées nommées oogones (*Fucus*) (**Michel, 2000**).

Les spermatozoïdes sont produits dans des structures mâles spécialisées appelées anthéridies.

6. Utilisation :

Les algues sont utilisées depuis longtemps comme des engrais. Il a été rapporté que les algues contiennent des niveaux élevés de minéraux, de vitamines, des acides aminés essentiels, des hydrates de carbone non digestibles et fibres alimentaires (**Jiménez et Goni, 1999**).

À partir du début du 20^{ème} siècle, on les retrouve dans l'industrie des colloïdes et extraction des alginates et des carraghénanes (**Julie et al., 2010**).

Les algues sont aussi servies comme médicaments à l'état brut pour le traitement de nombreuses maladies telles que la carence en iode (goitre, hyperthyroïdie), le traitement de divers troubles intestinaux, vermifuges et agents hypocholestérolémies et hypoglycémiques, comme une source de vitamines supplémentaires, comme pansements, onguents et en gynécologie (**Julie et al., 2010**).

1. Famille des *Corallinacées* :

La famille des Corallinaceae (ou Corallinacées) regroupe les algues rouges de l'ordre des Corallinales. Cette famille se distingue morphologiquement de la famille Sporolithaceae. Néanmoins, elle se ressemble dans sa formation aux chambres de sporanges (Taylor et al., 2009).

2. Genre *Corallina* :

Corallina est un genre d'algues rouges de la famille Corallinacées possède plus de 564 espèces qui se trouvent couramment dans les piscines de roche sur les bords de la mer avec des disques abrasifs et squelettes calcaires. (Aguirre et al., 2010).

3. *Corallina officinalis*

3.1. Description botanique

Corallina officinalis est une algue rouge appartenant à la classe des rhodophycées ressemblant un petit corail de 2 à 12 cm (Poirier et Nadeau, 1998), elle est fixée aux rochers par une croûte. Cette algue dure calcifiée, son axe est cylindrique condensé avec des frondes articulées et pennées (Guiry, 1998).

Les articles sont en ovale renversés, les petites branches disposées comme dans les feuilles pennées, et portant elles –même d'autres branches disposées semblablement (Cuvier et al., 1817). Ils sont formés de filaments centraux dont les cellules sont longues, étroites et disposées en rangées. Chaque article donne naissance à deux articles secondaires appelés conceptacles (Guiry, 1998).

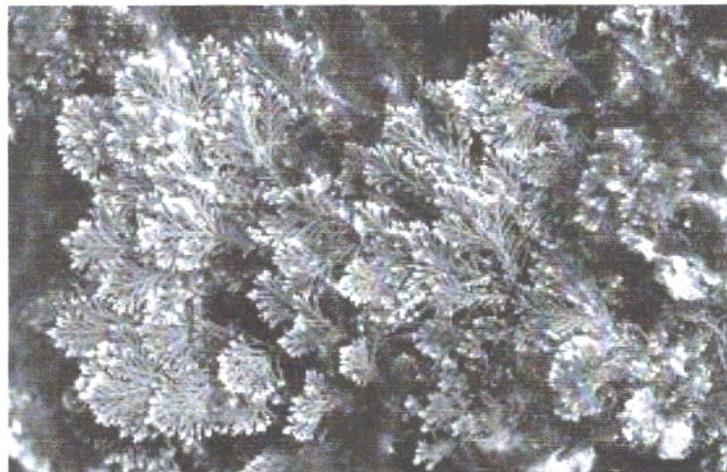


Photo 01: *Corallina officinalis* dans la plage de Madrid(<http://www.marinespecies.org>)

3.2. Classification

Cette algue a été classée selon le tableau 02.

Tableau 02 : Classification de *Corallina officinalis* L (Linnée, 1883 ; Guiry, 1998).

Règne	Plante
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Rhodophytes
Classe	Rhodophycées
Sous –classe	Floridées
Ordre	Cryptonémiales
Famille	Corallinacées
Genre	<i>Corallina</i>
Espèce	<i>Corallina officinalis</i> L

3.3. Mode de reproduction et multiplication :

La reproduction de l'algue *C. officinalis* est sexuée. les conceptacles piriformes ou arrondis, toujours terminaux, sont des cavités closes où se développent les organes reproducteurs et aucune différence morphologique ne semble exister entre le sporophyte et le gamétophyte (Ficher et al., 1987 ; Ozenda, 1990).

3.4. Composition :

Le tableau ci-dessous présente quelques composants rencontrés dans l'espèce *C. officinalis*.

En plus de ces derniers, cette algue est une source de polysaccharides sulfatés qui sont reconnus pour leurs propriétés thérapeutiques comme des activités anticouagulente, antithrombotique, antitumorale, antivirale et antiherpétique (Yang et al., 2011).

Tableau 03 : Composition chimique d'algue *Corallina officinalis* (Lamouroux, 1824).

Composants	mg/g
Sels marins	10
Gélatine	66
Albumen	64
Sulfate de chaux	19
Silice	7
Fer	2
Phosphate de chaux	3
Magnésium	23
Chaux	420
Acide carbonique combiné avec la chaux	196
Acide carbonique combiné avec le magnésium	51
Eau	141

3.5. Utilisation :

Les espèces de *C. officinalis* ont été utilisées comme antihelminthique, ou destructeur de vers (Lamouroux, 1824). On utilise aussi dans la fabrication des fins médicales, fins de vers, et en industrie pharmaceutique comme médicaments, à cause d'extraits de l'algue prétendument contenant un vermifuge efficace (Hillson, 1977).

3.6. Habitat :

Cette espèce peut être trouvée dans la zone intertidale (Poirier et Nadeau, 1998) bien que l'algue soit connue pour survenir en eau profonde (Cuvier et al., 1817). Elle est présentée dans toutes les mers de l'Europe (Lamouroux, 1824), mais répandue et abondante spécialement sur le littoral méditerranéen (Guiry, 1998).

3.7. Travaux antérieurs

D'après nos connaissances, peu de travaux ont été reportés sur la composition chimique et les activités biologiques de l'algue *C. officinalis*.

L'étude de l'activité antioxydante des fractions des polysaccharides sulfatés de cette algue a été étudiée par **Yang et al. (2011)**. Les fractions obtenues (F1, F2) renferment seulement deux monosaccharides, nommés le galactose et le xylose. D'autres travaux complémentaires sur la composition des stérols, des polypeptides et des acides aminés ont été investigués dans certains espèces du *Corallina* (**De Rosa et al., 2003**).

1. Introduction

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques, toutefois, il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces oxygénées réactives (EOR) et les espèces réactives de l'azote (ERN) (Halliwell, 1994).

2.. Radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

Parmi toutes les espèces susceptibles de se produire dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote ($NO\cdot$), le radical peroxyde ($ROO\cdot$) et le radical alkoxyde ($RO\cdot$). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

3. Origine des radicaux libres

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2006).

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent (Figure 07), parmi eux nous citons :

- ✓ des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Arausseau, 2002) ;
- ✓ des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan, 2004 ; Van Antwerpen, 2006) ;
- ✓ du système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Li et al., 2002 ; Valko et al., 2004 ; Valko et al., 2006) ;
- ✓ d'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Tamer, 2003).

- ✓ des peroxysomes et le système de cytochrome.

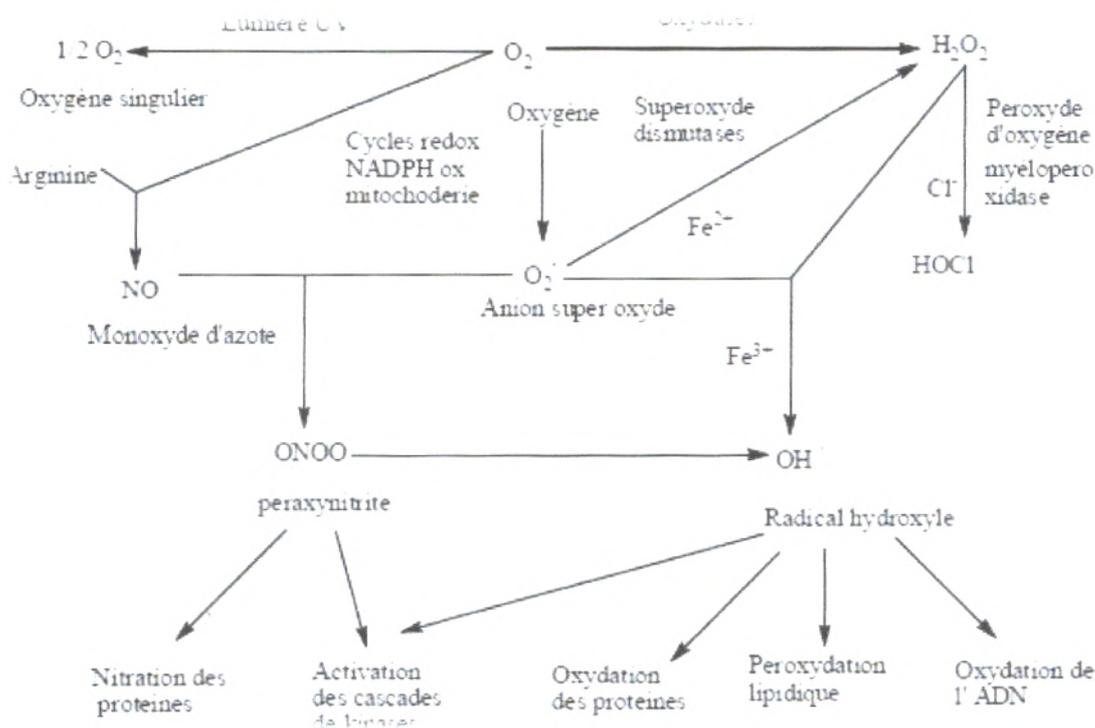


Figure 07: Origine des différents radicaux libres oxygénés impliqués en biologie (**Favier, 2003**)

Ces radicaux sont responsables de l'altération des macromolécules cellulaires à savoir l'ADN, les protéines, les lipides et les sucres en produisant le vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (**Favier, 2003**).

4. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**). Les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (**Haton, 2005**).

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule :

4.1. Antioxydants endogènes :

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avissar *et al.*, 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

4.2. Antioxydants exogènes

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes,...etc. sont considérées comme des antioxydants.

5. Activité antioxydante *in vitro*

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Parmi ces techniques, nous citons : la réduction du fer (Oyaizu, 1986), le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998), la quantification de la capacité antioxydante totale (Prieto *et al.* (1999).), la méthode de décoloration du bêta-carotène (Sun et Ho, 2005)....etc.

1. Introduction

Les algues sont riches en molécules à activités antimicrobiennes. De nombreux travaux se sont intéressés à l'activité antimicrobienne d'extraits riches en différents polymères matriciels. Cependant, toutes ces approches ne caractérisent que l'activité de mélanges et non de molécules pures (Etahiri et al., 2007).

2. Les microorganismes

Les micro-organismes sont des organismes vivants microscopiques et ubiquitaires qui représentent la biomasse la plus importante de la Terre. Ils sont représentés par diverses formes de vies dont les bactéries, certains champignons microscopiques (Rybicki, 1990; Lwoff, 1957).

2.1. *Escherichia coli* :

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif (Patrick et al., 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm (Steven et al., 2004).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

Pouvoir pathogène

Ces souches sont responsables de la diarrhée des voyageurs et de syndromes diarrhéiques cholériformes épidémiques dans les pays du tiers-monde. Ce sont des souches capables d'excréter des toxines (toxines LT et /ou ST) (Guiraud et al., 2004).

Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives notamment les salmonelles (Federighi, 2005) ou urinaires ou bien encore des méningites néonatales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Patrick et al., 1988)

2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *P. aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires. *P. aeruginosa* est une espèce aérobie à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes (Palleroni, 2008).

Pouvoir pathogène

Cette espèce est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires (Richard et Kiredjian., 1995).

2.3. *Klebsiella pneumoniae*

Les *Klebsiella* sont des bacilles Gram négatif, immobiles et capsulées. Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactéries commensales (Lawlor et al., 2005)

Pouvoir pathogène

K. pneumoniae est responsable d'infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), intestinales et urinaires. Elle a un effet cytotoxique sur les épithéliums des voies aériennes et peut être responsable d'infections nosocomiales (Victoria Cano et al., 2009)

2.4. *Bacillus cereus*

Un grand bacille à Gram positif en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile et de type respiratoire aéro-anaérobie. Le germe *B. cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires opportunistes.

Pouvoir pathogène

L'intoxication alimentaire à *B. cereus* revêt deux formes :

- ✓ La forme émétique, accompagnée de nausées et de vomissements (durée d'incubation : 1 à 5 heures).
- ✓ La forme diarrhéique, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée (durée d'incubation : 6 à 24 heures).

2.5. *Staphylococcus aureus* :

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Elles sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule, coagulase et catalase positive. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick et al., 1988).

Pouvoir pathogène

S. aureus tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles ou associées à la paroi (hémolysines α , β , γ et δ) (Guiraud et al., 2004). Elle est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Steven et al., 2004).

2.6. *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus est une bactérie Gram-positif, sphérique, saprophyte faisant partie de la famille des Micrococcaceae. C'est une bactérie aérobie obligatoire, du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. Elle peut aussi coloniser la bouche, la muqueuse, l'oropharynx et les voies respiratoires supérieures humaines (Madigan et Martinko, 2005).

Pouvoir pathogène :

Bien que *M. luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés. Elle est résistante à un potentiel hydrique réduit et peut tolérer la dessiccation et de fortes concentrations salines (Madigan et Martinko, 2005)

2.7. *Candida albicans*

Candida albicans est un organisme vivant à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain. Elle est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida* (Bennett et Johnson, 2005).

Pouvoir pathogène

Elle provoque des infections fongiques (candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de mortalité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du Sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse (Sheppard et al, 2004).

Matériel et Méthodes

1. Zone d'échantillonnage

L'algue *Corallina officinalis* a été récoltée à partir des roches de la plage de Madrid à l'ouest de la wilaya Ain Témouchent en mai 2013.

Les paramètres géographiques de notre station d'étude sont représentés dans le **tableau 04** et la **figure 08**.

Tableau 04: Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude (Encarta, 2009).

Station	Altitude	Longitude (O)	Latitude (N)	Etage bioclimatique
Plage Madrid (Ain-Témouchent)	0 m	1°28'	35°18'	Littoral



Figure 08 : Situation géographique de station de la récolte (Encarta, 2009)

○ : Station de la récolte.

2. Identification de l'algue

L'échantillon d'algue *C. officinalis* a été identifié par le docteur Benguedda Wassila, du laboratoire de recherche : Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique, Département d'Écologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

3. Conservation de l'échantillon

Après la récolte, l'algue a été rincée directement à l'eau de mer et déposée dans des sachets, puis elle est transportée au laboratoire. A ce niveau, l'algue a été rincée à l'eau de robinet, puis à l'eau distillée pour débarrasser les différents parasites (petits animaux, débris de coquillages) et les polluants. Par la suite, elle a été séchée dans une chambre à température ambiante et à l'obscurité pendant quelques jours (Yuling, 2011).

4. Préparation des extraits algaux

4.1. Préparation de l'extrait brut

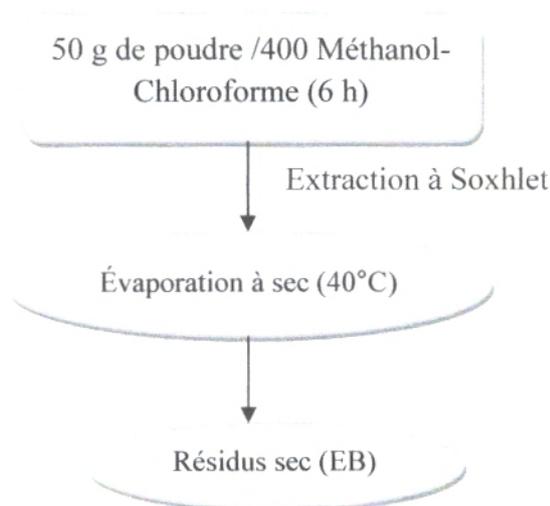


Figure 09 : Protocole d'extraction de l'extrait brut.

4.2. Fractionnement de l'extrait brut

Une quantité broyée de 100 g de matière sèche de *C. officinalis* a été extraite dans un mélange de 500 ml du méthanol : chloroforme (2:1) dans un extracteur de Soxhlet pendant 6 h (**Photo 04**). L'extraction a été répétée deux fois. La solution organique a été évaporée sous vide pour donner un extrait brut qui a été dissout dans 90% du méthanol aqueux, puis extrait avec 3 x 100 ml d'éther de pétrole. La solution aqueuse du méthanol est évaporée pour un semi-solide sous pression réduite, qui a ensuite été dissous dans 200 ml d'eau distillée puis extrait successivement avec 3 x 100 ml de dichlorométhane, 3 x 100 ml d'éther diéthylique, 3 x 100 ml de l'acétate d'éthyle et de 3 x 100 ml de n-butanol, respectivement (**Figure 10**).

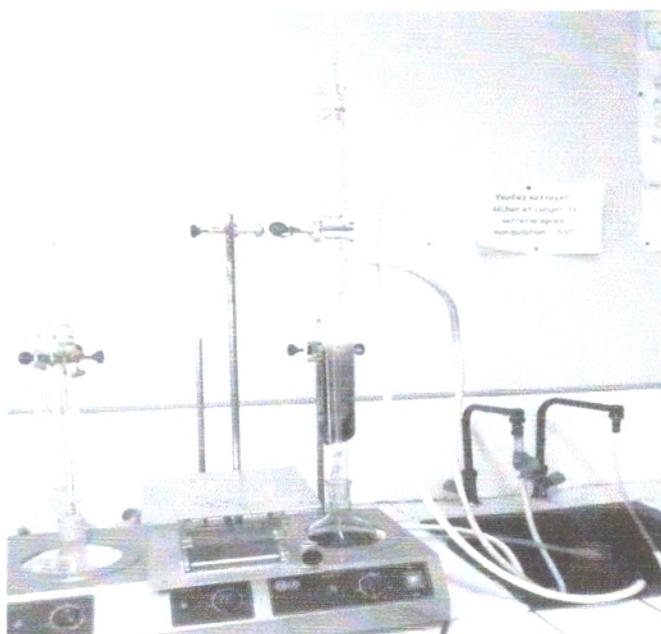


Photo 02 : Processus d'extraction par Soxhlet.

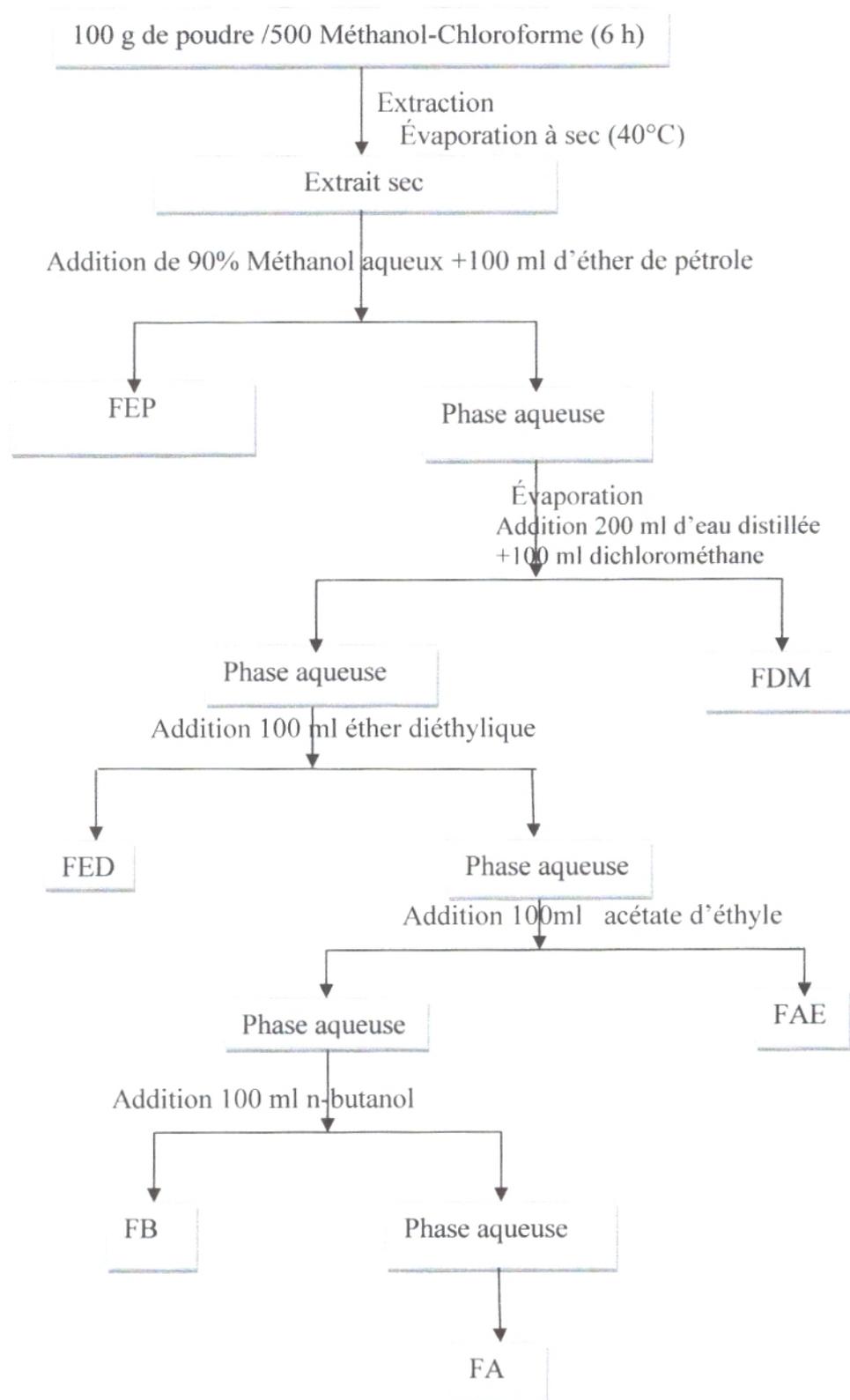


Figure 10 : Protocole de fractionnement de l'extrait brut (Chandini, 2008).

Fraction éther de pétrole (FEP); Fraction dichlorométhane (FDM); Fraction éther diéthylique (FED); Fraction acétate d'éthyle (FAE); Fraction butanolique (FB); Fraction aqueuse (FA).

Les six fractions résultantes ont été évaporées à sec sous pression réduite, pour donner les fractions éther de pétrole (FEP), dichlorométhane (FDM), éther diéthylique (FED), acétate d'éthyle (FAE), et n-butanol (FB), et aqueuse (FA), respectivement



Photo 03 : Evaporateur rotatif de type HAHNVAPORHS-2005 V-N

Après évaporation, les résidus secs sont récupérés par 3 ml du méthanol, puis conservés dans un réfrigérateur pour des tests ultérieurement.

✓ **Calcul des rendements des extraits secs (AFNOR, 1986)**

Pour déterminer le rendement de l'extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$R (\%) = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation ;

P3 : poids de la matière algale

II. Dosage des composés phénoliques

1. Dosage des phénols totaux

➤ Principe

Le dosage des phénols totaux a été déterminé par la méthode de **Singleton et Ross, 1965)** utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise

entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ **Mode opératoire :**

200 µl de l'extrait est introduit dans des tubes à essai, le mélange (1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5%) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORD 200 PLUS

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de matière algale sèche (mg EAG/g MS).

2. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Zhishen et al, (1999)** avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm.

➤ **Mode opératoire**

Un volume 500 µl de l'extrait convenablement dilué est mélangé avec 1500 µl d'eau distillée, suivi de 150 µl de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution est déterminée à 510 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits étudiés est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de matière algale sèche (mg EC/g MS).

3. Dosage des tanins condensés

➤ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto, 1985**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

➤ Mode opératoire

50 µl de l'extrait est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORD 200 PLUS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de matière algale sèche (mg EC/g MS).

1. Introduction :

Parmi tous les tests existants du pouvoir antioxydant, nous avons sélectionné trois méthodes qui ont l'avantage d'être simple et rapide. Il s'agit de : la réduction du fer, le piégeage du radical DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et la quantification de la capacité antioxydante totale (CAT).

2. Réduction du fer

➤ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert, 2006**).

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu (1986)**. En effet, 0,5 ml de différentes concentrations de chaque extrait dilué dans l'eau distillée est mélangé avec 1,25 ml de la solution tampon phosphate (0,2M ; pH 6,6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. Après, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. Un volume de 1,25 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml FeCl_3 (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, nous avons tracé les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions de l'algue étudiée afin de déterminer la concentration d'efficacité à 50% (EC_{50}).

3. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

➤ Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•], qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Parejo et al., 2002**).

✓ On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-William et al., 1995**).

➤ Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Sanchez-Moreno et al. (1998)**.

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre le blanc.

Expression des résultats

Nous avons calculé les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I \% = ((\text{Ac} - \text{At}) / \text{Ac}) * 100$$

Ac : absorbance du contrôle ; **At** : absorbance du test effectué.

4. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des fractions est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdate Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate /Mo(V) à pH acide .

Un volume de 0.3 ml d'extrait est mélangé avec 3 ml de solution de réactifs (acide sulfurique 0.6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont visés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution de réactifs et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière algale sèche (mg EAA/g MS). Les expériences sont répétées trois fois.

Les tests antibactérien et antifongique ont pour but de rechercher l'activité biologique des fractions de l'algue *C. officinalis* vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries et levure.

1. Microorganismes utilisés

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des fractions sont mentionnées dans le **tableau 05**.

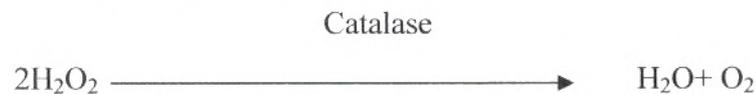
Tableau 05 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.

Microorganismes	Gram	Code
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC10876
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739
<i>Klebseilla pneumonie</i>		ATCC 700603
<i>Candida albicans</i>		ATCC 26790

2. Confirmation des souches

a) Test de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygène selon la réaction :



À l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, une colonie est mise en suspension sur une lame propre et séchée avec une ou deux gouttes d'eau oxygénée (10 volumes). La réaction se traduit par un dégagement gazeux du dioxygène qui se manifeste par l'apparition de bulles de gaz visibles : le test catalase est (+) et si il n'y a pas de bulles de gaz : catalase (-) (**Marchal et al., 1991**).

b) Coloration de Gram

- ✓ Étalement sur la lame : Avec une pipette stérile prélever une colonie isolée d'une culture pure, la déposer et l'étaler sur une lame. Le frottis mince et homogène.
- ✓ Séchage : Le frottis est séché avec le chaud.
- ✓ Fixation : Le frottis est fixé à la chaleur
- ✓ Coloration de Gram :

Le frottis est coloré au violet de gentiane pendant 1 min; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de Lugol, et de nouveau rincé rapidement, puis décoloré par l'alcool (l'éthanol 95%), sur la lame inclinée jusqu'à ce que l'alcool n'entraîne plus de colorant, lavé abondamment à l'eau puis quelques gouttes de fuchsine sont versées, laissées agir 30 secondes à 1 min puis laver et sécher.

L'observation microscopique est effectuée à l'aide d'un microscope optique.

Résultats

- Gram+ : Bactéries violettes.
- Gram- : Bactéries roses.

3. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 7 ml du milieu de culture incliné (gélose nutritive pour les bactéries et gélose Sabouraud pour les levures).

4. Milieux de culture

Selon les méthodes et les souches choisies, nous avons utilisé les milieux suivants :

La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits ;
La gélose Sabouraud pour la levure.

5. Antibiogramme

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques.

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre imprégnés des antibiotiques à différentes concentrations conditionnés par le fabricant.

L'effet antimicrobien était testé par différents antibiotiques couramment utilisés sur six souches pathogènes, ceci afin de comparer l'efficacité thérapeutique des extraits d'algues.

Tableau 06 : Liste des antibiotiques testés sur les bactéries

Antibiotiques	Code	Charge
Ampicilline	AMP	10 µg
Bacitracine	B	10 UI
Cefotaxime	CTX	30 µg
Lincomycine	L	15 µg
Pénicilline	P	6 µg
Tétracycline	TE	30 µg
Vancomycine	VAN	30 µg

5.1. Préparation de l'inoculum

Pour la fixation de l'inoculum de départ, nous avons employé une méthode photométrique (Atwal, 2003). A partir d'une préculture d'environ 20 h sur gélose Mueller Hinton pour les bactéries et 48 h pour la levure, on a préparé une suspension bactérienne dont la densité optique doit être de 0.08 à 0.1 mesuré à 625 nm (10^8 UFC/ ml).

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien du milieu stérile s'il est trop fort.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

5.2. Ensemencement

L'ensemencement se fait par la méthode d'écouvillonnage :

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✓ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (Rahal *et al.*, 2011).

5.3. Application des disques d'antibiogramme

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.

Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Rahal et al., 2011**).

5.4. Incubation

Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 48 h à 30°C pour la levure.

5.5. Lecture

- ✓ On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte ;
- ✓ On compare les résultats aux valeurs critiques ;

Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Resistance

6. Préparation des extraits

Après l'extraction sélective, les extraits secs sont récupérés dans le DMSO pour obtenir des concentrations (50 et 100 mg/ml).

Ce solvant de solubilisation a été testé sur les souches utilisées avec une concentration de 10 µl par disque. Les résultats négatifs obtenus prouvent qu'il n'a aucun effet inhibiteur.

7. Méthode de diffusion sur agar (méthode des disques)

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie, repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans cette technique, il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (**Broadsky et al., 1976**).

Dans cette étude, le pouvoir antimicrobien a été déterminé en utilisant la méthode de diffusion sur agar (Lesueur *et al.*, 2007; Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2012).

Dans des boîtes de Pétris stériles préalablement coulées par des milieux (Müller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure), la suspension de 10^8 UFC/ml a été ensemencée l'aide d'un écouvillon stérile. Puis, des disques de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre, imprégnés de 10 μ l des différents extraits ont été déposés stérilement sur la surface des milieux, préalablement ensemencée. Après incubation pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 48 h à 35°C pour la levure, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition.

Expression des résultats

Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type (SD).

Results et Discussion

I. Rendements en extraits secs

L'extraction des différents composés les plus abondants dans notre algue nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait qui est exprimé en pourcentage pour 100 g du matériel végétal sec et broyé. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **Tableau 07**.

Tableau 07 : Rendements en extraits obtenus à partir de l'algue *C.officinalis*.

Extraits		Rendements%
Extrait brut	EB	1.750± 0.115
Fraction éther de pétrole	FEP	0.118 ± 0.003
Fraction dichlorométhane	FDM	0.093± 0.033
Fraction éther diéthylique	FED	0.130± 0.009
Fraction acétate d'éthyle	FAD	0.023± 0.005
Fraction n-butanol	FB	0.090± 0.034
Fraction aqueuse	FA	0.990± 0.006

Nous remarquons que l'extrait brut donne un meilleur rendement de 1.750 %, suivi par la fraction aqueuse de 0.990 %. Pour les autres fractions, les rendements sont de 0.130, 0.118, 0.093, 0.090 et 0.023% pour l'éther diéthylique, l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le n-butanol et l'acétate d'éthyle, respectivement.

II. Dosage des composés phénoliques

Les résultats obtenus des dosages sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique (mg EAG) pour les phénols totaux et mg équivalents de catéchine (mg EC) pour les flavonoïdes et les tanins condensés par gramme de matière algale sèche, en utilisant les équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage (**Figure 11, 12 et 13**).

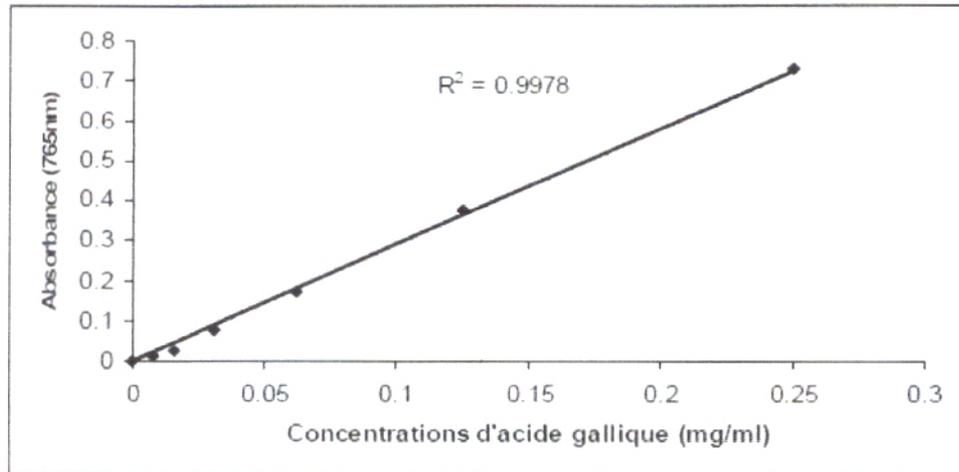


Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

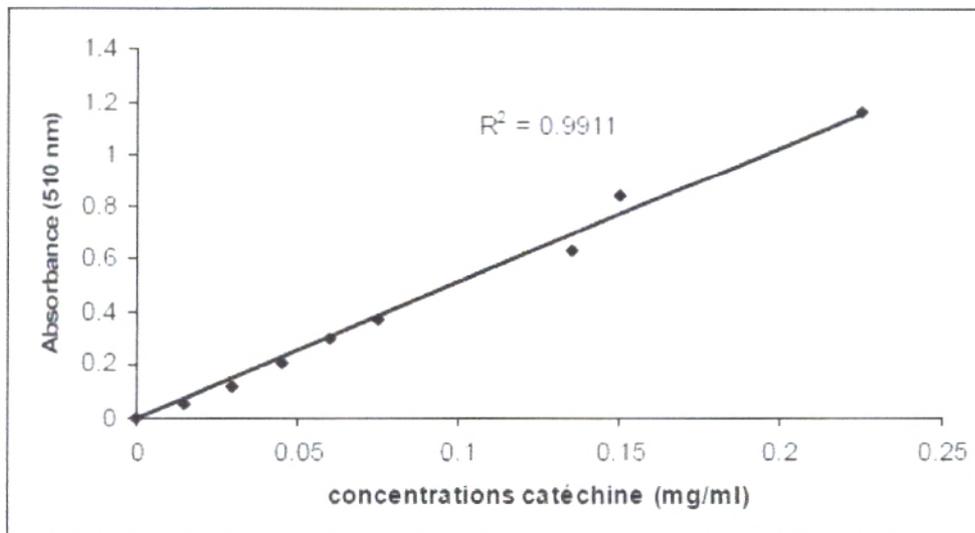


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

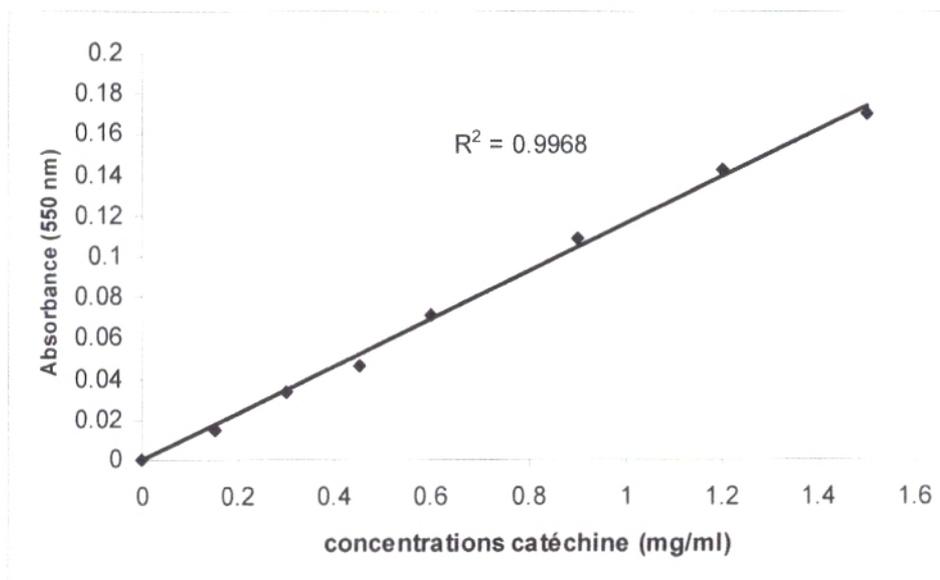


Figure 13: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins

D'après le **tableau 08**, nous remarquons que les teneurs élevées sont celles de l'extrait brut et de la fraction aqueuse avec des valeurs de 0.2869 ± 0.0168 et 0.2720 ± 0.0087 mg EAG/g MS respectivement. Les teneurs des autres fractions sont faibles, elles sont de l'ordre de 0.0101 ± 0.0011 , 0.0360 ± 0.0035 , 0.0388 ± 0.0022 , 0.0582 ± 0.0072 et 0.0610 ± 0.0036 mg/g pour l'acétate d'éthyle, le butanol, le dichlorométhane, l'éther diéthylique et l'éther de pétrole, respectivement.

Tableau 08 : Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les extraits de *C.officinalis*.

Extraits		Phénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EC/g MS)	Tanins condensés (mg EC/g MS)
Extrait brut	EB	0.2869 ± 0.0168	0.0844 ± 0.0036	0.3991 ± 0.0173
Fraction éther de pétrole	FEP	0.0610 ± 0.0036	0.0574 ± 0.0091	0.1766 ± 0.0084
Fraction dichlorométhane	FDM	0.0388 ± 0.0022	0.0183 ± 0.0019	0.1341 ± 0.0083
Fraction éther diéthylique	FED	0.0582 ± 0.0072	0.0223 ± 0.0006	0.1613 ± 0.0506
Fraction acétate d'éthyle	FAE	0.0101 ± 0.0011	0.0020 ± 0.0002	0.0589 ± 0.0242
Fraction butanol	FB	0.0360 ± 0.0035	0.0033 ± 0.0001	0.0591 ± 0.0133
Fraction aqueuse	FA	0.2720 ± 0.0087	0.0084 ± 0.0035	0.0673 ± 0.0075

Pour les flavonoïdes et les tanins condensés, les teneurs enregistrées sont plus faibles avec les solvants d'acétate d'éthyle, de butanol et aqueux, comparativement avec les solvants d'éther de pétrole, d'éther diéthylique et de dichlorométhane.

Pour l'extrait brut où l'extraction des composés se fait par un mélange du méthanol/chloroforme, les teneurs des en flavonoïdes et tanins condensés sont légèrement élevées par rapport aux autres fractions dont les tanins ont montré leur dominance.

En comparaison avec la littérature, la teneur en phénols totaux du l'extrait brut trouvée dans notre étude est presque similaire avec les travaux de **Zhang et al. (2007)** qui ont reporté une valeur de 0.30 ± 0.01 mg EAG/g MS pour l'extrait brut de *C.officinalis*.

III. Pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante des extraits de *C. officinalis* est évaluée par trois tests qui sont la réduction du fer, la capacité antioxydante totale et le piégeage du radical libre DPPH•.

1. Réduction du fer

Les valeurs obtenues de ce test ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés dans la **figure 14** nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons. Cette constatation est très répondeue dans la littérature (*Ozturk et al.,2007 ; Su et al., 2008 ; Liuk et al., 2009*).

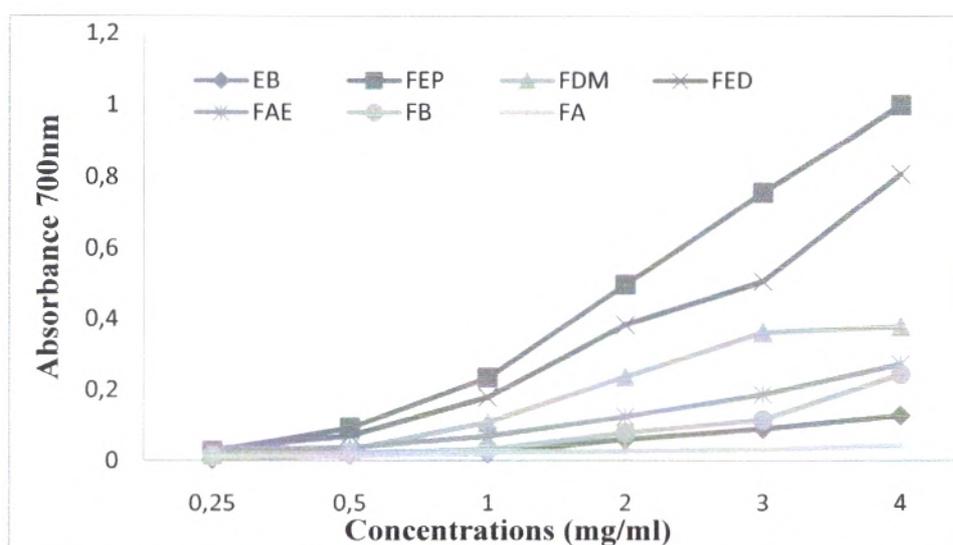


Figure 14 : Pouvoir réducteur des extraits de l'algue *C.officinalis*

EB : extrait brut ; **FEP :** fraction éther de pétrole ; **FDM :** fraction dichlorométhanolique ; **FED :** fraction éther diéthylique ; **FAE :** fraction acétate d'éthyle ; **FB :** fraction butanolique ; **FA :** fraction aqueuse.

Les résultats obtenus dans la **figure 14**, montrent que le pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré dans les deux fractions éther de pétrole et éther diéthylique avec des densités optiques maximales de 1.0002 ± 0.0239 et 0.8089 ± 0.0235 , respectivement à la concentration 4 mg/ml. Les autres fractions ont présenté des valeurs faibles qui ne dépassent pas une densité optique de 0.4 à la même concentration.

Afin de comparer le pouvoir réducteur des extraits de *C.officinalis* par cette méthode, nous avons calculé la concentration EC_{50} qui est définie comme la concentration nécessaire pour réduire 50 % du ferricyanure de potassium. Cette concentration est déterminée à une densité optique qui égale à 0.5.

Le résultat obtenu est illustré dans le **tableau 09**.

Tableau 09: Concentrations EC₅₀ des extraits de *C.officinalis* par le test de réduction du fer.

Extraits		EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait brut	EB	-
Fraction éther de pétrole	FEP	2.0404 ± 0.0235
Fraction dichlorométhane	FDM	-
Fraction éther diéthylique	FED	2.6446 ± 0.0189
Fraction acétate d'éthyle	FAE	-
Fraction n-butanol	FB	-
Fraction aqueuse	FA	-
Acide ascorbique		0.063 ± 0.002

- : selon les données expérimentales, il est impossible de calculer la concentration EC₅₀ dans ces conditions opératoires.

Nous constatons que sauf les fractions éther de pétrole et éther diéthylique qu'on a pu calculer la concentration EC₅₀. Les valeurs obtenues de l'ordre de 2.0404 ± 0.0235 mg/ml pour l'éther de pétrole et 2.6446 ± 0.0189 pour l'éther diéthylique sont faibles par rapport à l'acide ascorbique (0.063 ± 0.002 mg/ml).

D'après les données expérimentales, nous n'avons pas pu déterminer cette concentration pour les autres extraits.

Cette activité du pouvoir antioxydant est reportée par **Zhang et al. (2007)** où l'extrait brut de cette espèce détient un pouvoir réducteur de 0.19 ± 0.01 mg équivalent d'acide ascorbique/g MS.

2. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH[•] à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogène présents dans l'extrait algal.

L'activité antiradicalaire des différents extraits de *C.officinalis* est illustrée dans la **figure 15**.

L'interprétation des résultats obtenus montre une sensibilité de *B. cereus* en vers Lincomycine, Tétracycline et Vancomycine, tandis que les autres antibiotiques n'ont aucun effet inhibiteur sur la souche testée (**Tableau 12**).

Tableau 12: Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *B. cereus* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	R
Lincomycine	S
Pénicilline	R
Tétracycline	S
Vancomycine	S

R : résistante ; S: sensible.

3. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Selon les résultats présentés dans la figure 19, Cefotaxime, Tétracycline présentent des zones d'inhibition avec des diamètres de 18 et 13 mm, respectivement. Les autres antibiotiques ne possèdent aucun effet sur *P. aeruginosa*.

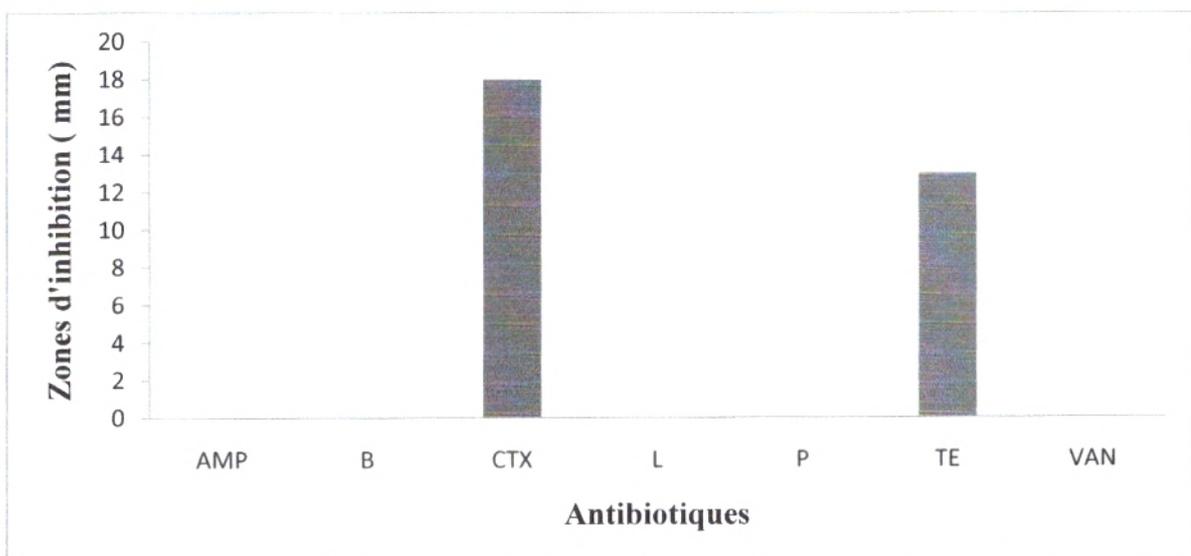


Figure 19: Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Selon le **tableau 13**, *P. aeruginosa* résiste à tous les antibiotiques testés.

Tableau 13 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *P. aeruginosa* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	R
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	R
Vancomycine	R

R : résistante.

4. *Klebseilla pneumonie* ATCC 700603

Selon les résultats de l'antibiogramme présentés dans la **figure 20**, les antibiotiques Cefotaxime (27 mm) et Tétracycline (15 mm) sont les plus efficaces sur *K. pneumoniae*. Pour les autres antibiotiques Pénicilline, Vancomycine, Lincomycine, Ampiciline et Bacitracine ne possèdent aucun effet sur cette souche.

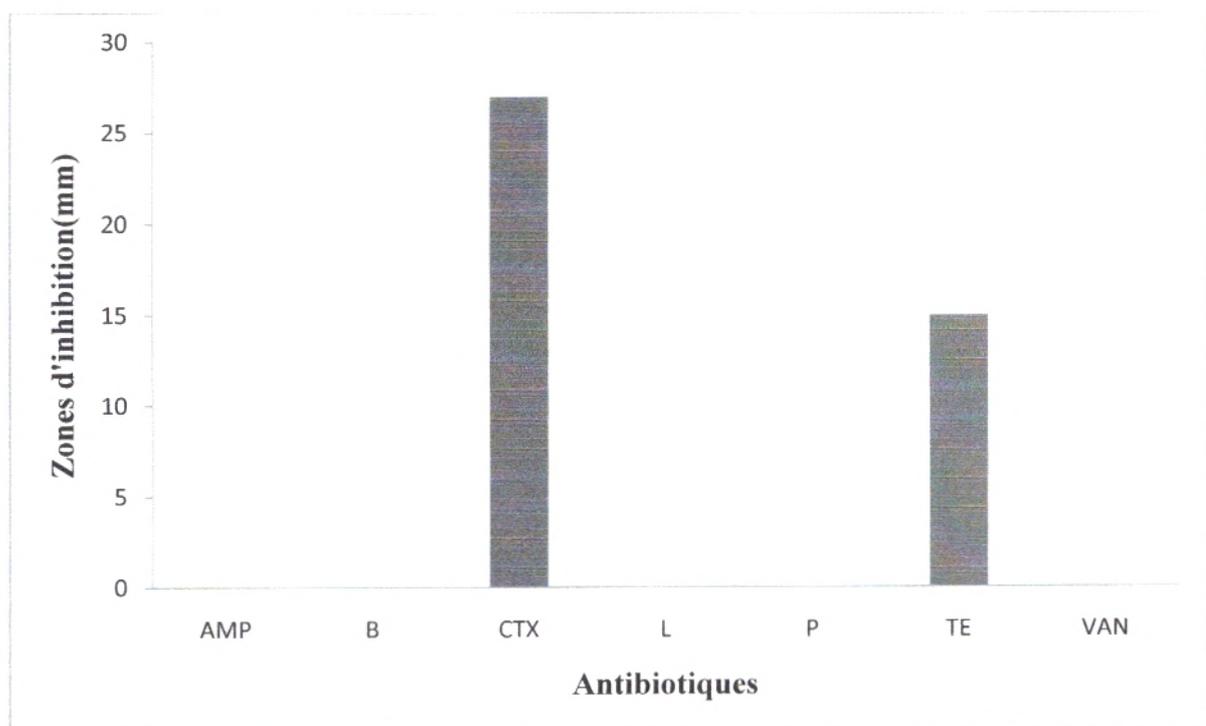


Figure 20 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Klebseilla pneumonie*.

Nous remarquons une résistance remarquable de la souche *K. pneumoniae* testée vis-à-vis de l'Ampicilline, Bacitracine, Lincomycine, Pénicilline et Vancomycine et une sensibilité pour le Cefotaxime (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *K. pneumoniae* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	R
Vancomycine	R

R : résistante ; S: sensible.

5. *Escherichia coli* ATCC 8739

Sauf Cefotaxime et Tétracycline où *E. coli* est sensible avec la même zone d'inhibition (31 mm) mais aucun effet n'a été observé avec les autres antibiotiques.

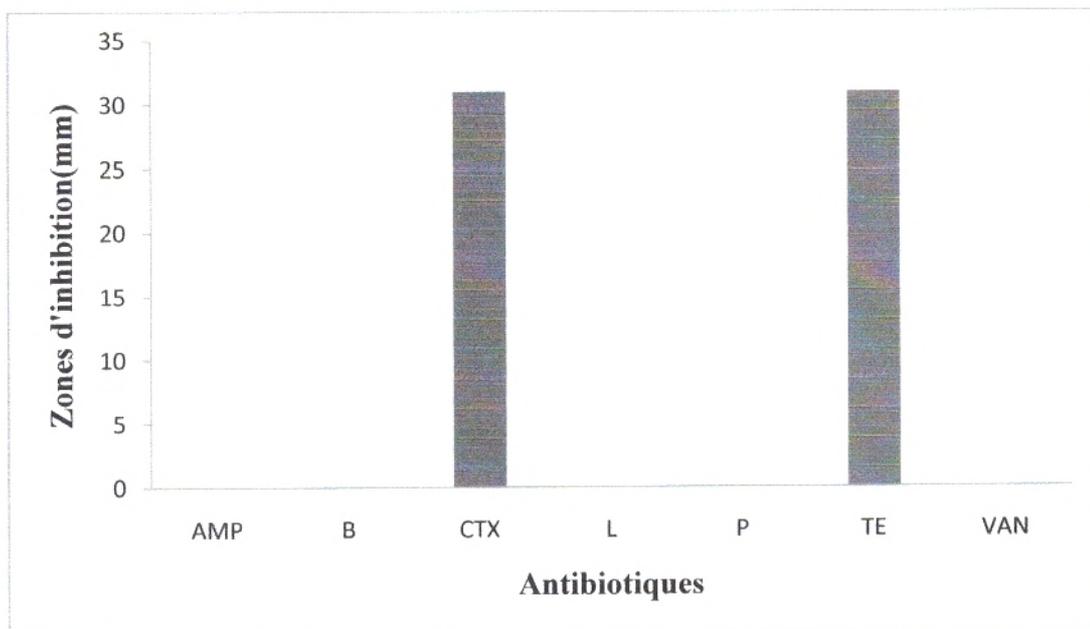


Figure 21 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Escherichia coli*.

Les deux antibiotiques Cefotaxime et Tétracycline exercent un effet inhibiteur sur *E. coli*, contrairement aux antibiotiques restants où notre souche a une résistance totale (**Tableau 15**).

Tableau 15: Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *E. coli* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	S
Vancomycine	R

R : résistante ; **S**: sensible.

6. *Micrococcus luteus* ATCC 9341

Les antibiotiques Lincomycine, Bacitracine, Ampicilline et Pénicilline ne possèdent aucun effet sur notre souche. Pour les antibiotiques Cefotaxime, Tétracycline et Vancomycine, les diamètres des zones d'inhibition sont de l'ordre de 40, 29 et 9 mm, respectivement.

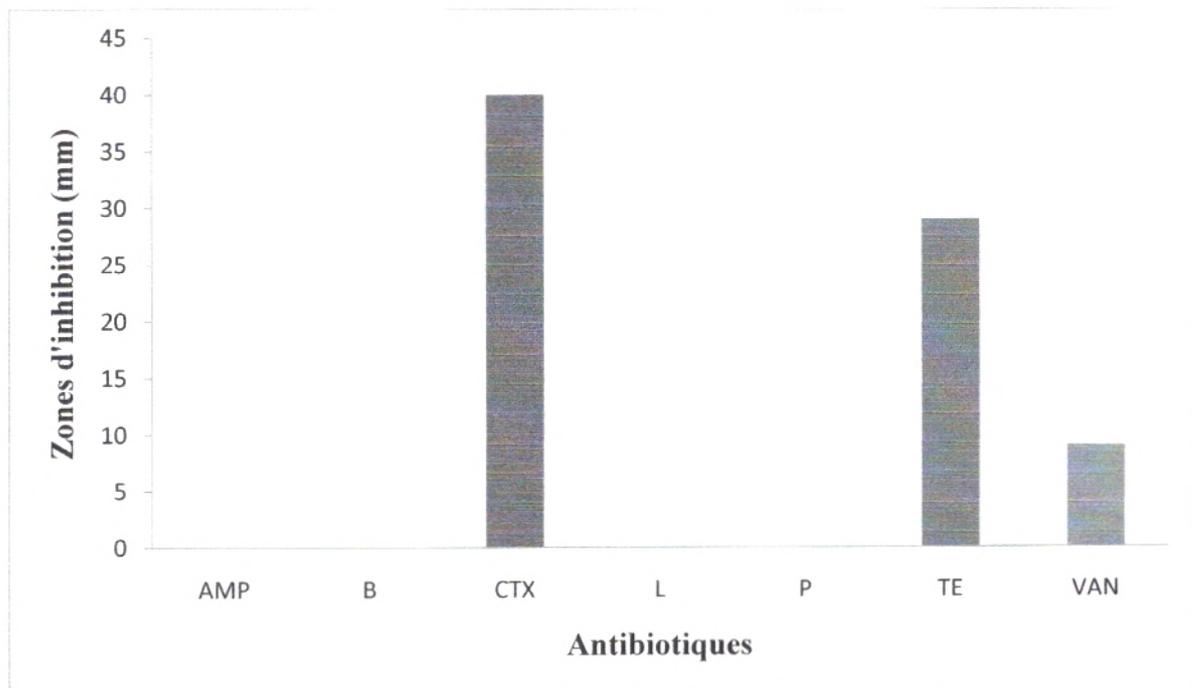


Figure 22: Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques testés sur *Micrococcus luteus*.

D'après le **tableau 16**, *M. luteus* est sensible pour Cefotaxime et Tétracycline et résistante pour le reste des antibiotiques testés.

Tableau 16: Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour *M. luteus* (CASFM, 2012).

Antibiotiques	Interprétations de l'antibiogramme
Ampicilline	R
Bacitracine	R
Cefotaxime	S
Lincomycine	R
Pénicilline	R
Tétracycline	S
Vancomycine	R

R : résistante ; S: sensible.

7- *Candida albicans* ATCC 26790

La nystatine n'a donné aucune zone d'inhibition, donc la levure *C. albicans* a montré une résistance totale vis-à-vis cet antifongique.

3. Résultats de la méthode de disques

L'extrait brut et les fractions éther de pétrole, dichlorométhane, éther diéthylique, acétate d'éthyle, butanol et aqueuse ont été récupérés par le DMSO. Ce dernier est testé vis-à-vis les six souches bactériennes et la levure *Candida albicans* afin de vérifier son pouvoir antimicrobien et antifongique avec un volume de 10 µl.

Les résultats obtenus présentent un effet inhibiteur sur les trois souches *B.cereus*, *S.aureus* et *C.albicans*.

Les diamètres des zones d'inhibition des différents extraits observés sur les deux souches bactériennes (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) et la levure *Candidat albicans* ont été mesurés et représentés dans les **figures 23, 24 et 25**.

3.1. Effet sur *Bacillus cereus*

Selon les résultats **figure 23**, nous remarquons la variation des zones d'inhibition en fonction de la variation des concentrations des extraits. Seules les fractions éther de pétrole et

dichlorométhane qui présentent des zones d'inhibition sur la souche *B. cereus* avec des diamètres de 8,5 et 7 mm, respectivement à la concentration 50 mg/ml et 8,5 et 9 mm à 100 mg/ml.

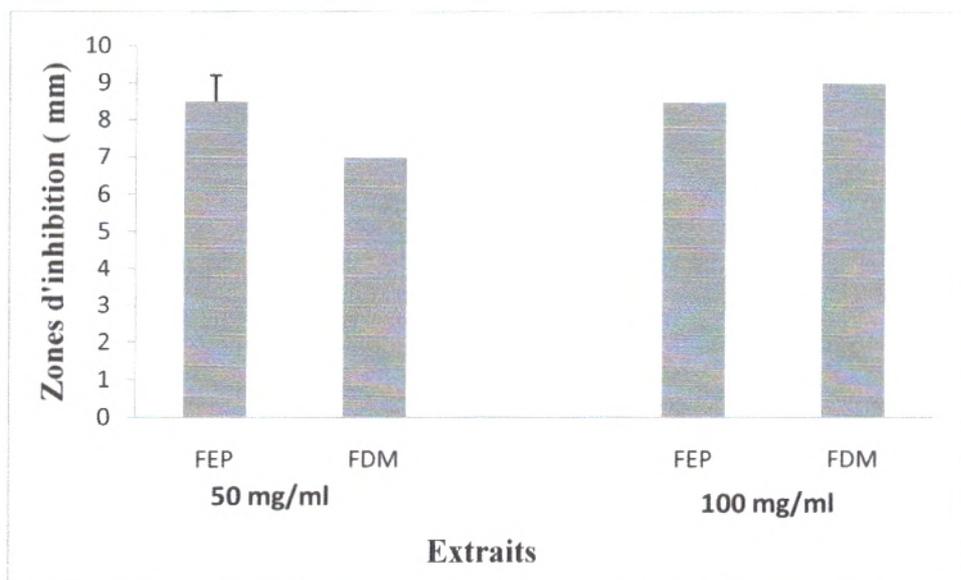


Figure 23: Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testée sur *Bacillus cereus*.

FEP : fraction éther de pétrole ; **FDM** : fraction dichlorométhanique.

Les études de **Farid et al., (2012)** sur les extraits de *C.officinalis* préparés dans le mélange éthanol/ dichlorométhane récoltée de la côte atlantique marocaine ont montré un effet inhibiteur faible contre *E. coli* et *B. cereus*. La même algue récoltée des côtes Chinoise n'a montré aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *B. cereus* (**Jing-wen et Wei-ci, 1984**).

3.2. Effet sur *Staphylococcus aureus*

D'après la **figure 24**, nous remarquons que la fraction acétate d'éthyle est plus active contre *S. aureus* comparativement aux autres extraits. Cette fraction présente la zone d'inhibition la plus élevée à raison de 13 mm à la concentration 100 mg/ml. Les zones d'inhibition pour l'extrait brut et les fractions éther diéthylique, dichlorométhane et éther de pétrole sont de l'ordre de 9, 8.5, 7 et 6 mm, respectivement à 50 mg/ml et 10, 9, 8 et 7 mm à 100 mg/ml.

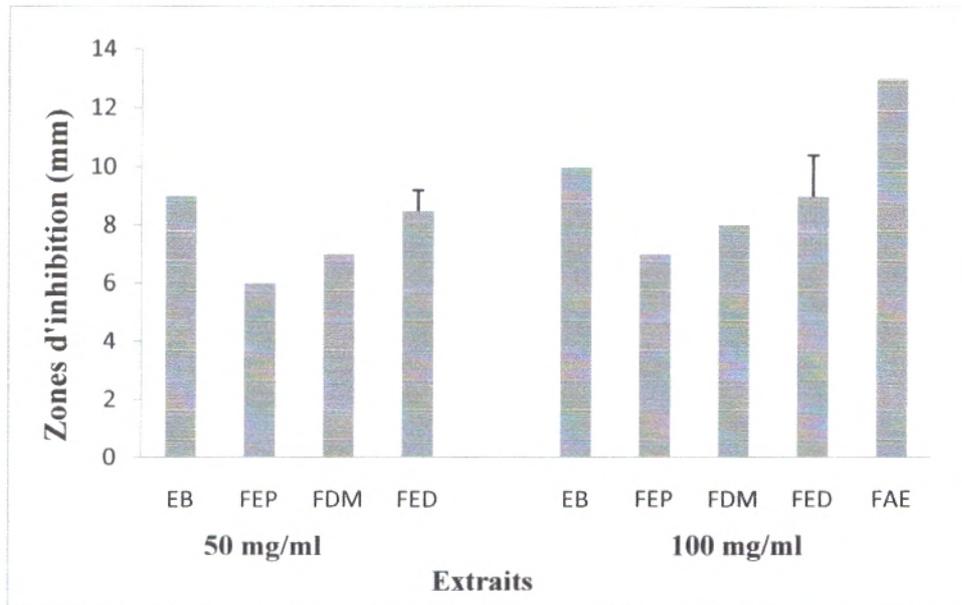


Figure 24 : Distribution des diamètres des zones d’inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *S. aureus*.

EB : extrait brut ; **FEP :** fraction éther de pétrole ; **FDM :** fraction dichlorométhanique ; **FED :** fraction éther diéthylique; **FAE :** fraction acétate d’éthyle.

D’après la littérature, les bactéries à Gram positif sont les plus sensibles que les bactéries à Gram négatif vis-à-vis des extraits d’algues testés (Allen et Dawson, 1960 ; Rao. Et Parekh, 1981 ; Vidyathi et Sridhar, 1991 ; El Kouri, 2004 ; Farid et al., 2012).

3.3. Effet sur *Candidat albicans*

Selon la **figure 25** et la **photo 05**, tous les extraits présentent un effet inhibiteur sur la levure *C. albicans*. Les quatre fractions : acétate d’éthyle, dichlorométhane, éther diéthylique et n-butanol présentent des zones d’inhibition plus élevées avec des diamètres de 23, 18, 17.5 et 18 mm, respectivement à 100 mg/ml et 17.5, 15.5, 15.5 et 11,5 mm, respectivement à 50 mg/ml. Pour l’extrait brut et les fractions aqueuse et éther de pétrole, les zones d’inhibition sont faibles avec des diamètres de 14, 8 et 9 mm à 100 mg/ml et 12, 6 et 9 mm à 50 mg/ml, respectivement.

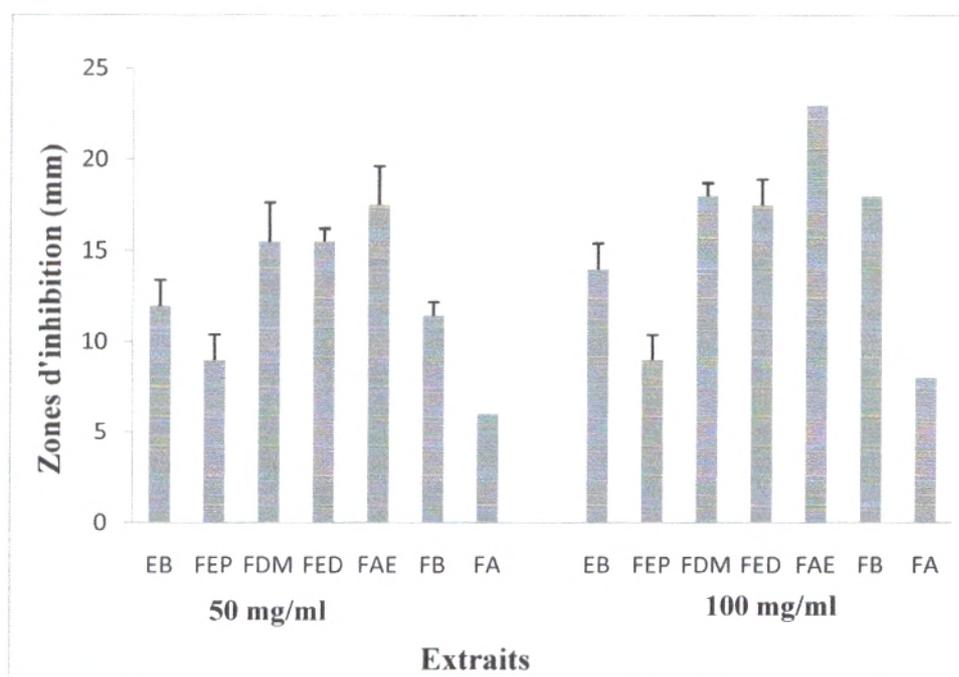


Figure 25 : Distribution des diamètres des zones d’inhibition en fonction des concentrations des extraits testés sur *Candida albicans*.

EB : extrait brut ; **FEP :** fraction éther de pétrole ; **FDM :** fraction dichlorométhane ; **FED :** fraction éther diéthylique ; **FAE :** fraction acétate d’éthyle ; **FB :** fraction butanolique ; **FA :** fraction aqueuse.

Les résultats de notre étude sur le pouvoir antimicrobien sont concordent avec les travaux de **Mahasneh et al. (1995)**, **Padmakumar et Ayyakkannu (1997)**, **Etahiri (2002)** et **Elkouri et al. (2004)**, reportés sur les algues rouges (Rhodophycées) récoltées de la côte d’El Jadida du Maroc.

Cette variation dans l’activité antimicrobienne peut être la cause des paramètres écologiques induits par les facteurs climatiques, la température, la salinité, la lumière, l’oxygène dissous et les sels nutritifs, ou liée à la biologie et la physiologie de l’algue elle-même (**Hornsey et Hide, 1985**).

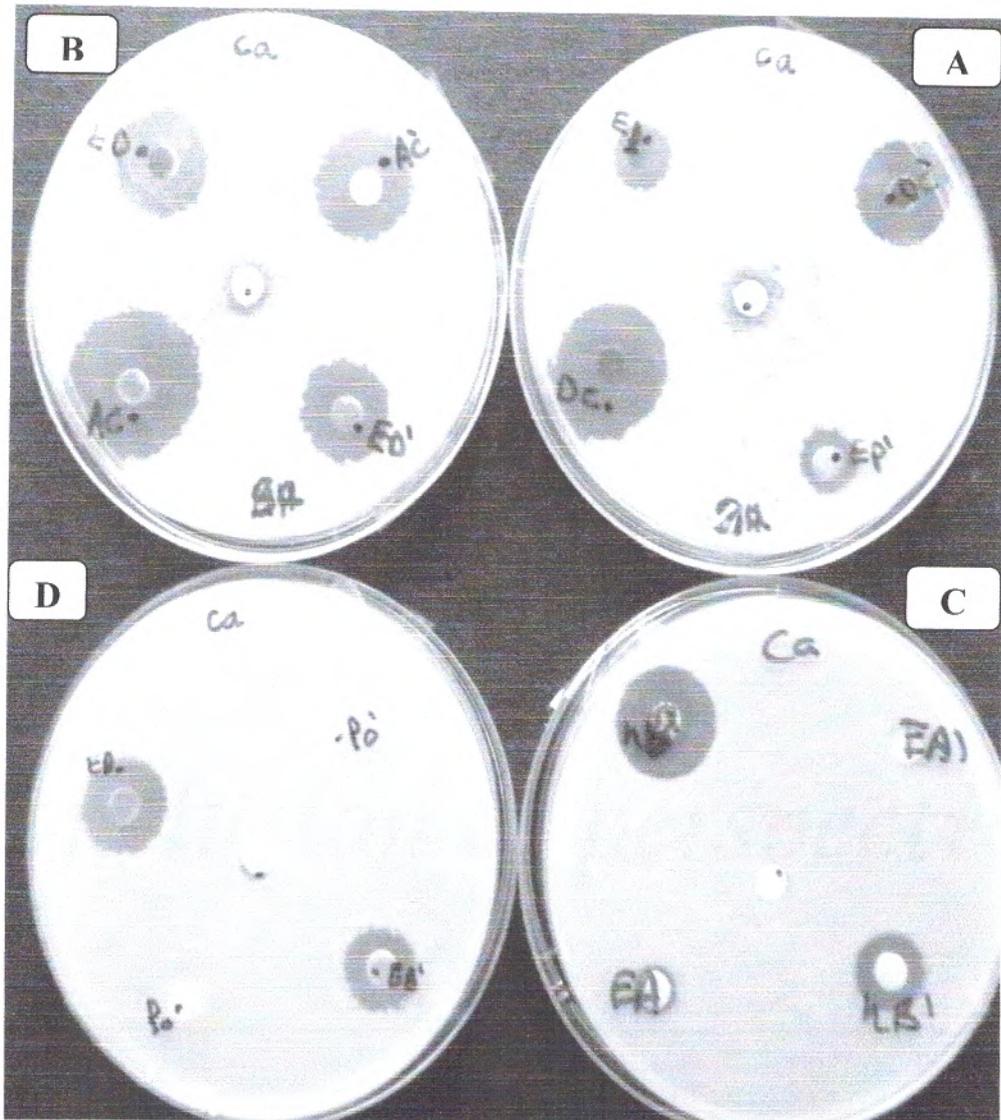


Photo 05: Evaluation de l'activité antimicrobienne sur *C. albicans* par la méthode des disques des extraits.

A : Effet des fractions éther de pétrole et dichlorométhane sur la croissance de *C. albicans*.

B : Effet des fractions éther diéthylique et acétate d'éthyle sur la croissance de *C. albicans*.

C : Effet des fractions aqueuses et butanolique sur la croissance de *C. albicans*.

D : Effet de l'extrait brut sur la croissance de *C. albicans*.

EP : Concentration 100 mg/ml ; **EP' :** Concentration 50 mg/ml ; **DC :** Concentration 100 mg/ml ;

DC' : Concentration 50 mg/ml ; **ED :** Concentration 100 mg/ml ; **ED' :** Concentration 50 mg/ml ;

AC : Concentration 100 mg/ml ; **AC' :** Concentration 50 mg/ml ; **nB :** Concentration 100mg/ml ;

nB' : Concentration 50 mg/ml ; **EA :** Concentration 100 mg/ml ; **EA' :** Concentration 50 mg/ml ;

EB : Concentration 100 mg/ml ; **EB' :** Concentration 50mg/ml.

Connue pour ses riches propriétés antioxydantes, les algues rouges forment une source intéressante de substances biologiquement actives.

Notre travail concerne l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Corallina officinalis* de la plage Madride à l'ouest de la wilaya d'Ain Témouchent.

Les extractions des différents composés les plus abondant dans notre algue nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait dont le plus élevé est celui de l'extrait brut avec une valeur de 1,75%.

Le dosage quantitatif des principales familles de métabolites secondaires a permis d'enregistrer pour toutes les fractions de l'extrait brut, des teneurs faibles en composés phénoliques sauf pour l'extrait brut où les teneurs sont légèrement élevées de 0.2869 ± 0.0168 mg EAG/ g MS, 0.0844 ± 0.0036 mg EC/g MS et 0.3991 ± 0.0173 mg EC/g MS pour les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, respectivement.

Concernant l'activité antioxydante, tous les extraits ont la capacité de réduire le fer qui augmente en fonction de la concentration. Les fractions éther de pétrole et éther diéthylique possèdent des capacités réductrices considérables dont les concentrations EC_{50} égalent à 2.0404 ± 0.0235 et à 2.6446 ± 0.0189 mg/ ml, respectivement, comparativement à l'acide ascorbique (0.063 ± 0.002 mg/ml). Ces deux fractions ont une activité antiradicalaire faible contre le radical DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition de 19.55 % pour l'éther de pétrole et 16.87 % pour l'éther diéthylique à 6 mg/ml. Pour les autres extraits, cette activité ne dépasse pas 13%. Pour l'extrait brut, sa capacité antioxydante totale (0.6802 ± 0.0254 mg EAA/ g MS) est élevée par rapport aux autres extraits.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits ont montré que tous les extraits testés possèdent un pouvoir antibactérien important sur la levure *Candida albicans*. L'extrait qui a un effet plus élevé est celui de la fraction acétate d'éthyle avec un diamètre de 23 mm à la concentration 100 mg/ml.

Par ailleurs, l'extrait brut et les fractions éther de pétrole, dichlorométhane, éther diéthylique et acétate d'éthyle sont les plus actifs contre *Staphylococcus aureus*. D'autre part, les fractions éther de pétrole et dichlorométhane ont un effet inhibiteur sur *Bacillus cereus*. Contrairement aux autres bactéries, aucun effet n'a été observé avec tous les extraits testés contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Micrococcus luteus*.

Nous pouvons conclure que cette espèce algale *Corallina officinalis* a une faible activité antioxydante mais une bonne activité antimicrobienne en particulier la fraction acétate d'éthyle contre les bactéries à Gram positif et la levure.

Ces premiers résultats sont encourageants dans la perspective dont les essais des activités biologiques *in vitro* et *in vivo* de différentes classes de métabolites secondaires de cette algue sont nécessaires pour but de purifier et identifier les molécules bioactives en vue de les utiliser à des fins thérapeutique et de renforcer l'antibiothérapie.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abderrazak, M., Joël, R.** (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177.
- **AFNOR.** (1986). Recueil des Normes Françaises huiles essentielles. AFNOR. Paris. 57 p.
- **Aguirre, J., Perfectti, F., Braga, J. C.** (2010). Integrating phylogeny, molecular clocks, and the fossil record in the evolution of Coralline algae (Corallinales and Sporolithales, Rhodophyta). *Paleobiology*, 36 (4): 519.
- **Allen, M.B., Dawson, E.Y.** (1960). Production of antibacterial substances by benthictropical marine algae. *J. Bacteriol*, 79: 459 – 460.
- **Atwal, R.** (2003). In vitro Antimicrobial activity assessment of Zymox Otic solution against a broad range of microbial organisms. *Int. Journal. Res. Vet Med*, 1 (3): 240-252.
- **Aurousseau, B.** (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 15 (1): 67-82.
- **Avissar, N., Whitin, J.C., Allen, P.Z.** (1989). Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *Journal. Biologie. Chem*, 2: 15850-15855.
- **Bauer, Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, C.** (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 493-495.
- **Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T.** (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *C. R. Chimie*, (12):1259–1266.
- **Bennett, R.J., Johnson, A.D.** (2005). Mating in *Candida albicans* and the search for a sexual cycle. *Annu rev Microbiol*, (59): 233-255
- **Biaoming, Z., Peichun, W., Wei, Z.** (2008). Epoxydation of cyclohexene in t-butyl alcohol/water mixtures catalyzed by vanadium bromoperoxydase from *Corallina officinalis*. *Journal of Biotechnology*, 136S -S356–S401
- **Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro Murray, H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R.** (2011). Marine natural products. *Nat Prod Rep*: 28.
- **Boizot, N., Charpentier, J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. *INRA*, 79-82.

- **Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., Madani, K.** (2012). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, (41): 85– 89.
- **Bozin, B., Mimica-Duric, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae). *Food Chemistry*, (111): 925-929.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, (28): 25-30
- **Bressan, G., Babbini, L.** (2003). Biodiversità marina delle coste Italiane: Corallinales del Mar Mediterraneo: guida all'identificazione, *Biologia Marina Mediterranea*, 10 (2): 1-237.
- **Broadsky, T. F., Lewis, C., Eble, T.E.** (1976). Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I. Clindamycin in the rat. *Journal. Chromatogr.*, (123): 33-44.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier : 1120.
- **Bruneton, J.** (2008). Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Lavoisier Technique et Documentation, 3^{ème} édition, Paris, 1120.
- **Calixto, J. B.** (2005). Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. *Journal of Ethnopharmacology* (100): 131 - 134.
- **Chandini, K., Ganesan, P., Bhaskar, N.** (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107:707–713.
- **Cumashi, A.I., Ushakova, N.A., Preobrazhenskaya, M.E., D'Incecco, A., Piccoli A, Totani, L., Tinari N., Morozevich, G.E., Berman, A.E., Bilan, M.I., Usov A.I., Ustyuzhanina, N.E., Grachev, A.A., Sanderson, C.J., Kelly M., Rabinovich, G.A., Iacobelli, S., Nifantiev, N.E.** (2007). A comparative study of the antiinflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, (17): 541–552.
- **Cuvier, G., Valenciennes, A., Latreille, A.** (1817). Le règne animal distribué d'après son organisation. Edition Paris: Fortin, Masson et cie.
- **Cynthia, Layse F. de Almeida, Heloína, de S. Falcão, Gedson R. de M. Lima, Camila de A. Montenegro, Narlize S. Lira, Petrônio F. de Athayde-Filho, Luis C. Rodrigues, Maria de Fátima V. de Souza, José M. Barbosa-Filho,**

and Leônia M. Batista. (2011). Bioactivities from marine algae of the genus *Gracilaria*. *Int Journal Mol Sciences*, 12: 4550-4573.

- de Almeida CL, Falcão Hde S, Lima GR, Montenegro Cde A, Lira NS, de Athayde-Filho PF, Rodrigues LC, de Souza Mde F, Barbosa-Filho JM, Batista LM. (2011). Bioactivities from marine algae of the genus *Gracilaria*. *Int Journal Mol Sciences*, 12: 4550-4573.
- Da Silva Pinto, M., Maria Lajolo, F., Innés Genovese, M. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch). *Food Chemistry*, 107: 1629-1635.
- Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317.
- Darcy-Vrillon, B. (1993). Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *Int Journal Food Sciences Nutrition*, 44 (1 p. 1/4), S23 S35.
- De Rosa, S., Kamenarska, Z., Stefanov, K., Dimitrova-Konaklieva, S., Najdenski, C., Tzvetkova, I., Ninova, V., Popov, S. (2003). Chemical Composition of *Corallina mediterranea* Areschoug and *Corallina granifera* Ell. et Soland. *Z Naturforsch C*, 58(5-6): 325-32.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65 (4): 337-53.
- Diego, A., Navarro, C., Stortz, A. (2002). Isolation of xylogalactans from the corallinales: influence of the extraction method on yields and compositions. *Carbohydrate polymers*, 49:57-62.
- Diouf, P.N., Merlin, A., Perrin, D. (2006). Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. *Annals of Forest Science*, 63: 525-534.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97:654-660.
- Dos Santos Amorim, R et al. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red Seaweed *Gracilaria ornata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2) :171-181.
- Amorim, R.N.S., Rodrigues, J. A. G., Holanda, M.L., Quinderé, A.L.G., Paula, R.C. M., Melo, V. M. M., Benevides, N.M.B. (2012). Antimicrobial effect

of a crude sulfated polysaccharide from the red Seaweed *Gracilaria ornata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2) :171-181.

- **Effendi, L., Yajun, Y et al.** (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng*, 8:172-181.
- **Leonard E1, Yan Y, Koffas MA.** (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng*, 8:172-181.
- **Elkouri, A.** (2004). Recherche des propriétés : antibactérienne, antifongique, et anti-inflammatoire de quatorz espèces d'algues marines récoltées sur la côte d'El Jadida (Côte Atlantique Marocaine). Thèse de doctorat en Science. *Fac. Sciences*. El Jadida, Maroc. Univ. 138
- **Etahiri, S., Bultel-Poncé, V., Caux, C., Guyot, M.** (2001). New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. *Journal Nat Prod*, 64: 1024–7
- **Etahiri, S., El Kouri, A., Bultel-Ponce, V.** (2007). Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*. *Nat Prod Commun*, 2(7): 749–52 10.
- **Farid, Y., Chennaoui, M., Assobhei, O., Etahiri, S.** (2012). Screening des algues marines d'oualidia a la recherche d'activites antimicrobienne et anti-inflammatoire. *Microbiol. Ind. San et Environn*, 6 (2): 192-209.
- **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115
- **Fisher, W.** (1987). Fiche FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (révision I). Méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37, (2).
- **Fleurence, F., Kaas, R.** (1999). Les algues marines : une source méconnue de protéines végétales. *Equinoxe*, 56: 12-7
- **Freile-Pelegrin, Y., Morales, J.L.** (2004). Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. *Bot. Mar*, 47: 140 – 146.
- **Gauche, E., Hausswirth, C.** (2006). Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*, 58 : 43-66.
- **Géraldine., Céline, L.** (2009). Les algues le trésor de la mer. Heds, Haute école de santé Genève, 1-6.

- **Glombitza, K.W., Hoppe, H.A., Leving, T., Tanaka, Y.** (1979). Antibiotics from algae Marine algae in pharmaceutical. *Science*, 303–42.
- **Glombitza, K.W., Keusgen, M.** (1995). Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spinuligerum*. *Phytochemistry*, 38:987-95
- **Gross, H1., Goeger, DE., Hills, P., Mooberry, SL., Ballantine, DL., Murray TF., Valeriote, FA., Gerwick WH.** (2006). Lophocladines, bioactive alkaloids from the red alga *Lophocladia* sp, *Journal of Natural Products*, 69 (4): 640–644.
- **Guingard, J.** (1996). Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR.
- **Güven, K.C., Percot, A., Sezik, E.** (2010). Alkaloids in marine algae. *Mar Drugs*, 8: 269-284.
- **Guiry.** (1998). Seaweeds.
- **Haton, C.** (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France : 43.
- **Harper, M.K., Bugni, T.S., Copp, B.R., James, R.D., Lindsay, B.S., Richardson, A.D., Schnabel, P.C., Tasdemir, D., Van Wagoner, R.M., Verbitski, S.M., Ireland, C.M.** (2001). Introduction to the chemical ecology of marine natural products. In **James B. McClintock, Bill J. Baker**, Marine Chemical Ecology. CRC Marine Science, 624p.
- **Hervé, B.** (2012). Ulves Valorisation Nutrition Santé. Gen2Bio LORIENT – 1-38.
- **Hillson, C.** (1977). Seaweeds : a color-coded ,illustrated guide to common marine plants of the east coast of the united states. Ed : Keystone books: 12,138,139.
- **Hubert, A.J.** (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- **Hornsey, I. S., Hide, D.** (1985). The production of antimicrobial compounds by British marine algae IV.Variation of antimicrobial activity with algal generation. British. *Phycol. Journal*, 20: 21- 25.
- **Ioannou, E., Vagias, C., Roussis,V.** (2008). Bioactive metabolites from marine algae. *Biology*, 26: 68-72.
- **.Ito, K., Hori, K.** (1989). Seaweed: Chemical composition and potential uses. *Food Rev Int*, 5: 1101-1144.

- **Jacques, B., André, R.** (2004). Biochimie métabolique. Ed ellipses. Paris: 217-219-220-223-225.
- **Jiménez-Escrig, A., Goni Isabel, C.** (1999). A. Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas marinas comestibles. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49: 114–120 .
- **Jing-Wen, M., Wei-Ci, T.** (1984). Screening for antimicrobial activities in marine algae from the Qingdao Coast. *China, Hydrobiolo.* 116/117: 517-520.
- **Julie, P., Danielle, L., Daniel, M.** (2010). Algues, filières du futur Livre Turquoise. *adebiothech* : 163.
- **Julkunen-Titto, R.** (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 33: 213-217.
- **Karagozler, A., Erdag, B., Calmaz Emek, Y.** (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111: 400-407.
- **Lahaye, M.** (1991). Marine algae as source of fibers: determination of soluble and insoluble dietary fibre content in some sea-vegetables. *Journal Sciences Food Agricol*, 54: 587-94.
- **Lahaye, M.** (1993). Marine algae as a source of dietary fibers: Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some 'sea vegetable'. *Journal Sciences Food Agricol*, 54: 523-535.
- **Lamouroux, J.V.F.** (1824). Corallina; or, a classical arrangement of flexible coralline polypidoms. London, Sherwood and co.; [etc., etc.].
- **Lawlor, M.S., Hsu, J., Rick, P.D., Miller, V.L.** (2005). Identification of *Klebsiella pneumoniae* virulence determinants using an intranasal infection model. *Moeculel Microbiol*, 58:1054-1073.
- **Lesueur, D., Serra, D.de Rocca, Bighelli, A., Hoi T.M., Ban, N.K., Thai, T.H., Casanova, J.** (2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merryll ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, (22): 317-321.
- **.Li, C.Y., Jackson, R.M.** (2002). Reactive species mechanisms of cellular hypoxiareoxygenation injury. *Ameracain. Journal. Physiol.-Cell Physiol*, 282: C227–C241.

- **Liuk, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X.** (2009). Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J.Tseng. *Food chemistry*, 112: 35-4.
- **Lixia L., Jiqiang, Z., Xuexi, T.**(2010). Ultraviolet irradiation induced oxidative stress and response of antioxidant system in an intertidal macroalgae *Corallina officinalis* L. *Journal of Environmental Sciences*, 22(5) 716–722.
- **Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G.** (2002). Botanique 3^{ème} Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris, 211.
- **Lwoff, A.** (1957). The concept of virus. *Journal. Genitique. Microbiol*, 17(2) : 239–53.
- **Madigan, M., Martinko, J.** (2005) Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall. (ISBN 0131443291). Upper Saddle River, NJ : Pearson Prentice Hall.
- **Maeda, M., Kodama, T., Tanaka, T et al.** (1986). Structures of isodomic acids A, B and C novel insecticidal amino acids from the red alga *Chondria armata*. *Chem Pharm. Bull.*, 34, 4892–4895.
- **Merck,I.** (1968). les algues marins.
- **Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmmit, R.** (2007). Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants. *Food Chemistry*, 100:1409-1418.
- **Marcelo, R., Carlos, A., Stortz., Alberto S.C.** (1993). Structure of the corallinansulfated xylogalactans from *Coralline officinalis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 16(2):93-7.
- **Marfak, A.** (2003). Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France, 6-7-10
- **Martinez-Cayuela, M.** (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77: 147-161.
- **McInnes, A.G., Ragan, M.A., Smith, D.G., Walter, J.A.** (1984). High-molecular weight phloroglucinol-based tannins from brown algae: structural variants. *Hydrobiologia* 116/117: 597-602.
- **Memory, H.** (2006). Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes .45 p.
- **Michel, C.** (2000). Algues-operon. Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes. 20.

- **Milane, H.** (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg, France.
- **Morris, I.** (1967). An Introduction to the Algae. Ed. Hutchinson and Co, London.
- **Nakamura, T., Nagayama, K., Uchida, K., Tanaka, R.** (1996). Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fish Sciences*, 62(6): 923-6
- **Okuzumi, J., Takahashi, T., Yamane, T., Kitao, Y., Inagake, M., Ohya K., Nishino, H., Tanaka, Y.** (1993). Inhibitory effects of fucoxanthin, a natural carotenoid, on N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mouse duodenal carcinogenesis. *Cancer Lett*, 68:159-68.
- **Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- **Ozanda, P.Y.** (1990). Abrégé des organismes végétaux .les végétaux inférieurs. Ed: Masson .paris .p18.
- **Ozturk,M.,Aydogmus-Ozturk,F., Duru, M.E., Topcu, G.** (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 106: 1264-1270.
- **Paniagua Michel, J., Capa Robles, W., Olmos Soto, J., Gutierrez Millan, L.E.** (2009). The carotenogenesis pathway via the isoprenoid-betacarotene interference approach in a new strain of *Dunaliella salina* isolated from Baja California Mexico. *Mar Drugs*, 7:45-56.
- **Paris, M., Hurabielle.** (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris: 102-103-104-107
- **Patrick, B., Jean, L., Michel, S.** (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1ère Ed Medicine –Sciences Flammarion. Paris. : 100-108-274
- **Paul, V.J., Fenical, W.** (1987). Natural products chemistry and chemical defence in tropical marine algae of the *Phylum chlorophyta*. *Bioorganism Mar Chem*,1: 1–29.
- **Perez, R et al.** (1992). La culture des algues marines dans le monde.
- **Poirier, C., Naeau D.** (1998). Biologie marine.
- **Price, M.L., Van scoyoc, S., Butler, L.G.** (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, *J. Agric. Food Chem*, 26: 1214-1218.
- **Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337–341.

- **Rao, P., Parekh, K S.** (1981). Antibacterial activity of Indian seaweeds. *Phykos*. 23: 216 - 221.
- **Rahal, K., Benslimani, A., Tali-Maamar, H., Missoum, M.F.K., Kechih-Bounar, S., Ammari, H.**(2011). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 6^{ème} édition. Document édité avec la collaboration de l'OMS. P192. (<http://2 www.sante.dz/aarn>).
- **Ribeiro, M.A., Bernardo-Gil, M.G., Esquivel, M.M.** (2001). Study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids*, 21 51 –60.
- **Ribereau, G.P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, 254.
- **Rivard-Sirois, C .** (2005). les algues. .P 732
- **Rybicki, E.P.** (1990) . The classification of organisms at the edge of life, or problems with virus systematic. *Scouth African Journal of Sciences*, 86:182-186
- **Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F.K.** (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67: 2058–2070
- Sheppard, D.C., Yeaman, M.R., Welch, W.H., Phan, Q.T., Fu, Y., Ibrahim, A.S., Filler, S.G., Zhang, M., Waring, A.J., Edwards, JE. Jr. (2004). Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans*. *Journale Biologie Chemie*, 279: 30480-30489
- **Shimizu, H.** (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*,35 (9) : 2072-2077.
- **Siddhanata, S.K., Ramavat, K. M., Chauhan ,V.D.** (1991). Biomedical potential of marine algae. *Journal Seaweed Res Utiliz*, 15: 149-157.
- **Silva, P.C., Basson, P.W., Moe, R.L.** (1996).Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. *University of California Publications in Botany*, 79: 1-1259.
- **Singleton, V.L., Rossi, J.A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- **Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z.** (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem*, 89: 191-198.
- **Smit, A.J.** (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products. *Journal Appl Phycoogiel*, 16: 254–62.

- **Steinberg, P.D., Schneider Kjelleberg, S.** (1997). Chemical defences of seaweeds against microbial colonization. *Biodegradation*, 8: 211–20.
- **Steven, P., Rachel, C., Martha, E., Paul, H., Jane, S., Peter, W.J.** (2004). Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. 71-132.
- **Su, M.S., Shyu, Y.T., Chien, P.J.** (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts, *Food Chemistry*, 111: 892-896.
- **Sun, T., Ho, C.H.** (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem*, 90: 743–749.
- **Takashi, O., Wieger H., Toshiaki, A., Ron, W., Yoshikazu, I.** (2002). Expression of the vanadium-dependent bromoperoxydase gene from a marine macro-alga *Corallina pilulifera* in *Saccharomyces cerevisiae* and characterization of the recombinant enzyme. *Phytochemistry*, 60: 595–601.
- **Tamer Fouad, M.D.** (2003). Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles. (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>).
- **Taylor, T. N., Taylor, E. L., Krings, M.** (2009). Paleobotany: the biology and evolution of fossil plants. 2^{ème} Edition, Academic Press, ISBN ,978-0-12-373972-8.
- **Vidyavathi, N., Sridhar, KR.** (1991). Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the Mangalore Coast of India. *Bot. Mar*, 34: 279-284.
- **Viguerie, N., Millet, L., Avizou, S et al.** (2002). Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 87(2): 630-4.
- **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem*, 266: 37–56.
- **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M.** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact*, 160: 1–40.
- **Van Antwerpen, P.** (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles
- **Victoria, C et al.** (2009). *Klebsiella pneumoniae* triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells. *BMC Microbiology*, 3; 9:156.

- **Watanabe, F., Takenaka, S., Katsura, H et al.** (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. *Journal Agriculture Food Chem*, 47: 2341-3.
- **Wayne, P.A.** (2003). Reference method for disk diffusion antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard M44 – P, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- **Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W.** (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99:775-783.
- **Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M et al.** (1999). Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem*, 63: 605-7
- **Yang J., Guo, J., Yuan, J.** (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Science and Technology*, 41:1060-1066.
- **Yepez, B., Espinosa, M., López, S ., Bolaños, G.** (2002). Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria*, 194–197 -879–884.
- **Yuling, Y., Dan, L., Jun ,W., Yan, C., Shusheng, W.** (2011). In vitro antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Corallina officinalis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49 :1031-1037
- **Zhang, W.W., Duan, X.J., Huang H.L., Zhang, Y., Wang, B.G.** (2007). Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyocladia latiuscula* (Rhodomelaceae). *J Appl. Phycol*, 19:97–108.
- **Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64 (4): 555-559.
- **Zubia, D., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y.** (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico. *Journal Appl Phycoogiel*, 19: 449–58

Résumé

Dans le cadre de la valorisation de la biomasse algale marine des côtes algériennes, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Corallina officinalis* de la plage Madride à l'ouest de la wilaya d'Ain Témouchent.

Les résultats ont montré que l'extrait brut a présenté un rendement élevé de 1.75% par rapport aux autres fractions avec des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés de 0.2869 ± 0.0168 mg EAG/ g MS, 0.0844 ± 0.0036 mg EC/g MS et 0.3991 ± 0.0173 mg EC/g MS, respectivement. Ces teneurs pour les autres fractions sont faibles.

L'étude du pouvoir antioxydant par trois méthodes, le piégeage du radical DPPH, la réduction du fer et la quantification de la capacité antioxydante totale, a révélé la présence des propriétés antioxydantes à différents niveaux pour tous les extraits étudiés. Les fractions éther de pétrole et éther diéthylique possèdent des capacités réductrices considérables dont les concentrations EC_{50} égalent à 2.0404 ± 0.0235 et à 2.6446 ± 0.0189 mg/ml, respectivement. Ces deux fractions ont une activité antiradicalaire faible exprimée en pourcentage d'inhibition de 19.55 % pour l'éther de pétrole et 16.87 % pour l'éther diéthylique à 6 mg/ml. Pour les autres extraits, cette activité ne dépasse pas 13%. Pour l'extrait brut, sa capacité antioxydante totale (0.6802 ± 0.0254 mg EAA/ g MS) est élevée par rapport aux autres extraits.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien sur sept souches (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* et *Candida albicans*) par la méthode de diffusion sur agar a révélé que tous les extraits testés possèdent un fort effet inhibiteur sur la levure *C. albicans* dont le plus élevé est enregistré avec la fraction acétate d'éthyle (23 mm) à 100 mg/ml. Par ailleurs, l'extrait brut et les fractions éther de pétrole, dichlorométhane, éther diéthylique et acétate d'éthyle sont les plus actifs contre *S. aureus*. D'autre part, les fractions éther de pétrole et dichlorométhane ont un effet inhibiteur sur *B. cereus*. Contrairement aux autres bactéries, aucun effet n'a été observé avec tous les extraits testés.

Mots clés : Algues rouges, *Corallina officinalis*, Composés phénoliques, Propriétés antioxydantes, Activité antimicrobienne

Abstract

As part of the exploitation of marine algal biomass of Algerian coast, we are interested in this work to the phytochemical study and the evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of the crude extract and its fractions of the red alga *Corallina officinalis* of Madride beach at west of wilaya of Ain Témouchent.

The results showed that the crude extract presented a high yield of 1.75% with levels of total phenolics, flavonoids and condensed tannins of 0.2869 ± 0.0168 mg GAE / g DM, 0.0844 ± 0.0036 mg CE / g DM and 0.3991 ± 0.0173 mg CE/ g DM, respectively. These levels for other fractions are low.

The study of antioxidant activity by three methods, DPPH radical scavenging, reducing power and quantification of total antioxidant capacity, revealed the presence of antioxidant properties at different levels for all samples studied. The fractions of petroleum ether and diethyl ether have considerable reducing capacity with EC_{50} concentrations equal to 2.0404 ± 0.0235 and to 2.6446 ± 0.0189 mg/ml, respectively. Both fractions have low antiradical activity expressed as percent inhibition of 19.55% for the petroleum ether and 16.87% for diethyl ether to 6 mg/ml. For other extracts, this activity does not exceed 13%. To the crude extract, total antioxidant capacity (0.6802 ± 0.0254 mg AAE / g DM) was high compared to other extracts.

The evaluation of the antimicrobial potency on seven strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans*) by the agar diffusion method showed that all the tested extracts have a strong inhibitory effect on *C. albicans* yeast, which is recorded the highest with the ethyl acetate fraction (23 mm) at 100 mg/ml. In addition, the crude extract and petroleum ether, dichloromethane, diethyl ether and ethyl acetate fractions are most active against *S. aureus*. Furthermore, petroleum ether and dichloromethane fractions have an inhibitory effect on *B. cereus*. Unlike other bacteria, no effect was observed with all extracts tested.

Key words: Red algae, *Corallina officinalis*, Phenolic compounds, antioxidant properties, antimicrobial activity.

ملخص

في سياق استخدام السواحل الجزائرية الطحالب الكتلة الحيوية البحرية، ونحن مهتمون في هذا العمل لدراسة الكيميائي النبات بوتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات من استخراج النفط الخام وجزينات من الطحالب الحمراء كورالينا المخزنية *Madride* الغرب الشاطئي من ولاية عينتوشنت

وأظهرت النتائج أن استخراج النفط الخام أعطى ارتفاع العائد من 1.75% مع مستويات مجموع الفينول، مركبات الفلافونويد العنصر 0.2869 ± 0.0168 المختصرة EAG ملغ / غ DM 0.0844 ± 0.0036 ملغ EC/M و 0.3991 ± 0.0173 ملغ EC/ملم ز DM، على التوالي. هذه المستويات لكسور أخرى منخفضة.

دراسة ثلاث طرق لمضاد للأكسدة، DPPH محاصرة الراديكالية، والحد من الحديد وتقدير من إجمالي القدرة المضادة للأكسدة، وكشف خصائص مضادة للأكسدة على مختلف المستويات لجميع العينات المدروسة. الكسور الأثير البترول و اثير يكون كبير تخفيض القدرة مع تركيز يساوي $2.0404.0235 \pm 0.0189$ ملغ/ملم / لتر، على التوالي. كل من الكسور لديهما انخفاض النشاط antiradical أعلى نسبة مئوية تثبيط 19.55% لاثير البترول و 16.87% لاثير إلى 6ملغ/ملم. لمقتطفات أخرى، فإن هذا النشاط لا تتجاوز 13. لاستخراج النفط الخام، ومجموع القدرة المضادة للأكسدة (MS) مرتفع مقارنة مع مقتطفات أخرى 0.6802 ± 0.0254 ملغ/EAA

أظهرت قوة مضادات الميكروبات على مدى سبع سلالات (الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية، *Klebsiella* الالتهاب الرئوي، والمكورات العنقودية الذهبية، *Micrococcus luteus*، العنقودية الشحمية والمبيضات البيض (من خلال طريقة نشر أجاز أن جميع المستخلصات المختبرة لها تأثير مثبت قوي. C البيض الخميرة التثبيط تسجيلها أعلى معطلات لا يتجاوز 23) ملم (في 100 ملغ/ملم. بالإضافة إلى ذلك، واستخراج النفط الخام وكسور الأثير البترول، وتنائي كلورو ميثان، ايتروخلات الإيثيل هيا لأكثر نشاطا ضد بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية. علاوة على ذلك، كسور اثير البترول و تنائي كلورو ميثان يكون لها تأثير كبير بشكل خاص على الشحمية، خلافا لغيرها من البكتيريا، لم يلاحظ أي تأثير مع جميع المستخلصات المختبر.

الكلمات المفتاحية:

حمر الطحالب كورالينا المخزنية، ومركبات الفينول، وخصائص مضادة للأكسدة، والنشاط المضادة للميكروبات