

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل
**École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement
du Littoral**



**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur en
Sciences de la Mer**

Option : Aquaculture

Thème :

**Extraction des molécules d'intérêt médical à partir
d'une algue marine : *Ulva lactuca*.**

Présenté par :

M^{lle}. BENZAADA Amira.

M. HADJEBAR Oussama.

Soutenu le 30 / 10 / 2021 devant le jury composé de :

M. KABRANE A.	Maitre-assistant A	(ENSSMAL)	Président.
M^{me} ALOUACHE S.	Maitre de Conférences A	(ENSSMAL)	Examinatrice.
M^{me} DJAHNIT N.	Maitre de Conférences B	(ENSSMAL)	Examinatrice
M. CHAMI A.	Attaché de Recherche	(CRAPC)	Promoteur.
M. AIT SAIDI A.	Maitre de Conférences B	(ENSSMAL)	Co Promoteur.

Année universitaire : 2020-2021.

Remerciements

Avant tout, on remercie Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier notre Promoteur **M. CHAMI Amine**, Chef d'équipe « Analyse des sols et des matrices solides » au sein du Centre Scientifique & Technologique en Analyse Physico-Chimique « CRAPC », qui nous a fait l'honneur de nous diriger et de nous guider pour atteindre les objectifs de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à notre Co-Promoteur **M. AIT SAIDI Adel**, enseignant en microbiologie à l'École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral « ENSSMAL », pour ses conseils et orientations tout au long de notre stage.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **M. KABRANE** Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le Jury.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à **M^{me} ALOUACHE** et **M^{me} DJAHNI**, qui nous a fait l'honneur d'examiner notre thèse.*

*Nous exprimons notre gratitude à **M. BOUHENNA Mustafa** et **M^{lle} KACED** pour leur aide très précieuse dans la réalisation de ce travail.*

Nos remerciements s'étendent à tous les chercheurs et les ingénieurs du CRAPC pour leur accueil et leurs précieux conseils.

À l'ensemble des enseignants de L'ENSSMAL et particulièrement nos enseignants de spécialité Aquaculture.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont transmis des informations et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je remercie Dieu pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.

Je dédie ce modeste travail :

*À celle qui a beaucoup sacrifié pour mon éducation, qui est ma source de tendresse et de confiance, qui attend ma réussite avec impatience, ma chère mère : **Hassina**, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance avec mes vœux de bonne santé et de longue vie.*

*À mon cher papa **Brahim**, il n'y a pas de mots pour décrire ses sacrifices fait pour m'aider à atteindre mes objectifs dans la vie. Sans l'inspiration, l'enthousiasme et le soutien que vous m'avez donnés, je ne serais jamais devenu la personne que je suis aujourd'hui. Merci papa.*

*À ma très chère sœur **Ikram**.*

*À mon cher frère **Walid**.*

À tous mes amis pour leurs soutiens particulièrement :

Hafidha, Nesrine, Siham, Yasmine, Houda.

*À toute ma famille **BENSAADA**.*

*À mon binôme **HADJEBAR Oussama**.*

Et toute la Promotion Aquaculture 2020/2021.

Amira.

Dédicaces

Comme tout croyant, je remercie Dieu pour mon entourage qui m'a permis d'arriver jusqu'à ce tournant de ma vie, ainsi que pour toutes les qualités dont il m'a doté pour surmonter les obstacles et les embûches.

Je dédie ce travail à :

Mes grands-parents maternels **GHILES Oum El Kfir** et **HENNOUS Ali**, qui m'ont élevé ainsi que mes grands-parents paternels, **HENDA Dahbia** et **HADJEBAR Rabah**, j'espère un jour arriver à leurs attentes.

Mes parents **Ahcene** et **Fatma** pour leur soutien, leur encadrement et leur guidance tout au long de ma vie ainsi que mes frères **Réda** et **Farouk**.

Ma famille **HENNOUS** et **HADJEBAR**, surtout mes chères tantes **Houria, Ghania, Ferroudja, Keltoum, Baya, Nassima, Hasna, Souad** et mes oncles **Houcine** et **Karim**.

À tout mon entourage, mes amis, ceux de toujours comme ceux que j'ai croisé pendant ces années universitaires ainsi qu'à mes enseignants de jeunesse.

Mes camarades de promotion (2020/2021), particulièrement notre déléguée **AIT OUAMER Nesrine**.

Et bien sûr à moi-même et à mon binôme **BENSAADA Amira** sans laquelle la stratégie de ce travail n'aurait pas été complétée.

Oussama

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GÉNÉRALE..... 02

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GÉNÉRALITÉS SUR LES ALGUES..... 06

1 – Définition..... 06

2 – Classification des grandes lignées d’algues.....06

1.1. Algues vertes (Chlorophycées).....07

II. LA MACRO-ALGUE : *Ulva lactuca*.....07

1 – la biologie d’*Ulva lactuca*.....07

2 – Identification et caractéristiques.....08

2.1. Classification.....08

2.2. Description d’*Ulva lactuca*.....09

2.3. Habitat et distribution.....09

2.4. Alimentation.....10

2.5. Cycle de reproduction d’*Ulva lactuca*.....10

2.6. Divers biologies.....11

2.7. Composition biochimique.....11

a) Les protéines et aminoacides.....11

b) Les lipides et les acides gras.....12

c) Les polysaccharides et les fibres alimentaires.....12

d) Les vitamines et les minéraux.....12

e) Les pigments et les composés phénoliques.....13

f) L’eau.....13

g) Les cendres.....14

2.8. Applications et usages des chlorophycées.....	14
a) Alimentation.....	14
b) Cosmétologie.....	14
c) Agriculture et élevage	15
d) Santé.....	15
e) Actions thérapeutiques et usages phytopharmaceutiques	15
2.9. L'exploitation et la culture d' <i>Ulva lactuca</i> en aquaculture	16
3 – Les composés phénoliques.....	17
3.1. Classification des composés phénoliques.....	17
a) Les composés non-flavonoïdes.....	17
1. Les acides phénoliques.....	17
2. Les tannins hydrolysables.....	17
3. Les stilbénoides.....	18
4. Les lignines.....	18
b) Les flavonoïdes.....	18
e) Bioactivité et application des composés phénoliques.....	18
3.2. Réponse et rôle des composés phénoliques endogènes chez les végétaux et algues contre les facteurs stress abiotiques.....	19
a) Les métaux lourds.....	19
b) La sécheresse.....	20
c) La salinité.....	20
d) La lumière UV.....	20
e) Autres facteurs abiotiques.....	20
3.3. Méthodes de prétraitement et d'extraction appliquées aux algues	21
1. Généralités.....	21
2. Prétraitement de la biomasse d'algues et de la procédure d'extraction.....	21
3. Extraction solide-liquide des composés phénoliques.....	22
a) Effet du matériel végétal.....	22
b) Effet du soluté.....	22
c) Effet de l'agitation.....	23
d) Effet du ratio liquide solide.....	23
e) Effet du solvant.....	23

f) Effet du couple température-temps.....	24
3.4. Activités biologiques de l' <i>Ulva lactuca</i>	24
a) Activité anti-oxydante.....	24
b) Activités anti-microbienne	25
c) Activité cytotoxique.....	25
d) Activité antifongique.....	25
III. LE STRESS OXYDATIF.....	25
1 – Définition.....	25
2 – Les antioxydants.....	26
3 – Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	27
4 – Utilisations des antioxydants.....	27

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. RÉCOLTE ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON.....	30
1 – Zone de Récolte.....	30
2 – Préparation de l'échantillon.....	31
3 – Identification microscopique.....	31
II. EXTRACTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES D' <i>ULVA LACTUCA</i>	32
1 – Présentation du laboratoire d'accueil «CRAPC ».....	32
2 – Procédé d'extraction des composés phénoliques.....	33
3 – Évaluation du rendement de l'extraction.....	35
4 – Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait obtenu.....	35
4.1. Principe de la méthode.....	36
4.2. Mode opératoire.....	36
5 – Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait obtenu.....	37
5.1. Mode opératoire.....	38
a) Revivification des souches bactériennes.....	38
b) Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i>	38

CHAPITRE III : RÉSULTATS & DISCUSSIONS

I. CALCUL DU RENDEMENT DE L'EXTRACTION.....	42
--	-----------

II. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE.....	42
III. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE.....	46
CONCLUSION.....	50

Références bibliographiques.

Résumé.

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Algue verte <i>Ulva lactuca</i>	07
Figure I.2 : Algue Brune <i>Cystoseira Brachycarpa</i>	08
Figure I.3 : Algue Rouge <i>Osmundea Pinnatifida</i>	08
Figure I.4 : Algue Bleue <i>Spirulina</i>	09
Figure I.5 : Le cycle de reproduction chez <i>Ulva lactuca</i>	13
Figure I.6 : Algue Verte <i>Ulva lactuca</i>	14
Figure I.7 : Schéma de l'algue verte <i>Ulva lactuca</i>	15
Figure I.8 : Distribution mondiale de l'algue verte <i>Ulva lactuca</i>	16
Figure I.9 : Structure chimique des polyphénols.....	19
Figure I.10 : Squelette de base des flavonoïdes.....	21
Figure I.11 : Le Stress oxydatif.....	25
Figure I.12 : Mode d'action des antibiotiques.....	28
Figure II.1 : Localisation géographique de la station CULTMARE.....	31
Figure II.2 : Site de récolte des algues (CULTMARE).....	31
Figure II.3 : Identification microscopique d' <i>Ulva lactuca</i>	32
Figure II.4 : Préparation de l'échantillon.....	33
Figure II.5 : Position géographique du CRAPC au niveau de la wilaya de Tipaza...33	
Figure II.6 : Les différents laboratoires du CRAPC.....	34
Figure II.7 : Procédé d'extraction des polyphénols à partir d' <i>Ulva lactuca</i>	35
Figure II.8 : Évaporateur rotatif.....	35
Figure II.9 : Les étapes d'extraction des composés phénoliques.....	36
Figure II.10 : Structure chimique du 2,2 Diphenyle-1-Picryl-Hydrazyle (DPPH)...36	
Figure II.11 : Réaction de réduction du 2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazyl (DPPH)...37	
Figure II.12 : Le test de l'activité antioxydante.....	38
Figure II.13 : Revivification des souches utilisées.....	39
Figure II.14 : Test de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion (puits).....	40
Figure II.15 : Test de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion (disques)...40	
Figure III.1 : Extrait phénolique obtenu de l'algue <i>Ulva lactuca</i>	43
Figure III.2 : Évolution de l'absorbance de la solution du DPPH en présence de l'extrait phénolique d' <i>Ulva lactuca</i>	45
Figure III.3 : Rendement de l'extrait phenolique d' <i>Ulva lactuca</i>	46

Figure III.4: Réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait phénolique d' <i>Ulva lactuca</i>	47
Figure III.5 : Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique d' <i>Ulva lactuca</i>	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Caractéristiques principales de quelques groupes d'algues.....	10
Tableau I.2 : Classification de l'algue verte <i>Ulva lactuca</i>	15
Tableau II.1 : La Série de dilutions réalisée pour l'extrait.....	37
Tableau III.1 : Absorbance de la solution DPPH en présence de l'extrait phénolique <i>d'Ulva lactuca</i>	44
Tableau III.2 : Rendement de réduction du DPPH par l'extrait <i>d'Ulva lactuca</i>	46

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abs: Absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATB : Antibiotique.

BHIB: Brain Heart Infusion Broth.

BHT : Antioxydant ButylHydroxyToluène.

BTA : Antioxydant bêta-carotène.

DPPH : Radical diphényle picryl-hydrazyl.

EOA : Espèces oxygénés actives.

LLE : Extraction liquide-liquide.

NH₄⁺: L'ion Amomonium.

NO₃⁻ : Le Nitrate.

PH: Potentiel hydrogène.

PLE : Extraction de liquide sous pression.

R : Rendement.

SLE : Extraction solide-liquide.

U.lactuca : *Ulva lactuca*.

UV : Ultraviolet.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans les mers et les océans qui recouvrent les deux tiers de la surface de la terre. Malgré les incertitudes concernant les organismes qui devraient être inclus-en tant qu'algues et ce qu'est une espèce dans le contexte des divers embranchements et classes d'algues, une approche prudente aboutit à une estimation de 72 500 espèces d'algues sont recensées (**GUIRY 2012**). Elles représentent la presque totalité de la flore marine et sont considérées comme les premiers êtres vivants apparus (**MERIGOUT, 2006**).

La recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années, les chercheurs se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation des molécules issues de matrices naturelles, un grand intérêt pour les organismes marins est né, spécialement pour les algues qui sont définies comme étant des organismes photosynthétiques simples, typiquement autotrophes, pluri ou unicellulaires et sont considérées comme source de vie dans l'océan puisqu'elles y produisent l'oxygène (**FLOC'H, 2010**).

La richesse et la diversité de la composition biochimique des algues ont permis leur utilisation dans de nombreux domaines, en fonction des espèces, principalement dans l'industrie agro-alimentaire, la chimie, la microbiologie, l'industrie cosmétique, l'agriculture, et dans le secteur pharmaceutique. Ils ont aussi un rôle de dépollution par leur faculté à concentrer les principes actifs présents dans l'eau de mer (**MERIGOUT, 2006**).

Parmi ces biomolécules algales, on trouve : des caroténoïdes, des fibres, des vitamines et des minéraux; et plusieurs substances actives telles que les protéines, les acides gras, les polysaccharides et les polyphénols qui offrent un éventail d'activité biologique, notamment le pouvoir anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux, antiviral, anti-protozoaire, anticoagulant, antifongique, antioxydant...etc. (**TABOADA et al., 2009**).

L'extraction de composés bioactifs doit être faite selon des procédures appropriées, sélectives, rentables, efficaces et respectueuses de l'environnement, avec des exigences légales quant à l'utilisation de solvants organiques.

Les techniques d'extraction traditionnelles telles que: l'extraction au Soxhlet, l'extraction solide-liquide (**SLE**), et l'extraction liquide-liquide (**LLE**) nécessitent beaucoup de temps, de grandes quantités d'échantillons et de solvants organiques, qui souvent ont un impact négatif sur l'environnement et la santé humaine, en plus de leur coût et de leur non automatisation (**SALGUEIRO-GONZALEZ et al., 2012**).

Les techniques d'extraction modernes telles que : l'extraction par fluides super critiques (SFE), ou la technique d'extraction en phase solide, extraction assistée par ultrason (UAE), extraction de liquide sous pression (PLE), sont fréquemment employées pour l'extraction de composés actifs tels que les polysaccharides, les pigments naturels, les vitamines et les acides aminés à partir d'algues, les solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'eau sont généralement choisis, car leur utilisation est autorisée en industrie alimentaire, contrairement aux autres solvants conventionnels tel que le toluène, l'hexane, le chloroforme ...etc. qui sont dangereux pour l'environnement et la santé (YA FANG *et al.*, 2011).

En général, les algues sont capables de produire une large gamme de métabolites secondaires ayant différentes activités biologiques tel que les polyphénols qui constituent le groupe de composés chimiques le plus distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (TSAO, 2010).

Ces substances chimiques sont réputées d'avoir plusieurs activités biologiques, y compris des propriétés antioxydantes meilleures que celles de la vitamine E (RICO-EVANTS *et al.*, 1995). Plusieurs travaux de recherche ont révélé que des extraits d'algues rouges et vertes, en particulier les polyphénols ont une activité antioxydante très intéressante (RICO *et al.*, 2012). De plus, ils peuvent protéger les neurones contre le stress oxydatif, stimuler la vasodilatation et améliorer la sécrétion d'insuline (HWANG *et al.*, 2006).

L'un des plus grands défis de nos jours est de contrôler le métabolisme oxydatif afin d'éviter un état de stress cellulaire générateur de multiples pathologies tels que les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires, l'ischémie, l'inflammation, le diabète et les tumeurs...etc. (AGRAWAL, 2003).

Les recherches se succèdent dans le but de découvrir des molécules antioxydantes capables de promouvoir la survie cellulaire et de bloquer une mort apoptotique provoquée par cet état de déséquilibre. De plus, on porte un intérêt accru pour la recherche de composés bioactifs avec une puissante activité antioxydante présentant une meilleure biodisponibilité et un coût moindre par rapport aux molécules synthétiques. (GUERRERO, 2012).

Notre étude porte sur l'extraction des molécules d'intérêt médical à partir de l'algue marine *Ulva lactuca*. Pour cela nous nous sommes intéressés essentiellement à extraire des composés phénoliques par des solvants organiques (éthanol) et tester l'activité antioxydante et antibactérienne de cet extrait.

Le présent travail comporte quatre chapitres :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui donne un aperçu général sur les propriétés des algues, essentiellement *Ulva lactuca*, un récapitulatif des procédés d'extraction ainsi que les facteurs influençant le rendement de cette dernière et un résumé sur le stress oxydatif et les réactions bactériennes.
- Le deuxième chapitre regroupe la méthodologie et l'ensemble du matériel que nous avons utilisés pour l'extraction des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ces composés.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation de l'essentiel des résultats obtenus.
- Enfin, ce travail est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I :
RECHERCHE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Recherche bibliographique sur les algues

I.1. Définition

Les algues sont des organismes photosynthétiques pluricellulaires représentant un groupe hétérogène de plantes, très distinctes les unes des autres n'ayant que peu de caractères en commun (GAYRAL, 1975) et connues comme étant une source d'alimentation saine. Elles sont classées parmi les cryptogames, dans le vaste groupe des thallophytes, vue leur organisation rudimentaire (MANNEVILLE et al., 2009).

Elles possèdent un appareil végétatif peu évolué, sans racines, ni tiges, ni feuilles, ni vaisseaux conducteurs (ARUNACHALAM et al., 2014). La majorité se compose d'un crampon, d'une fronde, et certaines possèdent un stipe et se nourrissent à travers un processus d'osmose (GUPTA et al., 2011).

Les algues sont des végétaux aquatiques considérées comme étant des organismes inféodés aux zones humides (eaux marines, eaux saumâtres et eaux douces) qui jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre écologique du milieu aquatique (RIADI, 1998). La présence de chlorophylle est l'une des particularités commune pour toutes les algues (De RIVIERS, 2002).

Les algues marines constituent un groupe diversifié d'organismes et sont divisées selon leur morphologie en :

a) Les microalgues ou algues microscopiques, composent le phytoplancton et sont à la base de la chaîne alimentaire marine. Elles flottent en pleine eau et leur taille varie, selon les espèces, de quelques micromètres (μm) à quelques centaines de μm . Elles sont utilisées en aquaculture pour l'alimentation de nombreux animaux d'élevage, comme les bivalves filtreurs. Elles leur apportent les vitamines et les acides gras polyinsaturés nécessaires à leur développement, qu'ils ne savent pas synthétiser eux-mêmes.

b) Les macroalgues désignent les grandes algues et algues géantes. Elles se développent surtout dans les eaux peu profondes. Elles se fixent au fond de l'eau, grâce à leurs crampons. Les algues provenant des mers chaudes mesurent rarement plus de 30 cm, alors que celles des mers plus froides mesurent 1m et plus (POZDERKA, 2015).

I.2. Classification des grandes lignées d'algues

Les algues peuvent être classées en une dizaine d'embranchement selon des critères basés sur leurs compositions pigmentaires, leurs modes de reproduction, leurs polysaccharides de réserve ou leurs caractéristiques structurales (NIL, 2011).

De ce fait, on distingue les organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires avec une pigmentation rouge relative aux algues rouges, une pigmentation jaune relative aux algues brunes, les algues vertes à pigmentation verte et les organismes procaryotes à savoir les cyanobactéries communément appelées algues bleues (**GARON-LARDIERE, 2004**).

I.2.1. Algues vertes (Chlorophycées)

Avec plus de 6500 espèces, elles présentent une grande diversité de formes uni-ou pluricellulaires (**SPLINGART, 2013**). Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles 'a' et 'b', aux quelles sont associés des carotènes et des xanthophylles (**Figure I.1**). La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures, la plupart des algues vertes vivent en eau douce mais il existe aussi des espèces marines comme les Ulotrichales et les Cladophorales. Cette famille d'algue joue un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (**GARON-LARDIERE, 2004**).



Figure I.1 :Algue verte(*Ulva lactuca*).

(https://www.researchgate.net/figure/The-seaweed-Ulva-lactuca-Chlorophyta-origin-the-Netherlands_fig1_325969737.)

II. La macro-algue : *Ulva lactuca*

II.1. la biologie d'*Ulva lactuca*

Le genre *Ulva*, appelée aussi laitue de mer, est l'ensemble des algues vertes. Elles peuvent se présenter sous forme de rubans ou tubulaires (**Figure I.2**), et peuvent atteindre une taille de 20 à 30 cm (**WICHARD, 2015**).

Ulva lactuca est une macro algue verte comestible, à distribution cosmopolite (très vaste) répandue dans l'océan atlantique et les mers attenantes (PUSHPARAJ *et al.*, 2014). C'est une espèce nitrophile, elle est un bio-indicateur de l'eutrophisation d'un milieu.

Cette algue est visible surtout aux fortes périodes d'ensoleillement, la fin de l'hiver, le printemps et l'été. Elle a une durée de vie assez courte, quelques mois en général, mais plusieurs générations se succèdent au cours de l'année (GUIRY ET GUIRY, 2008). Elle appartient à la famille des Ulvacea (**Tableau I.1**).



Figure I.2 : Algue verte *Ulva lactuca*

<https://www.aquaportail.com/genre-ulva-526.html>.)

II.2. Identification et caractéristiques

II.2.1. Classification

Le nom complet est *Ulva lactuca*. Selon BOTANY (2001), c'est une algue verte appartenant à la famille des Ulvaceae, l'ordre des Ulvales, la classe des Ulvophyceae incluse dans la division Chlorophyta (**Tableau I.1**).

Tableau I.1 : Classification de l'algue verte *Ulva lactuca* (GUIRY *et al.*, 2008).

Embranchement	Chlorophyta
Classe	Ulvophyceae
Ordre	Ulvales
Famille	Ulvaceae
Genre	Ulva

Espèce	<i>Ulva lactuca</i>
--------	---------------------

II.2.2. Description d'*Ulva lactuca*

Ulva lactuca se distingue par un thalle très mince (moins d'un dixième de millimètre d'épaisseur), en forme de feuille, de couleur vert émeraude et translucide qui peut virer à la transparence en cas de stress (BOTANY, 2001). Ce thalle est rigide à la base et plus souple à proximité des bords de croissance avec un stipe très court à la base, appelé aussi crampon, constitué de petits rhizoïdes rigides qui sert à la fixation de l'algue sur la roche (Figure I.3).

Elle peut se retrouver sous forme de touffes ou le plus souvent de lames solitaires, ces dernières peuvent être plates ou ébouriffées avec de petites dents microscopiques sur les bords. Ce sont ces bords crénelés qui la distinguent de l'espèce *Ulva rigida* (BOTANY, 2001).

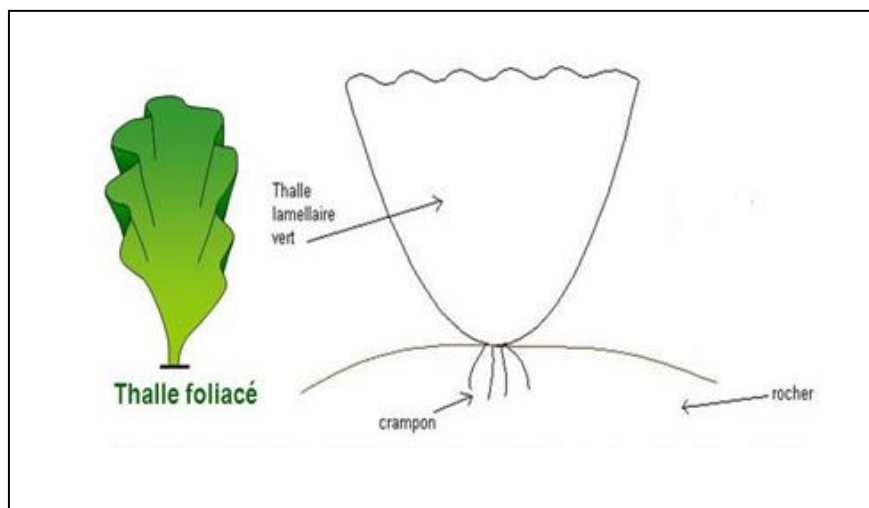


Figure I.3 : Schéma de l'algue verte *Ulva lactuca*.

(<https://www.svt-tanguy-jean.com/uploads/1/2/0/4/120408978/tb-tp-5-3-organismes-photosynthetiques-etudiant.pdf>)

II.2.3 Habitat et distribution

Ulva lactuca se trouve généralement fixée sur des roches dans des zones intertidale et sublittoral. Elle est retrouvée également en abondance dans les zones abritées et peu profondes, des endroits bien illuminés tels que les lagunes saumâtres et les ports. Elle se développe aussi dans les zones enrichies en eau douce et de ruissellement, riches en éléments nutritifs même polluées. En effet, c'est une algue très résistante à l'eutrophisation (LAMI, 2008). Sa distribution est commune et elle est largement présente dans le monde (Figure I.4).

Au niveau de la mer Méditerranée *U. lactuca* est la plus répandue des espèces du genre *Ulva* (MEDITERRANEO, 2015).

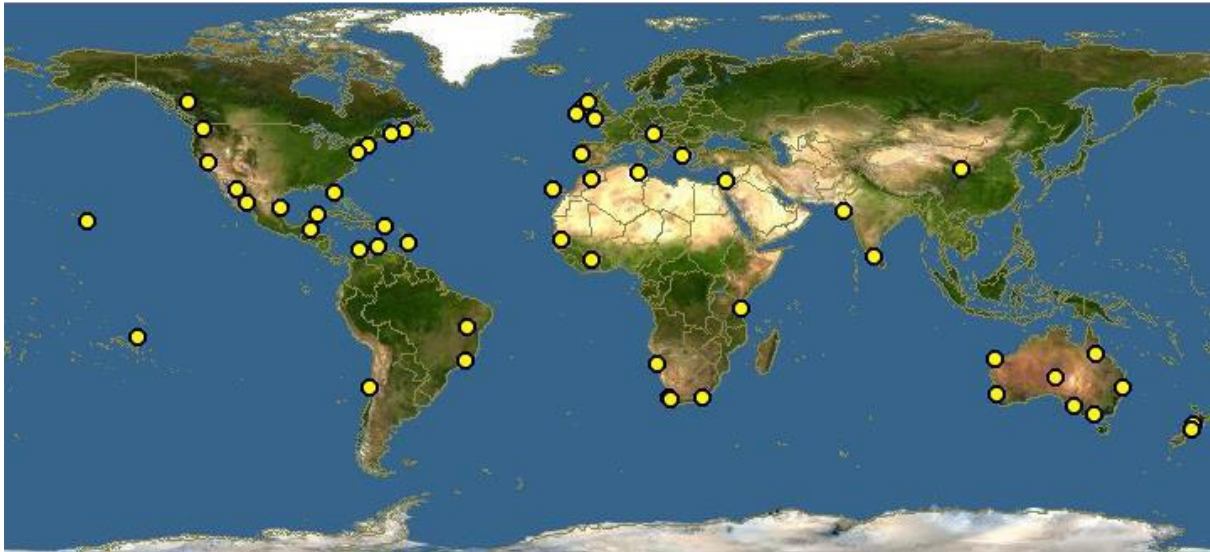


Figure I.4 : Carte représentative de la distribution mondiale de l'algue verte *Ulva lactuca*.
(facility 2013)

II.2.4. Alimentation

La plupart des algues marines font appel à l'activité photosynthétique. L'assimilation des nutriments se fait par les frondes qui permettent une très bonne assimilation.

La quasi-totalité des algues, y compris les ulves, assimilent l'azote nécessaire sous la forme d'ions NH_4^+ (ammonium), mais les ulves présentent la remarquable particularité de pouvoir assimiler les ions NO_3^- (nitrates), ce qui explique l'implication de nombreuses espèces dans les phénomènes de marées vertes (HAMON, 2008).

II.2.5. Cycle de Reproduction d'*Ulva lactuca*

Les gamétophytes et les sporophytes se ressemblent morphologiquement (cycle isomorphe). Le gamétophyte voit certaines cellules se différencier en gamétocystes: la paroi demeure mais le contenu cellulaire se divise en gamètes flagellés qui sont ensuite relâchés dans le milieu extérieur. Il existe deux types de gamétophytes (2 sexes) très semblables mais l'un des gamètes est un peu plus gros et un peu moins mobile (gamète femelle) que l'autre (légère anisogamie). La rencontre des gamètes produit un zygote diploïde à partir duquel se développe par mitoses un sporophyte. Dans des cellules marginales, les sporocystes, se différencient des spores flagellées libérées dans le milieu extérieur et qui donnent ensuite, par mitoses, des gamétophytes. (Tanguy, J., 2014-2015). (figure I.5)

Ulva lactuca – Cycle de vie

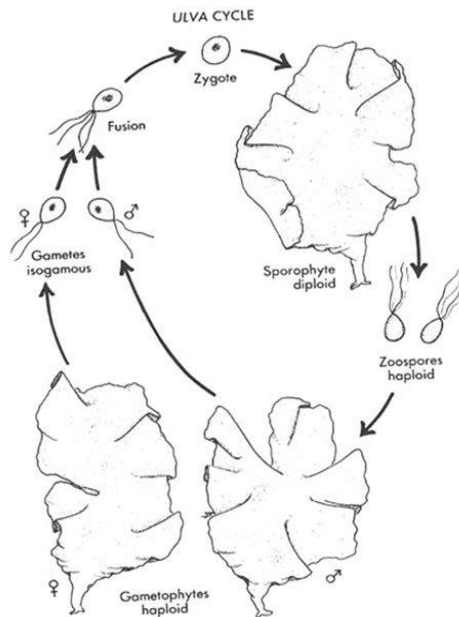


Figure I.5 : Cycle haplodiplophasique digénétique isomorphe légèrement anisogame de la Laitue de mer *Ulva lactuca* D'après Morère, P., et al. (2003).

II.2.6. Divers biologiques

Ces algues sont visibles surtout aux fortes périodes d'ensoleillement, la fin de l'hiver, le printemps, l'été. Elles ont une durée de vie assez courte, quelques semaines en général, mais plusieurs générations se succèdent au cours de l'année. (Hamon, F., 2008).

II.2.7. Composition Biochimique

La biodiversité extraordinaire du monde marin se traduit par l'apparition de nombreux composés biologiquement actifs. Les organismes marins tels que les plantes, les animaux et les algues sont parfois exposés à des conditions extrêmes de température, pH, salinité, pression, lumière et autres ; ce qui rend leur survie dans ces habitats complexes un véritable défi quotidien (HAMED, 2014).

a) Les protéines et aminoacides

Plusieurs études se sont focalisées sur la composition biochimique d'*Ulva lactuca*. Le taux de protéines varie considérablement d'une étude à une autre. (TABOADA 2009) a trouvé une valeur de 17,8% sur une algue récoltée en Espagne, tandis que (SATPATI 2011), et sur la même espèce récoltée en Inde, a rapporté un taux faible de 6,64%. En Turquie, (İRKIN 2014) a démontré que la teneur en protéines varie selon la station de récolte et les saisons, la valeur était comprise entre 4,81% - 21,21% en période d'été. Par contre une étude réalisée par

(**ROUXEL et al. 2001**) d'*U. lactuca* récoltée en France, a montré que le taux de protéines atteint le maximum pendant le mois de décembre et varie en fonction des saisons entre 11,3 - 23,6%.

b) Les lipides et les acides gras

Les lipides ne représentent que 1 à 5% de la matière sèche chez les algues. Ces dernières sont riches en acides gras polyinsaturés, particulièrement les omégas 3 et oméga 6, qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies cardio-vasculaires, l'arthrose et le diabète (**IVANOVA, 2013**). Le taux total en lipides chez *Ulva lactuca* présente des différences allant de 0,79 à 12%. Ce taux est fonction de facteurs environnementaux, des techniques de culture, de la composition du milieu ...etc. Cependant, cette algue constitue une source potentielle de lipides simples et de glycolipides qui varient aussi selon l'habitat, la lumière, la salinité et la pollution (**ILKNUR, 2015; IVANOVA, 2013; SATPATI, 2011**).

c) Les polysaccharides et les fibres alimentaires

Les algues sont généralement riches en carbohydrates. En effet, *Ulva lactuca* est caractérisée par un pourcentage élevé (jusqu'à 22% de la matière sèche) de fibres alimentaires polysaccharidiques résistantes aux enzymes digestives humaines (**SATPATI 2011**). Elles sont utiles pour leurs propriétés fonctionnelles et/ou biologiques comme ingrédients bioactifs potentiels dans les aliments; mais aussi dans la fabrication du compost, du papier, pour leur capacité de gélification ou leurs activités antivirales (**YAICH, 2011**). Les principaux polysaccharides d'*Ulva lactuca* sont les ulvales qui sont des polysaccharides sulfatés.

d) Les vitamines et les minéraux

Ulva lactuca comme la plupart des algues est une bonne source de vitamines du groupe B (B₁, B₂ et B₁₂) (**HAMED, 2014**). Elle pourrait représenter une source essentielle de vitamine B₁₂ pour les humains, en particulier pour les végétariens stricts, qui sont couramment déficients en cette vitamine (**WATANABE, 1999**). La vitamine A est néanmoins la plus abondante, bien que la vitamine E et la vitamine C soient présentes en grandes quantités également (**TABOADA, 2009**).

Les algues sont très riches en minéraux essentiels et en oligo-éléments tels que le calcium, le sodium, le potassium et le magnésium (**HAMED, 2014**).

L'analyse de la composition minérale d'*Ulva lactuca* a montré un contenu équilibré en sodium et en potassium respectivement 15,9 et 15,6 g/kg, ce qui est intéressant d'un point de

vue nutritif. La concentration en magnésium est équivalente à 20,94 g/kg (TABOADA, 2009).

Les algues sont une source importante de calcium et phosphore puisque leur contenu dépasse celui des pommes, des oranges et des pommes de terre (HAMED, 2014). En effet, selon (TABOADA 2009), la concentration en calcium est de l'ordre de 5,24 g/kg.

L'une des caractéristiques des algues marines est leur forte teneur en iode, compte tenu de leur milieu de vie (HAMED, 2014). *Ulva lactuca* est également riche en fer avec une teneur allant de 2 à 7 g/kg (TABOADA, 2009) et peut atteindre 77 g/kg selon (SIRBU *et al.* 2006).

e) Les pigments et les composés phénoliques

Les pigments photosynthétiques sont des composés bioactifs qui sont capables de capter l'énergie solaire. La couleur des algues est due à la présence ou absence de pigments chlorophylliens représentés par quatre types de chlorophylles qui diffèrent par de légères modifications structurales (SIRBU, 2006 ; HAMED, 2014). On distingue, surtout la chlorophylle « a » dont la présence est nécessaire à la photosynthèse chez toutes les algues photosynthétiques (SATPATI 2011 et SIRBU 2006).

Le contenu en chlorophylle chez *Ulva lactuca* est de 0,77 mg/g. Outre la chlorophylle on trouve aussi des pigments caroténoïdes. Ceux-ci se caractérisent par une structure chimique complexe, et confèrent une couleur jaune-rougeâtre aux algues (SIRBU, 2006).

Les composés phénoliques sont généralement trouvés dans les écosystèmes terrestres, les plantes marines, les micro et macro-algues (TRIGUI, 2013) ; Ils sont susceptibles de présenter différentes activités biologiques y compris des propriétés anti-oxydantes et antimicrobiennes. Selon (BRAVO 1998), il existe au moins 8000 polyphénols bioactifs différents. L'étude de TRIGUI en 2013 avance que le contenu phénolique total chez *Ulva lactuca* est de l'ordre de 9 mg PHG / g (mg équivalent d'acide phloroglucinol par g d'extrait d'algue sèche).

f) L'eau

Les algues sont généralement constituées de 90% d'eau, localisée dans la vacuole de la cellule, ainsi que dans le cytoplasme et la paroi cellulaire (FALLER, 2011). (ILKNUR 2015 et SATPATI (2011) ont rapporté qu'*Ulva lactuca* contient entre 76 et 83,56% d'eau. Cette valeur est variable en fonction des nutriments présents dans le milieu. Une diminution de la teneur en eau a été enregistrée en présence d'une source de carbone, alors que la présence des nitrates dans le milieu l'augmente considérablement (ILKNUR, 2015).

g) Les cendres

La teneur en cendres dans les algues est plus élevée que dans les plantes terrestres. Chez *Ulva lactuca*, la teneur est variable d'une étude à une autre, allant de 11 à 35% selon le milieu de croissance de l'algue (**ILKNUR, 2015; İRKIN, 2014**).

En résumé, la composition biochimique d'*Ulva lactuca* varie en fonction de la distribution géographique, des saisons et des principaux facteurs environnementaux comme la température de l'eau, la salinité, la lumière, les nutriments et les minéraux disponibles.

II.2.8. Applications et usages des chlorophycées :

L'intérêt des algues: Les algues d'origine marine occupent une place importante en pharmacologie et en médecine et de ce fait, font l'objet d'une exploitation industrielle importante : (alimentation, cosmétologie, agriculture et élevage...) (**KORNPROBST2005**).

a) Alimentation

Étant la principale utilisation dans le monde, les algues utilisées dans l'alimentation se répartissent entre les trois groupes : Chlorobionte (vert), Rhodobionte (rouge), et Chromobionte (brune) mais il ne s'agit pas toujours espèces unique. la prépondérance asiatique dans ce domaine apparaît dans la terminologie des spécialités alimentaires, essentiellement Japonaise, pauvre en calorie par manque de sucre assimilable et de matière grasse et riche en fibres non digestible, protéine, sels minéraux et vitamine, les algues alimentaires sont utilisées surtout dans les régimes diabétiques (**PROVASOLI ET CARLUCCI, 1974 IN KORNPROBST 2005**) les algues sont également utilisées dans l'alimentation du bétail. Elles sont désormais commercialisées sous forme de farine pour l'alimentation animale (**HUGH, 2003**).

b) Cosmétologie

L'utilisation d'algue et des extraits d'algue dans les cosmétique et apparue surtout dans les pays développés, depuis le dernier quart du XXe siècle. Les extraits d'algues sont régulièrement utilisés dans les crèmes cosmétologiques (**SPOLARE 2006**). Pour des raisons de formulation, on note que l'utilisation de poudre d'extraits d'algues est plus fréquente que l'utilisation de végétaux entière. Certaines molécules d'origine algale sont même utilisées en

tant qu'excipient dans l'élaboration de produit dermatologique (alginate). De nombreuses recherches tendent à valoriser l'utilisation des algues, notamment à la vue des enjeux économiques considérables liées aux produits cosmétologiques d'appellations biologiques (**DABOUINEAU 2004**). La fabrication de microbille d'alginate, capable d'encapsuler des principes actifs et des colorants cosmétique et un exemple flagrant du potentiel éco sociétal des substances polymériques d'origine algale.

c) Agriculture et élevage

Trois secteurs de l'agriculture utilisent les algues marines :

- ✓ L'emploi de maërl pour l'amendement des sols acides.
- ✓ Emploi des algues comme fertilisant et engrais par exemple varech ou goémon.
- ✓ Utilisation des phycocolloïdes pour la rétention de l'humidité des sols.

Quelques revues présentes tous les aspects de l'utilisation des algues en agriculture et contiennent en abondante bibliographie détaillées, en particulière (**BLUNDEN 1991**) c'est surtout de forme de farine, de poudre ou de tourteaux qu'elles sont le plus utilisées en Bretagne et Normandie.

d) Santé

Les algues représentent une source de substances polymériques actives, mise en évidence par des nombreux travaux de recherches. Les potentielles thérapeutiques de certaines de ces substances sont extrêmement prometteurs notamment comme agent microbien ; agent antiviraux ou pour leur activités envers certaines pathologies (**NAKAJIMA 2009**). Un extrait d'une algue verte marine, le diméthyl-sulfonio-propionate, a été mis en évidence et présente des potentialités anticancéreuses. Certains hétéros polysaccharides sulfatés matriciaux comme les fucoïdanes, sont également appropriés pour lutter contre le processus de formation et de croissance de tumeurs malignes (**BOISSONVIDAL 2007**).

e) Actions thérapeutiques et usages phytopharmaceutiques

Sur le plan thérapeutique, les algues ont connu un intérêt grandissant en tant que source de molécules bioactives. Les propriétés et activités biologiques présentées par ces molécules sont vastes ; telles que les activités antibactérienne, anti-inflammatoire, antiproliférative, antivirale, antifongique, antinéoplasique, anti-cancéreuse, anti-obésité, antidiabétique, antihypertenseur, hypolipémiant et antioxydant (**CABRITA 2010 et XU 2004**)

II.2.9. L'exploitation et la culture d'*Ulva lactuca* en aquaculture :

L'extraction de différents produits d'*Ulva lactuca* offre des opportunités de développer de nouveaux produits et des applications commerciales. Jusqu'à présent, les études sur l'usage d'*Ulva lactuca* dans le domaine aquacole qui ont été réalisées se sont penchées principalement sur son usage nutritionnel pour certaines espèces d'élevages (LARAMORE *et al.*, 2018) ainsi que dépolluant dans les eaux usées (COPERTINO *et al.*, 2009). Aussi, l'utilisation potentielle de la laitue de mer en remplacement du tourteau de soja dans l'alimentation de la crevette tigrée *Penaeus monodon* juvénile a aussi été envisagée par SERRANO *et al.* (2015).

Elle peut aussi être utilisée pour nourrir les poissons ou les mollusques (MCCAULEY *et al.*, 2018).

Son utilisation s'est expansée même vers l'agriculture ou a été prouvé que l'utilisation agricole d'extraits d'*Ulva lactuca* améliore la croissance végétative des plants de haricot soumis à un stress hydrique (LARAMORE *et al.*, 2018).

Les Ulves ont donc un rôle essentiel pour le maintien et l'expansion de l'aquaculture marine durable (NEORI, 2008). L'intégration des algues dans les cultures d'animaux marins est reconnue depuis longtemps comme l'approche la plus prometteuse pour réduire l'excès de nutriments libérés par l'activité aquacole, en raison de l'efficacité élevée d'absorption des nutriments par les macroalgues, de leurs taux de croissance rapides et des aspects économiques et pratiques de leur culture (SANTOS, 2006).

II. 3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes et des algues, ils proviennent de la phénylalanine est donc également appelée phénylpropanoïdes.

Ces composés sont synthétisés de manière biogénétique grâce à une voie shikimate/phénylpropanoïde, tandis qu'une voie mévalonate génère des terpénoïdes. Ces deux voies secondaires produisent un large éventail de structures monomères et polymères englobant une gamme complète de rôles physiologiques et biochimiques chez les plantes et les algues (LATTANZIO *et al.*, 2013).

Les composés phénoliques jouent un rôle dans la croissance, la reproduction, la pigmentation et la protection des plantes et des algues contre les prédateurs et les agents pathogènes, ils ont aussi un effet antioxydant et protecteur contre les rayons UV (NACZK *et al.*, 2006). Ils contribuent également aux caractéristiques nutritives et sensorielles des fruits et légumes. Les

composés phénoliques peuvent être simples ou composés de plusieurs noyaux aromatiques (Figure I.6).

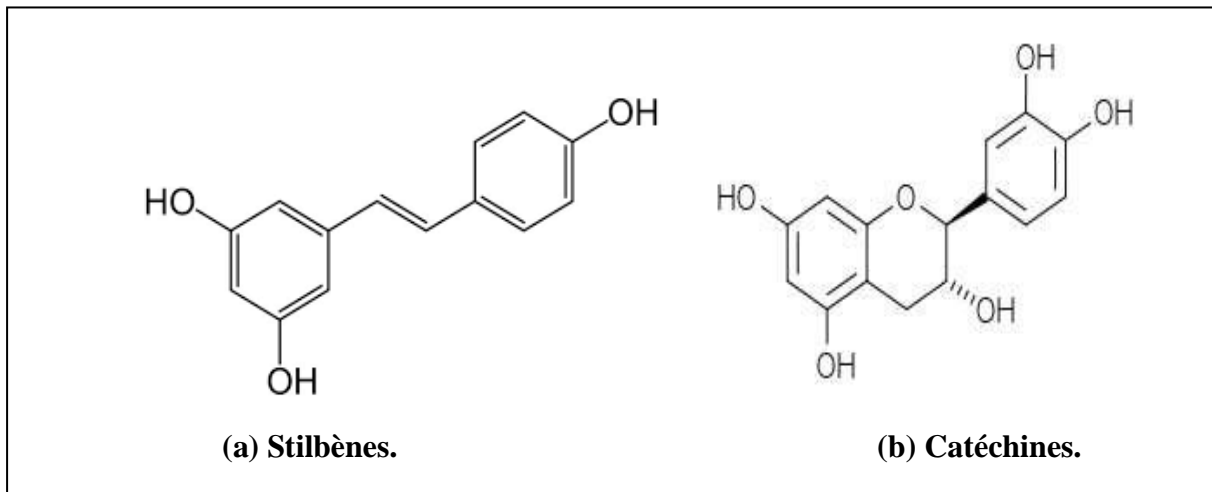


Figure I.6 : Structure chimique des polyphénols.

De nos jours le terme «polyphénol » est utilisé pour désigner les composés phénoliques complexes et même les plus simples (LATTANZIO *et al.*, 2014).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, largement utilisés pour leurs vertus thérapeutiques comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires et antimicrobiens (BRUNETON, 1999).

II.3.1. Classification des composés phénoliques

a) Les composés non-flavonoïdes

Les composés non-flavonoïdes contiennent les acides phénoliques (un noyau aromatique), les tannins hydrolysables, les stilbènes (deux noyaux aromatiques) et les lignines.

a) 1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent le tiers des composés phénoliques alimentaires et peuvent être présents sous forme libre ou liée aux composants de la plante (ROBBINS, 2003). Ils sont subdivisés en deux groupes:

- **Les acides hydroxybenzoïques** qui dérivent de l'acide benzoïque. Ils incluent les acides galliques, hydroxy benzoïques, protocatéchiques, vanilliques et syringiques (BRAVO, 1998).
- **Les acides hydroxycinnamiques** qui dérivent de l'acide cinnamique. Ils incluent les acides caféiques, féruliques, paracoumariques (BRAVO, 1998).

a) 2. Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables résultent de l'association des esters d'acides phénoliques (acide gallique ou ellagique) à un polyol (surtout le glucose). Ils seront par la suite divisés en ellagitannins et gallotannins (COLLIN *et al.*, 2011).

a) 3. Les stilbénoides

Les stilbénoides sont des composés phénoliques naturels, dérivant de l'acide hydroxycinnamique. Leur squelette de base est formé par deux noyaux aromatiques reliés par un pont méthylène (COLLIN *et al.*, 2011).

a) 4. Les lignines

Les lignines sont des polymères pariétaux responsables de la rigidité et de la défense contre les pathogènes. Ce sont des polymères d'alcool coniférylique, paracoumarylique et sinapylique. (COLLIN *et al.*, 2011).

b) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (de flavus, « jaune » en latin) sont des pigments de végétaux responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils possèdent un squelette de base à quinze carbones, qui consiste en deux cycles phényles (BRUNETON, 1999), les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). (Figure I.7).

Il existe près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes différentes selon des modifications de l'hétérocycle C; on distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, chalcones ... etc. (WOLLGAST *et* ANKLAM, 2000).

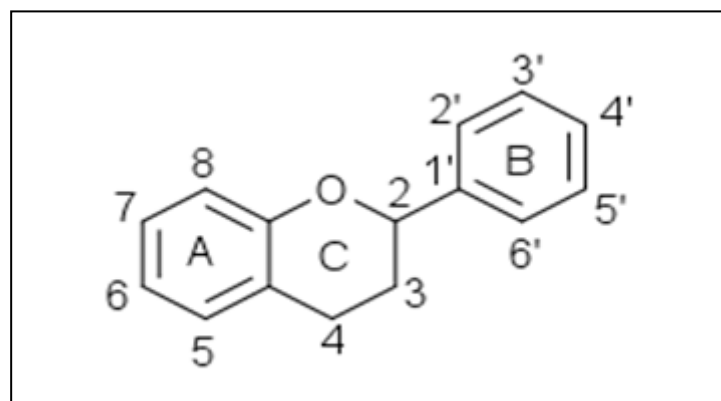


Figure I.7 : Squelette de base des flavonoïdes.

e) Bioactivité et application des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont connus pour leurs activités antioxydantes et anti radicalaires élevées. Ils ont la capacité de piéger les radicaux libres en leur transférant un hydrogène ou un

électron. De même, ils peuvent agir indirectement, en chélatant les métaux de transition qui accélèrent la formation des espèces réactives oxygénées (radical hydroxyle, peroxyde d'hydrogène...etc.), ou en inhibant les enzymes qui interviennent dans la catalyse des espèces radicalaires. Les composés phénoliques ont également des effets antibactériens, antiviraux et antifongiques (**FRIEDMAN, 2000**). Ils protègent aussi contre des troubles pathologiques chez les humains, notamment l'athérosclérose, le cancer et autres d'où l'intérêt de leur application dans le domaine de la santé (**GORDON, 1996**).

Les composés phénoliques ont aussi de nombreuses applications dans l'agroalimentaire comme agents de conservation et colorants naturels.

II.3.2 Réponse et rôle des composés phénoliques endogènes chez les végétaux et algues contre les facteurs stress abiotiques

En réponse aux stress abiotiques, la biosynthèse des métabolites secondaires, dont les polyphénols, est généralement augmentée dans les végétaux. Les phénols confèrent en effet une plus grande tolérance aux plantes face à divers stress tel que les métaux lourds, la salinité, la sécheresse, la température, les pesticides et les rayonnements UV (**NAIKOO *et al.*, 2019**).

Les végétaux et algues qui poussent dans des environnements stressants ont la capacité de biosynthétiser plus de phénols par rapport aux plantes poussant dans des conditions normales (**SELMAR, 2008**). Ces composés ont des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres, entraînant une réduction de la peroxydation de la membrane cellulaire, protégeant ainsi les cellules végétales des effets néfastes du stress oxydatif (**SCHROETER *et al.*, 2002**).

La biosynthèse des composés phénoliques dans des environnements stressants est régulée par les activités modifiées de divers enzymes clés des voies de biosynthèse phénoliques comme PAL et CHS (chalcone synthase). Pour améliorer la performance des enzymes s'accompagne également une hausse des niveaux de gènes transcrits codant pour des enzymes biosynthétiques clés telles que PAL, C4H (cinnamate 4-hydroxylase), 4CL (4-coumarate : CoA ligase), CHS, CHI (chalcone isomérase), F3H (flavanone3-hydroxylase), F3'H (flavonoïde 3'-hydroxylase), F3'5'H (flavonoïde 3'5'-hydroxylase), DFR (dihydroflavonol 4-réductase), FLS (flavonolsynthase), IFS (isoflavone synthase), IFR (isoflavone réductase) et UFGT (UDP flavonoïde glycosyltransférase) (**SHARMA *et al.*, 2019**).

a) Les métaux lourds

Le stress des métaux lourds provoque un stress oxydatif pour les végétaux en déclenchant la génération de ROS nocifs et provoquant une toxicité et un retard de croissance (**SHAHZAD *et al.*,2018**). Cependant, une biosynthèse améliorée des composés phénoliques dans les plantes et algues soumises à un stress métallique aide à protéger les plantes du stress oxydatif (**HANDA *et al.*,2019**). Les flavonoïdes peuvent améliorer le processus de chélation des métaux qui aide à réduire les niveaux de radicaux hydroxyle nocifs dans les cellules végétales (**MIRA *et al.*,2002**).

b) La sécheresse

L'accumulation phénolique est très cruciale pour contrer les impacts négatifs du stress hydrique dans les végétaux (**NAIKOO *et al.*, 2019**). La biosynthèse et l'accumulation de flavonols ont également été stimulées chez les plantes en conditions de déficit hydrique accompagné d'une résistance accrue contre le stress hydrique (**KIRAKOSYAN *et al.*,2003**).

c) La salinité

Le stress salin entraîne la génération de ROS comme les anions superoxydé, le peroxyde d'hydrogène et l'hydroxyle ions (**TAÏBI *et al.*,2016**), et nécessitent l'activation du système antioxydant des plantes bien orchestré et finement réglé pour contraster la propagation des ROS (**DE AZEVEDO NETO *et al.*,2006**). Les composés phénoliques aident à éliminer les ROS nocifs dans les plantes soumises à un stress salin (**CHEN *et al.*,2019**).

d) La lumière UV

L'exposition aux rayonnements UV-B des plantes endommage leur structure protéique, cause des dommages mutations de l'ADN et génère des ROS nocifs. Pour contrer les effets négatifs de l'exposition aux UV-B, les composés phénoliques endogènes s'accumulent dans les cellules végétales et protègent les composants cellulaires en faisant un bouclier sous la couche épidermique. Ils réduisent davantage les dommages à l'ADN en empêchant la dimérisation de la thymine ainsi que la réduction des dommages de la photo-dégradation d'enzymes importantes comme le NAD/NADP (**NAIKOO *et al.*,2019**).De plus, les flavonoïdes agissent également comme écrans lumineux en raison de leur capacité à absorber à la fois le visible (anthocyanes) et les rayonnements UV (anthocyanes et flavonoïdes incolores), protégeant ainsi les plantes de ces radiations nocives.(**LATTANZIO *et al.*,2013**)

e) Autres facteurs abiotiques

D'autres facteurs abiotiques comme la température, les nanoparticules et les pesticides stimulent également la biosynthèse phénolique dans les algues et végétaux et aident à fournir une résistance contre les effets phytotoxiques de ces stress. (SHARMA *et al.*,2016)

Les voies de biosynthèse phénoliques sont également activées dans les algues et plantes poussant dans des conditions de stress dû à des rejets et déchets chimiques ou pesticides. Cela conduit à une plus grande accumulation de composés phénoliques dans les végétaux, qui confèrent une résistance pour survivre contre la toxicité des substances induites. Cette biosynthèse phénolique est elle-aussi due à l'activation d'enzymes biosynthétiques clés et à la régulation à la hausse des gènes clés de branche phénylpropanoïde, y compris PAL et CHS (SHARMA *et al.*,2016).

II.3.3. Méthodes de prétraitement et d'extraction appliquées aux algues

II.3.3.1. Généralités

Les algues, riches en composés actifs, sont en mesure de contribuer à différentes activités biologiques. Ces composés sont sensibles aux techniques d'extraction. De nos jours, les recherches dans le domaine des algues marines visent à sélectionner des techniques d'extraction efficaces, sélectives et respectueuses de l'environnement (AGUILAR-BRISEÑO *et al* 2015)

Le choix de la méthode d'extraction dépend notamment du type de composés bioactifs à obtenir (huiles, polysaccharides, éléments nutritifs, fibres alimentaires, etc.).

Concernant les extractions par solvant, le choix de solvant (polaire, apolaire, protique, aprotique) conduira à l'extraction de différents groupes de composés (BERRI *et al*, 2016)

Les méthodes de production d'extraits d'algues peuvent être divisées en trois groupes : méthode biologique (hydrolyse enzymatique), extraction par solvant et extraction physique (en autoclave, par fluide supercritique).

3.4.2. Prétraitement de la biomasse d'algues et de la procédure d'extraction.

Dans le cas de la préparation d'extraits d'algues marines, la première étape (immédiatement après la collecte) consiste à laver plusieurs fois la biomasse à l'eau de mer pour éliminer les particules de sable et les impuretés qui y adhèrent (BERRI *et al*, 2015)

RHIMOU *et al* (2010) ainsi que LEIRO *et al* (2007) ont suggéré de supprimer la microflore de surface en trempant les échantillons d'algues pendant 10 min avec l'éthanol à 30%. Ensuite, les algues devraient être rapidement transportées au laboratoire dans des sacs en polyéthylène placés dans une glacière. Les algues devraient être à nouveau lavées avec de l'eau douce pour

éliminer les précipités de sels. Il convient de veiller au maximum à éliminer les épiphytes des macroalgues (AGUILAR-BRISEÑO *et al*, 2015). Après le processus d'extraction, la matière végétale est filtrée, le filtrat (extrait d'algue) est recueilli et conservé à 4 ° C.

3.4.3 Extraction solide-liquide des composés phénoliques

L'extraction solide-liquide est l'utilisation d'un solvant pour dissoudre et récupérer une fraction soluble (appelée soluté) d'un solide insoluble et perméable.

Les algues possèdent un réseau de communication qui permet à l'eau et aux nutriments de se répartir dans tous les tissus. Cette porosité permettra au solvant d'y pénétrer pour extraire le soluté (MAZZA, 1998).

Il y a différentes méthodes d'extraction solide-liquide (CISSE, 2010). On parle de:

- **Macération** : Tremper un solide dans un solvant à température ambiante.
- **Percolation** : Écoulement du solvant sur et à travers le solide.
- **Décoction** : Dissolution des solutés dans l'eau bouillante.
- **Infusion** : Bouillir le solvant puis le laisser refroidir pour l'extraction.
- **Élution** : Le solvant entraîne un soluté fixé à la surface d'un solide.

Le procédé d'extraction se subdivise en quatre étapes principales (RAJHA, 2015) :

- ✓ La diffusion du solvant à l'intérieur de la particule via sa structure poreuse.
- ✓ La dissolution des solutés du solide dans le liquide.
- ✓ La diffusion des solutés dissous dans le liquide vers la surface de la particule.
- ✓ Le lavage du solvant situé à la surface du solide vers la solution environnante.

Les extractions solide-liquide sont généralement suivies d'une ou plusieurs étapes de purifications et d'une étape de séchage pour enfin obtenir la poudre de composés phénoliques.

L'extraction solide-liquide des composés phénoliques, dépend de l'effet de plusieurs paramètres opératoires, tel que le temps, la température, le solvant, le ratio liquide solide, l'agitation, la taille des particules.

a) Effet du matériel végétal

Le procédé d'extraction est influencé par la taille et la structure de la matière première. La réduction de taille des particules affecte le transfert interne, en augmentant la surface spécifique et en diminuant la distance de diffusion des solvants et des solutés (POIROT, 2007). Ainsi la réduction de la taille des particules permet des rendements d'extraction élevés.

b) Effet du soluté

La taille du soluté à extraire, sa structure moléculaire, sa localisation cellulaire et tissulaire, son accessibilité, ses liaisons avec les composants structuraux ou avec d'autres composés sont tous des paramètres qui influencent la diffusion. La vitesse de diffusion est inversement proportionnelle à la taille moléculaire. Par exemple, les sucres sont plus rapidement extraits que les phénols qui sont plus rapidement extraits que les pectines (LALOU, 1995).

c) Effet de l'agitation

L'agitation a un effet positif sur la diffusion moléculaire, puisqu'elle maintient les particules en suspension tout en homogénéisant le milieu. Elle réduit également la résistance de transfert des solutés en augmentant ainsi le coefficient de transfert (ZHAO *et al.*, 2011).

d) Effet du ratio liquide solide

Le ratio liquide solide joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques. En effet, le rendement s'améliore avec l'augmentation du ratio liquide solide, puisqu'il agit sur le gradient de concentration entre la matrice végétale et le solvant qui favorise le transfert de matière. Plusieurs études ont montrés l'effet du ratio solide liquide sur l'extraction des polyphenol à partir de macroalgues (RAJAURIA, 2012).

e) Effet du solvant

Il est généralement connu que le rendement de l'extraction dépend du type de solvants, de leurs polarités, du temps et de la température d'extraction, du rapport de l'échantillon au solvant ainsi que de la composition chimique et des caractéristiques physiques des échantillons. La solubilité des composés phénoliques dépend de la nature chimique de l'échantillon végétal, ainsi que de la polarité des solvants utilisés.

Les composés phénoliques sont présents dans les algues sous forme simple et libre (par exemple des acides phénoliques, des anthocyanes) ou des substances hautement polymérisées (par exemple les tanins) en quantités différentes.

De plus, les composés phénoliques peuvent également être associés à d'autres composants végétaux tels que les hydrates de carbone et les protéines. Par conséquent, il n'existe pas de procédure d'extraction universelle appropriée pour l'extraction de tous les composés phénoliques contenus dans l'échantillon. Il est aussi possible que les composés phénoliques

soient extraits avec certaines substances non-phénoliques telles que le sucre, les acides organiques et les graisses. Ainsi, des étapes supplémentaires de purification peuvent être nécessaires pour supprimer ces composants indésirables.

Des solvants, tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, et leurs combinaisons ont été utilisés pour l'extraction de composés phénoliques, souvent avec des proportions d'eau différentes. La sélection du bon solvant affecte la quantité et le taux de polyphénols extraits (DAI et MUMPER, 2010).

f) Effet du couple température-temps

La température agit à la fois sur le solvant et sur le solide. Elle accroît la perméabilité des membranes cellulaires. L'augmentation de la température, diminue la viscosité du solvant et la tension de surface augmentant ainsi la solubilité et la diffusion moléculaire. D'autre part, une dégradation thermique et oxydation des composés phénoliques peut avoir lieu selon la température et la durée de l'extraction. Par exemple, une température de 50°C est définie par certains d'être la limite de dégradation des composés phénoliques (CACACE et al., 2003), alors que pour d'autres, elle s'élève à 60°C (SPIGNO et al., 2007).

II.3.4. Activités biologiques de l'*Ulva lactuca*

Comme évoqué dans les parties précédentes, les algues vertes et en particulier *Ulva lactuca*, sont sources de composés désignés par métabolites secondaires tels que des caroténoïdes, des Chlorophylles, des composés phénoliques, des protéines, des polysaccharides et des acides gras insaturés. Ces molécules ont déjà été signalées comme ayant diverses propriétés incluant l'activité anti-oxydante, antivirale, antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticytotoxique, anti-cancer ou antifongique (TANG et al 2013)

a) Activité anti-oxydante

Les algues contiennent des molécules antioxydantes réactives, telles que l'ascorbate et le glutathion (GSH), ainsi que des métabolites secondaires, notamment les caroténoïdes (α et β -carotène, fucoxanthine, astaxanthine), des acides aminés (mycosporine, glycine) et des catéchines (catéchine, menton épigallociné), gallate, phlorotannins (phloroglucinol), eckol et tocophérol. Les propriétés antioxydantes des extraits d'algues sont généralement évaluées par mesure de l'effet inhibiteur sur le piégeage radicalaire de l'acide thiobarbiturique (TBARS) et du 1, 1-diphényl-2- picrylhydrazyle (DPPH) (GRAHAM et al 2004)

Khairy et El-Sheikh (2015) ont évalué les teneurs en antioxydants de l'*Ulva lactuca Linnaeus*

(Chlorophyta) en utilisant la méthode du DPPH. Cette activité antioxydante a été corrélée à la présence de β -carotène et de composés phénoliques (YAICH et al 2011)

ATHUKORALA et al (2006) ont évalué l'activité antioxydante de l'*Ulva lactuca* collectées sur la côte de Raigad à marée basse. Trois méthodes différentes ont été utilisées : le dosage par DPPH, le pouvoir réducteur et le contenu phénolique total. Les analyses ont montré la présence de flavonoïdes, de composés phénoliques, de saponines, tanins et carbohydrates. Les résultats indiquent qu'*Ulva lactuca* est riche en métabolites secondaires avec un potentiel antioxydant.

Dans le travail de YAICH et al. (2017) (FEDOROV et al 2013) une extraction en milieu acide ainsi qu'une extraction enzymatique ont été testées pour extraire les polysaccharides sulfatés d'*Ulva lactuca*. FARVIN et al. (2019) (CABRY et al 2013) ont comparé les activités antioxydantes de 26 espèces d'algues marines récoltées sur la côte koweïtienne du golfe Arabo-Persique, montrant l'activité anti-oxydante d'*Ulva lactuca*.

b) Activité anti-microbienne

WADA et al (2012) ont montré qu'*U. lactuca* présente des effets allélopathiques négatifs sur les microalgues nuisibles. Deveau et al. (2016) ont montré l'intérêt des extraits méthanoliques d'*Ulva lactuca* contre l'infection à Staphylocoques, en utilisant la méthode de diffusion sur disque gélosé.

c) Activité cytotoxique

CYRUS et al (2015) ont étudié la structure de l'ulvane (les polysaccharides sulfatés hydrosolubles) de l'*Ulva lactuca* en utilisant différentes méthodes spectroscopiques et ont identifié une activité cytotoxique contre certains cancers.

d) Activité antifongique

Plusieurs algues vertes sont connues pour leur activité antifongique. **ALANG et al, (2009)** ont trouvé que les extraits par le n-hexane et par le chloroforme d'*Ulva lactuca linnaeus* collectée d'Inde ont une activité antifongique contre *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Une autre étude faite par **ARUNA et al, (2010)** a évalué les activités antifongiques d'*Ulva lactuca* et *Ulva réticulata* contre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cervisiae* et *Mucor indicus*.

ERTÜRK et TAS (2011) ont étudié l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait

éthanolique de 3 algues vertes récoltées de la côte de Turquie, vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et de *Staphylococcus aureus*. D'autres travaux ont montré l'efficacité de l'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* pour lutter contre *A. Niger*, *P. digitatum* et *R. Solani* (GADENNE *et al* 2013)

III. Le Stress oxydatif

III.1. Définition

L'oxygène est indispensable pour les organismes aérobies qui l'utilisent d'une part comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP et d'autre part dans la fonction cellulaire (différentiation, prolifération) et jouent un rôle dans les réactions inflammatoires et dans la signalisation en tant que second messager (ALLEN, 1991). Ce métabolisme induit la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) qui sont contrôlées par les systèmes antioxydants de la cellule (ROEDE et JONES, 2010).

Le stress oxydatif (ou stress oxydant) est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants (radicaux libres et EOA) et leur élimination (Figure I.8). Ce déséquilibre se produit en faveur des composés pro-oxydants (COLLARD, 2003) et peut avoir diverses origines soit endogènes (les réactions métaboliques générant des radicaux libres tel que la respiration) soit exogènes (l'exposition prolongée aux radiations ionisantes, la pollution, les produits chimiques (pesticides, solvants...etc.), la consommation de tabac et d'alcool et beaucoup d'autres (FINAUD *et al.*, 2006).

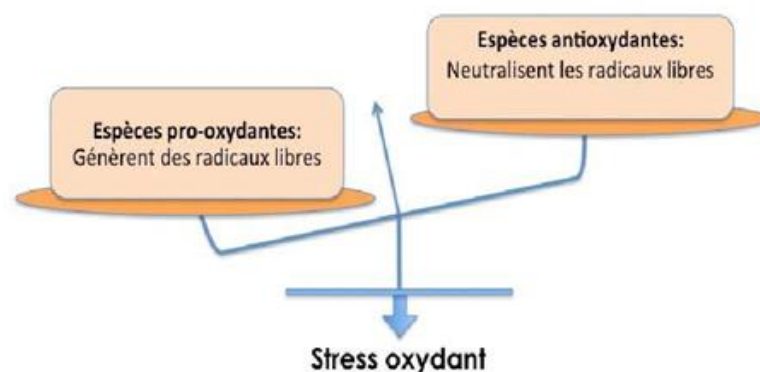


Figure I.8 : Le Stress oxydatif (BARAKA-VIDOT, 2004).

Les produits du stress oxydatif peuvent en effet altérer des cibles biologiques telles que les acides nucléiques (avec un risque de mutation et de cancérisation), les protéines (avec l'altération des récepteurs et des enzymes) et les lipides (avec altérations des membranes cellulaires). (SERGENT *et al.*, 2000).

III.2. Les antioxydants

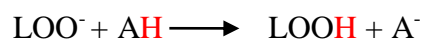
Un antioxydant est défini comme étant une substance qui est capable de ralentir ou d'inhiber, à faible dose, le phénomène d'oxydation d'un produit naturellement oxydable et d'une manière générale on définit par antioxydant toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets suffocants potentiels des processus ou des réactions qui engendrent une oxydation excessive. (PARK *et al.*, 2001).

Les antioxydants agissent comme des capteurs de radicaux libres et peuvent être synthétisés par l'organisme (les enzymes) ou apportés par l'alimentation (vitamines, polyphénols, minéraux...etc.).

III.3. Mécanisme d'action d'un antioxydant

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

- Le piégeage direct des radicaux libres et des EOA par le transfert d'une molécule d'hydrogène.



Ce mécanisme est utilisé par les antioxydants de synthèse (BTH, BTA) et les composés phénoliques végétaux.

- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production des radicaux libres et des EOA. Ce mécanisme est utilisé par EDTA, acide ascorbique (la vitamine C), β -carotène ...etc.

III.4. Utilisations des antioxydants

Les antioxydants sont utilisés dans différents domaines (HENNEBELLE, 2006) :

- L'industrie pharmaceutique.
- L'industrie alimentaire.
- L'industrie de lubrifiants.

- L'industrie des matières plastiques.
- L'industrie cosmétique.

Chapitre II :
MATÉRIELS
&
MÉTHODES

I. Récolte et préparation de l'échantillon

I.1. Zone de Récolte

L'algue verte *Ulva lactuca* est l'une des algues les plus répandues sur les côtes Algériennes. Les thalles d'*U. lactuca* que nous avons utilisés dans notre étude ont été récoltées en pleine période printanière (Fin Mai 2021) au niveau de la ferme aquacole « **Cultures Marines – CULTMARE-** » située à 3.6 km à l'est de la Wilaya de TIPAZA (**Figure II.1**).



Figure II.1 : Localisation géographique de la station CULTMARE.

Le site de récolte est caractérisé par un substrat rocheux et un environnement moyennement battu et calme (**Figure II.2**). Le jour de la récolte, la température de l'eau était de 19°C.



Figure II.2 : Site de récolte des algues (CULTMARE).

Les algues sont prélevées à la main à une profondeur allant de 0,5 à 1 m. Une fois récoltées, les algues ont été transportées dans des sacs en plastique au laboratoire d'algologie de l'ENSSMAL (École Nationale des Sciences de la Mer et Aménagement du Littoral).

I.2. Préparation de l'échantillon

Après l'élimination des débris, des petits crustacés et des autres algues, les thalles ont été lavées avec l'eau de mer puis rincées à l'eau distillée et nettoyées complètement des épiphytes et la matière nécrotique. Les algues ont été identifiées au niveau du laboratoire d'algologie à ENSSMAL.

I.3. Identification microscopique

L'identification de l'espèce au niveau du laboratoire d'algologie à ENSSMAL a été réalisée en utilisant des guides de classification taxonomique se basant sur les caractéristiques morphologique et cellulaires des algues. Ainsi, les algues étaient formées d'une ou plusieurs lames aplaties aux contours légèrement arrondis et aux bords lisses, d'une couleur verte chlorophylle claire et d'un aspect légèrement translucide ,présentant aussi quelques perforations (HAYWARD *et al.*, 1998).

Après l'identification, les algues récoltées ont été séchées sur un papier blanc à une température ambiante pendant quatre semaines à l'abri de la lumière, puis broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et conservées dans des boites en verre jusqu'à leur utilisation (Figure II.4).



(1) Identification.



(02) Séchage



(03) Broyage.



(04) Poudre d'algue.

Figure II.4 : Préparation de l'échantillon.

II. Extraction des composés phénoliques à partir d'*Ulva lactuca*

II.2. Procédé d'extraction des composés phénoliques

Dans notre étude, les composés phénoliques contenus dans *Ulva lactuca* sont extraits par macération. Les étapes de l'extraction sont comme suit :

- Une solution d'extraction composée de 80% d'éthanol et 20% d'eau distillée a été préparée.
- Une quantité de 100 g de la poudre d'algue a été immergée dans la solution préparée pendant 96 h à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Chaque 48h, le mélange a été filtré en utilisant du papier filtre (porosité 0.45 mm) afin de récupérer la partie aqueuse et refaire la même opération d'immersion (**Figure II.7**).
- L'extrait est ensuite recueilli et concentré en éliminant le solvant d'extraction par l'utilisation d'un évaporateur rotatif (**Figure II.8**) pour finalement obtenir l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.
- L'extrait obtenu est conservé à basse température (4°C) jusqu'à l'utilisation.

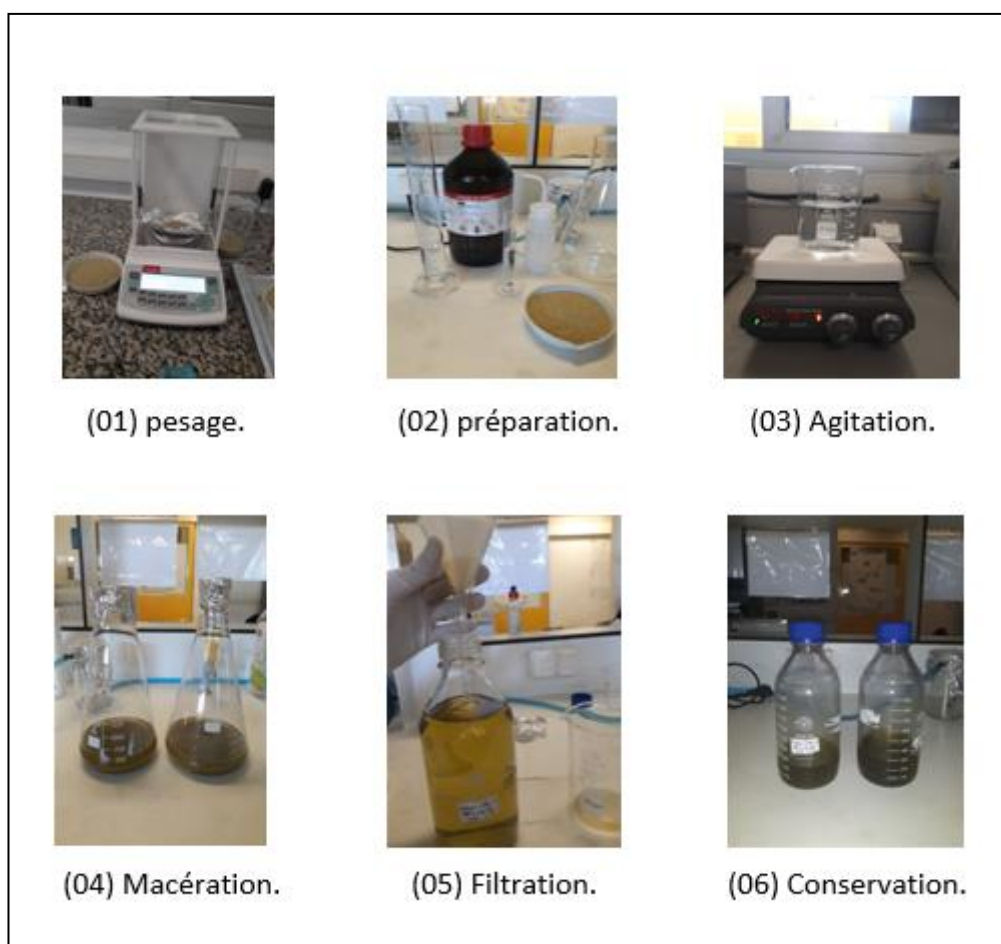


Figure II.7 : Procédé d'extraction des polyphénols à partir d'*Ulva lactuca*.

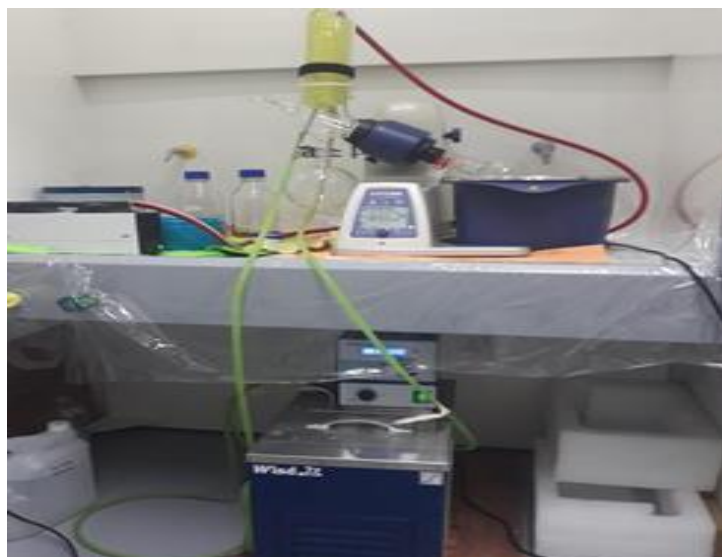


Figure II.8: Évaporateur rotatif.

La Figure II.9 montre les étapes suivies afin d'obtenir l'extrait phénolique.

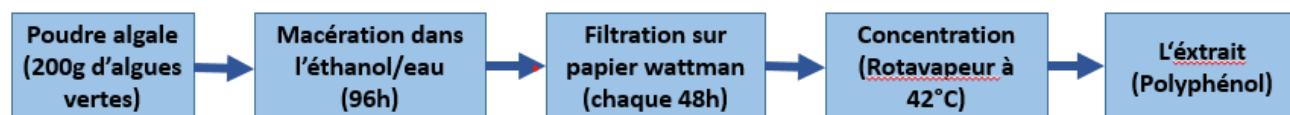


Figure II.9 : les étapes d'extraction des composés phénoliques.

II.3. Évaluation du rendement de l'extraction

L'extraction des composés phénoliques contenus dans *Ulva lactuca* a été effectuée par macération de la poudre d'algue dans une solution composée de 80% éthanol et 20% eau distillée pendant 96h.

La détermination du rendement de l'extraction est réalisée en appliquant la formule suivante (AFNOR, 1986).

$$R(\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100.$$

P1: poids du ballon après évaporation.

P2: poids du ballon avant évaporation (vide).

P3: poids de la matière sèche algale

II.4. Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait obtenu

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* a été réalisée en utilisant la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), développée par (BLOIS 1958).

Le DPPH est un radical libre stable, il fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995) (Figure II.10).

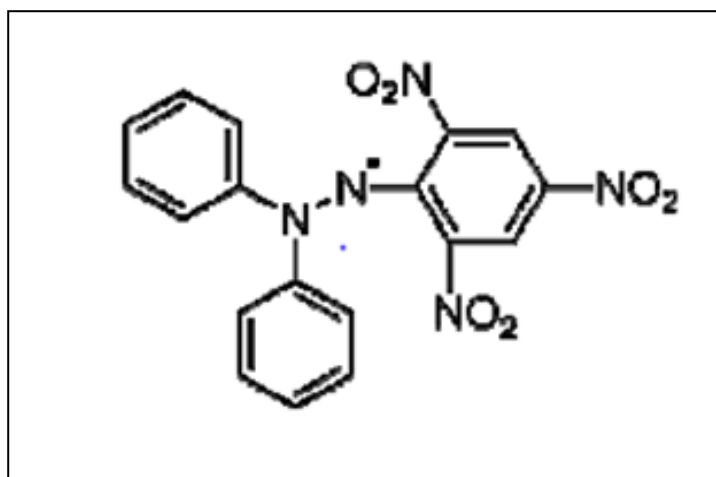


Figure II.10: Structure chimique du 2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle (DPPH).

II.4.1. Principe de la méthode

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir antioxydant de molécules pures ou d'extraits végétaux. Il mesure la capacité d'un antioxydant AH (généralement composés phénoliques) à réduire le DPPH par transfert d'hydrogène, Le DPPH, d'abord violet, devient **DPPH-H**, jaune pâle (Figure II.11).

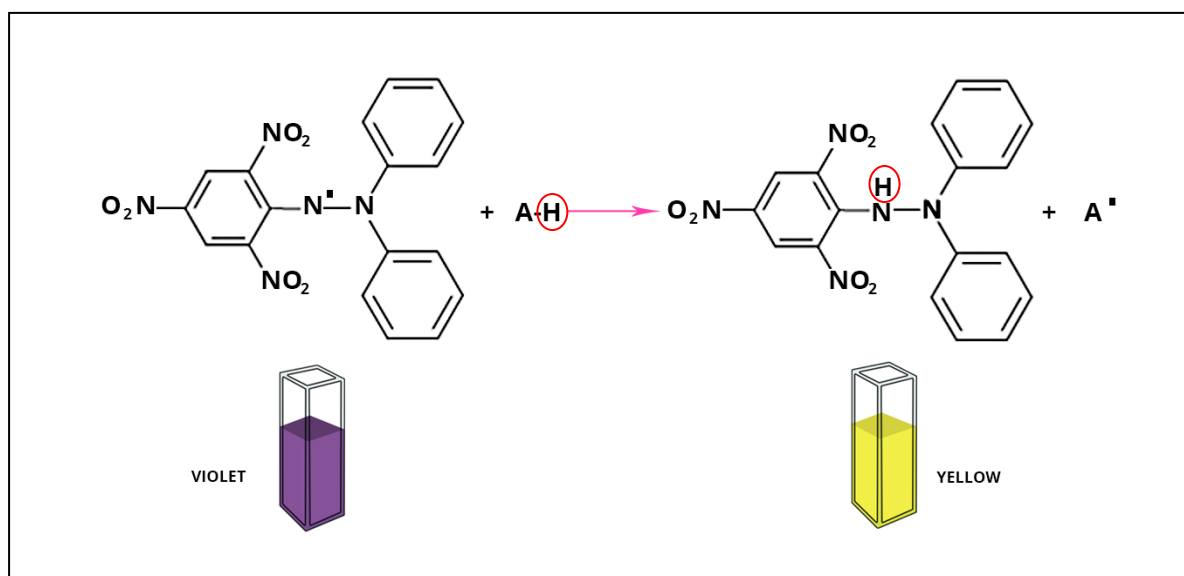


Figure II.11 : Réaction de réduction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

La réduction de DPPH est facilement mesurée par spectrophotométrie à 517 nm (λ_{max} DPPH). La vitesse de réaction dépend de la [nature](#) de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépend de la [concentration](#) de l'antioxydant.

II.4.2. Mode opératoire

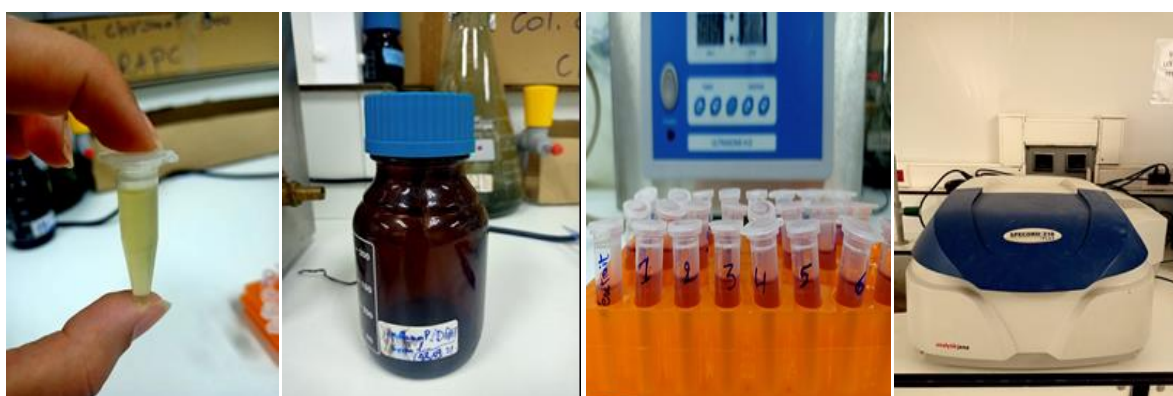
Une quantité de 6 mg d'extrait d'algue a été dissoute dans 1,5 ml d'éthanol. À partir de la solution obtenue, une série de dilutions dans l'éthanol (facteur de dilution $\frac{1}{2}$) a été préparée (**Tableau II.1**).

Pour chaque dilution, 800 μl de la solution de DPPH (6mg/ml dans l'éthanol) fraîchement préparée est ajoutée à 200 μl de la solution d'extrait.

Tableau II.1 : La série de dilutions réalisée pour l'extrait.

Dilutions	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Concentration de la solution en (mg/ml)	4	2	1	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015

Après agitation par vortex, le mélange a été incubé pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm via un spectrophotomètre UV (**Figure II.12**). Le pouvoir antioxydant des extraits a été estimé par comparaison avec un antioxydant naturel : le Butyl Hydroxy Toluène « BHT ».



(1) L'extrait.

(2) DPPH.

(3) Série de dilution. (4) Spectrophotomètre UV visible

Figure II.12 : Le test de l'activité antioxydante.

Dans les mêmes conditions expérimentales, le BHT a été utilisé comme témoin positif, pour pouvoir comparer son activité antioxydante avec notre extrait. La comparaison avec

l'antioxydant naturel se fait par le calcul d'IC50 qui est définie comme la Concentration minimale de l'antioxydant pour la réduction de 50% du radical libre) (Yaici et al., 2019). En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier a été préparé en parallèle en mélangeant 200 µl d'éthanol avec 800 µl d'une solution éthanoïque de DPPH à la même concentration. Tous les tests ont été réalisés avec trois répétitions pour chaque concentration.

Les résultats de tous les tests sont exprimés en moyennes \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de IC50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

II.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait obtenu

Les recherches effectuées sur les extraits d'algues marines ont révélé l'activité antibactérienne de certaines espèces, aussi bien sur des bactéries Gram + ou Gram – (KUMAR ET RENGASAMY, 2008).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis à vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions avec les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (COWAN, 1999).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* est effectuée selon la méthode des aromatogrammes décrite par (BAUER et al. 1966) qui consiste à réaliser des antibiogrammes en boîte petri, contenant des milieux de culture, préalablementensemencés par des bactéries, en présence de disques en cellulose imprégnés par l'extrait d'algue ou avec des puits creusés dans le milieu de culture contenant l'extrait.

II.5.1. Mode opératoire

Les germes qui ont fait l'objet des tests antibactériens font partie des microorganismes rencontrés en pathologie humaine. Il s'agit de *Bacillus subtilis* (Gram+), *Staphylococcus haemolyticus* (Gram+) et *Escherichia coli* (Gram-). Ces germes étaient conservés à -20°C donc le passage par une étape de revivification avant ensemencement était primordial.

a) Revivification des souches bactériennes

Les trois souches que nous avons utilisées dans notre étude étaient conservées à -20°C, nous avons procédé à la revivification par l'ensemencement de ces dernières dans le milieu bouillon Cœur-Cerveille (BHIB = Brain Heart Infusion Broth) puis les incubé dans une étuve à 37°C pendant 24h (Figure II.13).

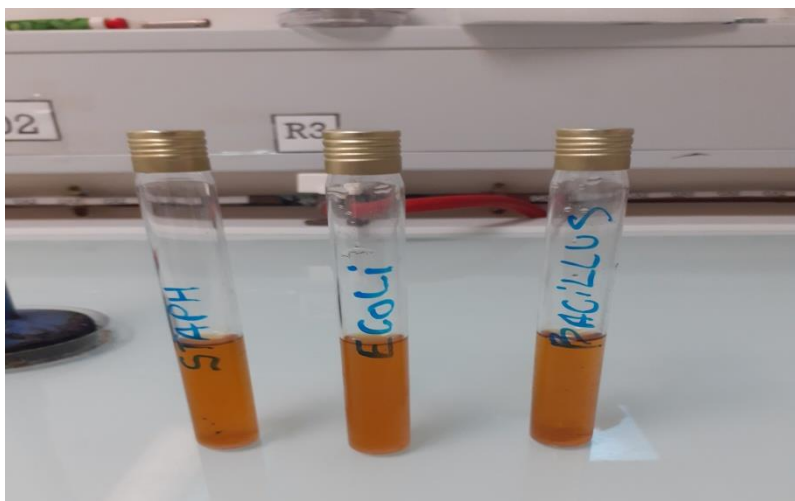


Figure II.13 : Revivification des souches utilisées.

Le développement bactérien dans ces tubes se traduit par un trouble dans le milieu de culture.

b) Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Ulva lactuca*

Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Ulva lactuca* que nous avons obtenu repose sur la diffusion de l'extrait phénolique à la surface du milieu de culture des bactéries appelée la méthode diffusion sur gélose (CELIKTAS et al., 2007). C'est un procédé de base utilisé pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien.

Pour réaliser ce test, nous avons opté pour deux démarches différentes :

- **Antibiogramme avec des puits** : Elle repose sur l'ensemencement des souches dans des boîtes petri qui contiennent un milieu de culture Müller-Hinton sur lequel des puits ont été creusés pour les remplir avec 10 μ l de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* à concentrations croissantes et une solution d'antibiotique (amoxicilline a 100 mg/l) comme témoin (**Figure II.14**).

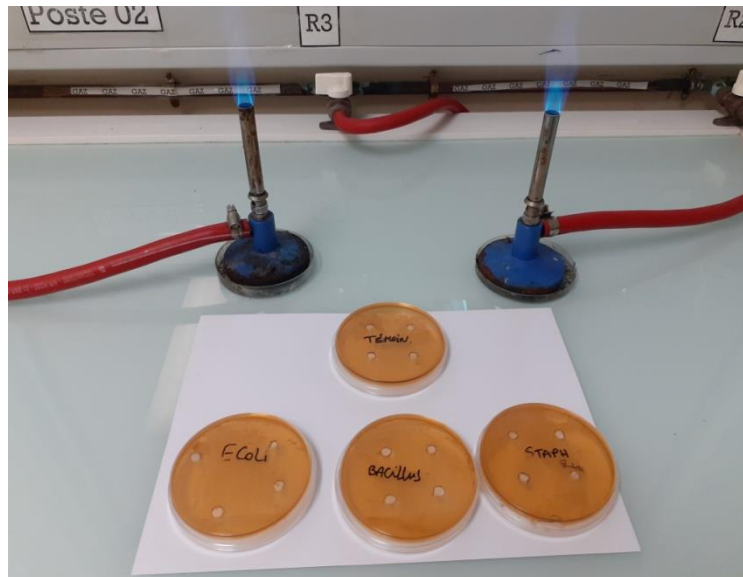


Figure II.14 : Test de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion (Puits).

- **Antibiogramme avec des disques :** Elle consiste à ensemencer uniformément et complètement la surface du milieu de culture Müller – Hinton par les souches à étudier. Puis on dépose des disques de papiers Wattman stériles imprégnés par différentes concentrations de l'extrait d'*Ulva lactuca* (**Figure II.15**). Il est possible de déposer plusieurs disques sur la surface afin d'observer la reproductibilité du test ou pour tester plusieurs concentrations.

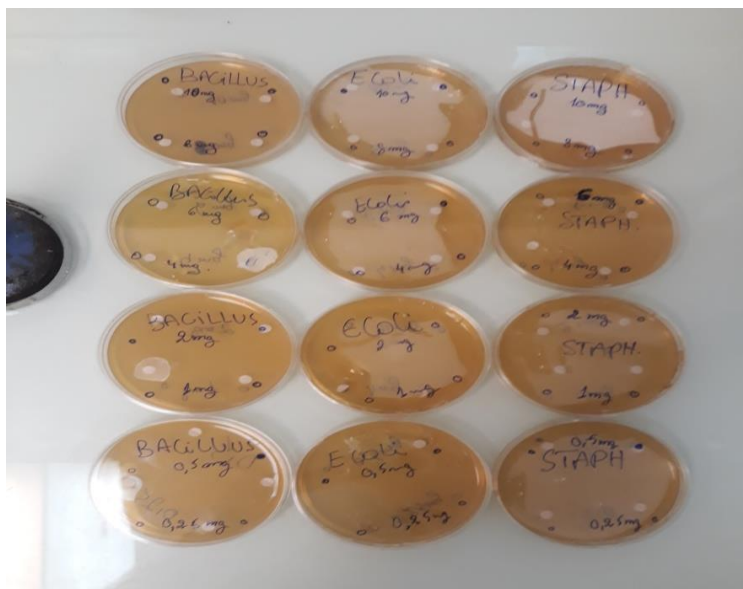


Figure II.15 : Test de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion (Disques). Les disques de papier ont été stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes avant de les imprégnés par 10 µl de l'extrait phénolique.

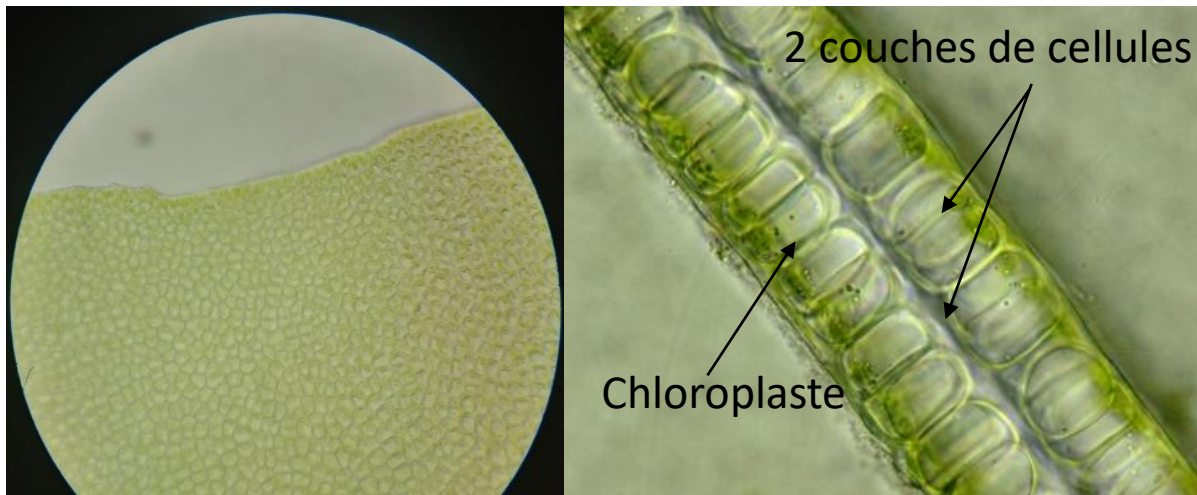
Toutes les boîtes petri qui ont été préparées ont été incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h. Après incubation des boîtes, une action antibactérienne positive de l'extrait phénolique

d'*Ulva lactuca* sur les bactéries testées s'exprime par une zone vierge circulaire autour des disques et des puits.

Chapitre III :
RÉSULTATS
&
DISCUSSIONS

I. Identification microscopique

La coupe transversale d'une algue récoltée observée sous un microscope photonique montre deux couches de cellules toutes arrondies et semblables contenant chacune un gros plaste qui pousse vers les extrémités opposées de chaque cellule adjacente en sens horizontale avec un seul pyrénoïde pour chaque cellule. (**Figure III.1**)



(A) Observation faite au microscope optique (grossissement X10).

(B) Observation d'une coupe transversale d'un thalle d'*Ulva lactuca* (

Figure III.1 : Identification microscopique d'*Ulva lactuca*.

(B)(<https://stricollections.org/portal/collections/individual/index.php?occid=918050>)

II. Calcul du rendement de l'extraction

L'extraction des composés phénoliques contenus dans *Ulva lactuca* a été effectuée par macération de la poudre d'algue dans une solution composée de 80% éthanol et 20% eau distillée pendant 96h.

L'utilisation des plantes ou des algues sous forme de poudre rend l'extraction plus efficace, car l'échantillon devient plus homogène, la surface de contact avec le solvant devient plus grande et la pénétration à l'intérieur des cellules est plus facile (KHODDAMI et al., 2013).

Cette méthode nous a permis d'obtenir un extrait phénolique de couleur verte, un aspect pâteux et collant (**figure III.2**).



Figure III.2 : Extrait phénolique obtenu de l'algue *Ulva lactuca*.

Après le calcul selon la méthode que nous avons appliqué (AFNOR, 1986), le rendement d'extraction des composés phénoliques à partir d'*Ulva lactuca* est $R = 1.47 \%$.

Ce rendement est très faible et peut être dû à plusieurs facteurs. Le rendement des extractions par des solvants organiques dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire. De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique des extraits préparés (TEFIANI, 2015).

III. Évaluation de l'activité antioxydante

De 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.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits d'*Ulva lactuca* est réalisée selon la réduction progressive de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

La réduction du DPPH se manifeste par un changement de coloration du violet vers le jaune, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la lumière sous un appareil de spectrophotométrie UV – Visible.

Pour notre étude, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 517 nm tout en comparant chaque concentration avec l'absorbance d'un témoin contenant le DPPH dissout dans l'éthanol.

Les résultats obtenus sont énumérés dans le **Tableau III.1**.

Tableau III.1 : Absorbance de la solution DPPH en présence de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

Concentration d'extrait (mg/ml)	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Moyenne	Écart type
0,025	0,661	0,656	0,654	0,6570	0,0301
0,05	0,648	0,647	0,614	0,6363	0,0100
0,1	0,624	0,633	0,623	0,6267	0,0020
0,2	0,596	0,556	0,615	0,5890	0,0025
0,4	0,509	0,519	0,529	0,5190	0,0040
0,8	0,443	0,447	0,445	0,4450	0,0058
1	0,361	0,363	0,358	0,3607	0,0025
1,2	0,307	0,315	0,312	0,3113	0,0040
1,4	0,2543	0,2526	0,2435	0,2501	0,0058

À partir des résultats obtenus de l'analyse par spectrophotométrie, nous avons pu tracer une courbe **Absorbance = f (Concentration extrait)** pour étudier l'évolution de la réaction de réduction selon la quantité d'extrait présente dans le milieu réactionnel DPPH + extrait d'algue (**Figure III.4**).

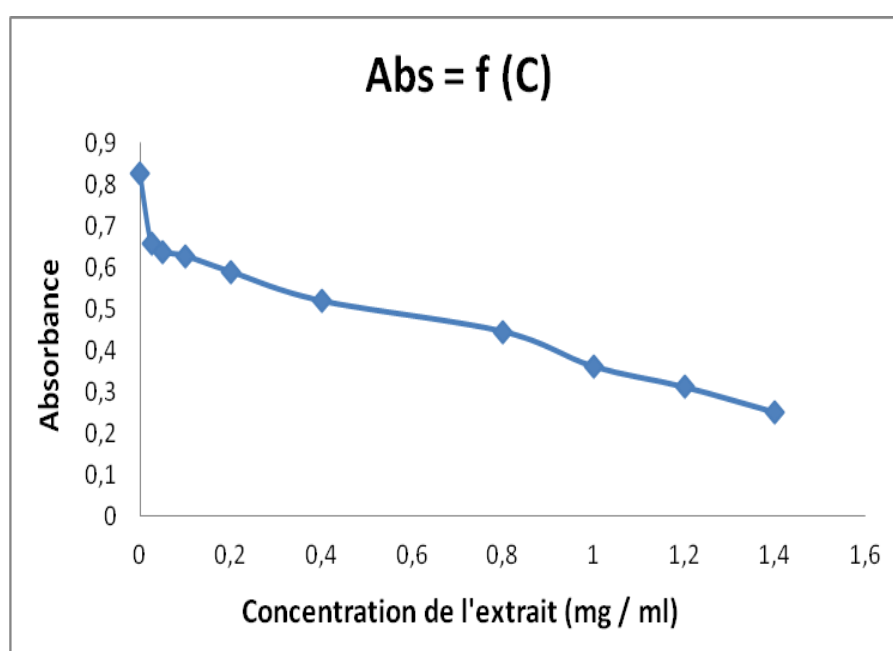


Figure III.4 : Évolution de l'absorbance de la solution du DPPH en présence de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

Nous remarquons que l'absorbance du milieu réactionnel diminue avec la présence de l'extrait phénolique ce qui signifie que la quantité de DPPH diminue progressivement dans le milieu réactionnel avec un virage de couleur du violet vers le jaune pâle. Cela nous pousse à déduire une activité antioxydante positive de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

De nombreuses recherche soutiennent l'hypothèse d'une éventuelle relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques, décrivant ainsi les rapports probables entre la quantité et la structure de l'extrait (position des groupements OH, degré d'hydroxylation du noyau aromatique...etc.) avec l'activité antioxydante (DJERIDANE *et al.*, 2006).

Le rendement de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits obtenus est calculé selon la formule suivante (BELKHEIRI, 2010) :

$$R\% = (\text{Absorbance échantillon} / \text{Absorbance témoin}) * 100$$

Les différents rendements de réduction sont représentés dans le **Tableau III.2**.

Tableau III.2 : Rendement de réduction du DPPH par l'extrait d'*Ulva lactuca*.

Concentration de l'extrait (mg/ml)	Rendement
0,025	22,89%
0,05	25,31%
0,1	26,45%
0,2	30,87%
0,4	39,08%
0,8	47,77%
1	57,67%
1,2	63,46%
1,4	70,64%

Sur la base de ces résultats nous avons tracé les histogrammes ci-dessous (**Figure III.5**).

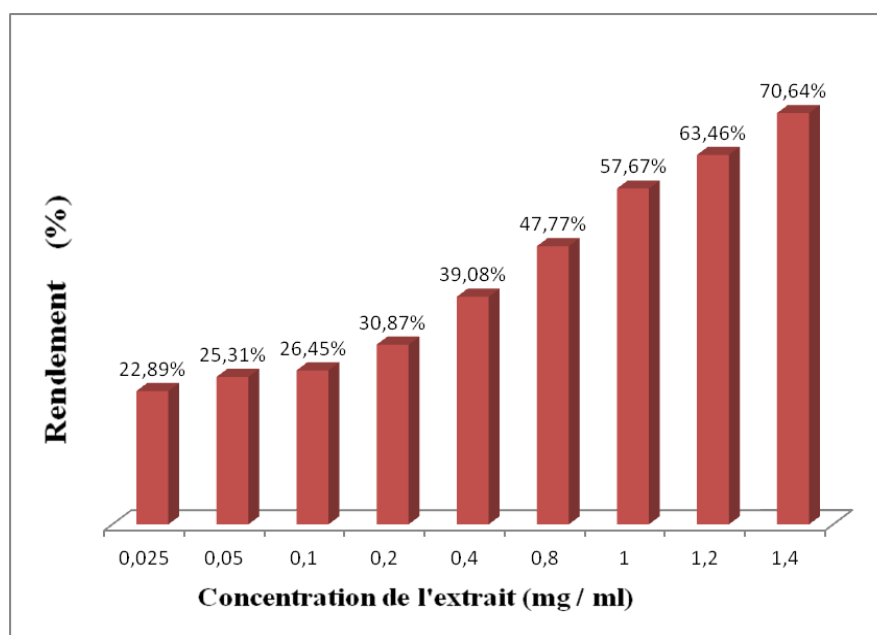


Figure III.5: Rendement de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

Nous avons constaté d'après les résultats obtenus que le rendement de l'activité antioxydante de l'extrait augmente proportionnellement avec la concentration de ce dernier.

Pour mieux étudier l'activité antioxydante de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*, nous avons comparé cette activité à celle du BHT. Cette comparaison se fait par le calcul des valeurs IC50. Plus la valeur IC50 est petite, plus l'activité est grande (**YAIKI et al., 2019**).

Le calcul de l'IC 50 se fait par la méthode de régression linéaire en traçant la courbe **% inhibition = f (concentrations de l'extrait)** illustré dans la **Figure III.6**.

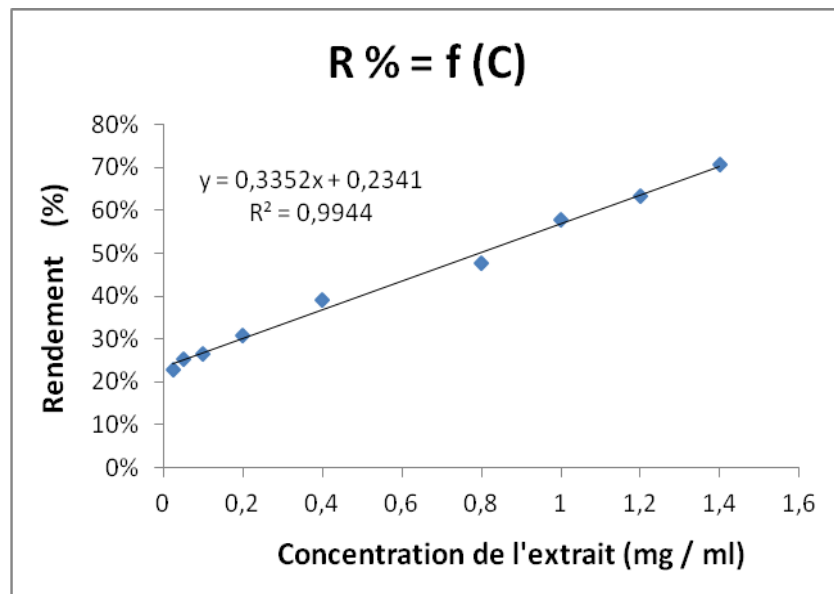


Figure III.6 : Réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

La valeur IC 50 est déterminée graphiquement en mg/ml (ou µg/ml) en utilisant l'équation de droite : $y = 0.3352 x + 0.2341$ (avec $y = 0.5$ ou 50%).

Nous obtenons donc : **IC50 extrait phénolique d'*Ulva lactuca* = 0.793 mg/ml.**

Ce résultat montre une activité antioxydante de l'extrait largement inférieure à celle du BHT (IC50 = 0.077.46 mg/ml), d'où nous pouvons déduire une **activité antioxydante modérée** de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* (KADRI *et al.* 2011).

Il reste à noter néanmoins que le passage par une étape de purification des extraits obtenus aurait peut être amélioré leur activité antioxydante.

IV. Évaluation de l'activité antibactérienne

Pour tester l'action de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* sur certaines bactéries, nous avons opté pour le test antibiogramme en présence d'un antibiotique témoin « amoxicilline ».

Dans notre étude, nous avons testé l'action de l'extrait sur trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus haemolyticus*. Le choix des souches bactériennes utilisées dans ce test microbiologique a été dicté par la disponibilité des bactéries au laboratoire et par l'effet pathogène qu'elles provoquent en cas d'infection, telles que les diarrhées, les vomissements...etc.

Un test positif se traduit par une zone d'inhibition autour du disque ou du puits contenant l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* (CHBANI, 2011). Nous avons utilisé « amoxicilline » à

100 mg/l pour comparer son effet antibactérien avec l'extrait obtenu (Figure III.7).

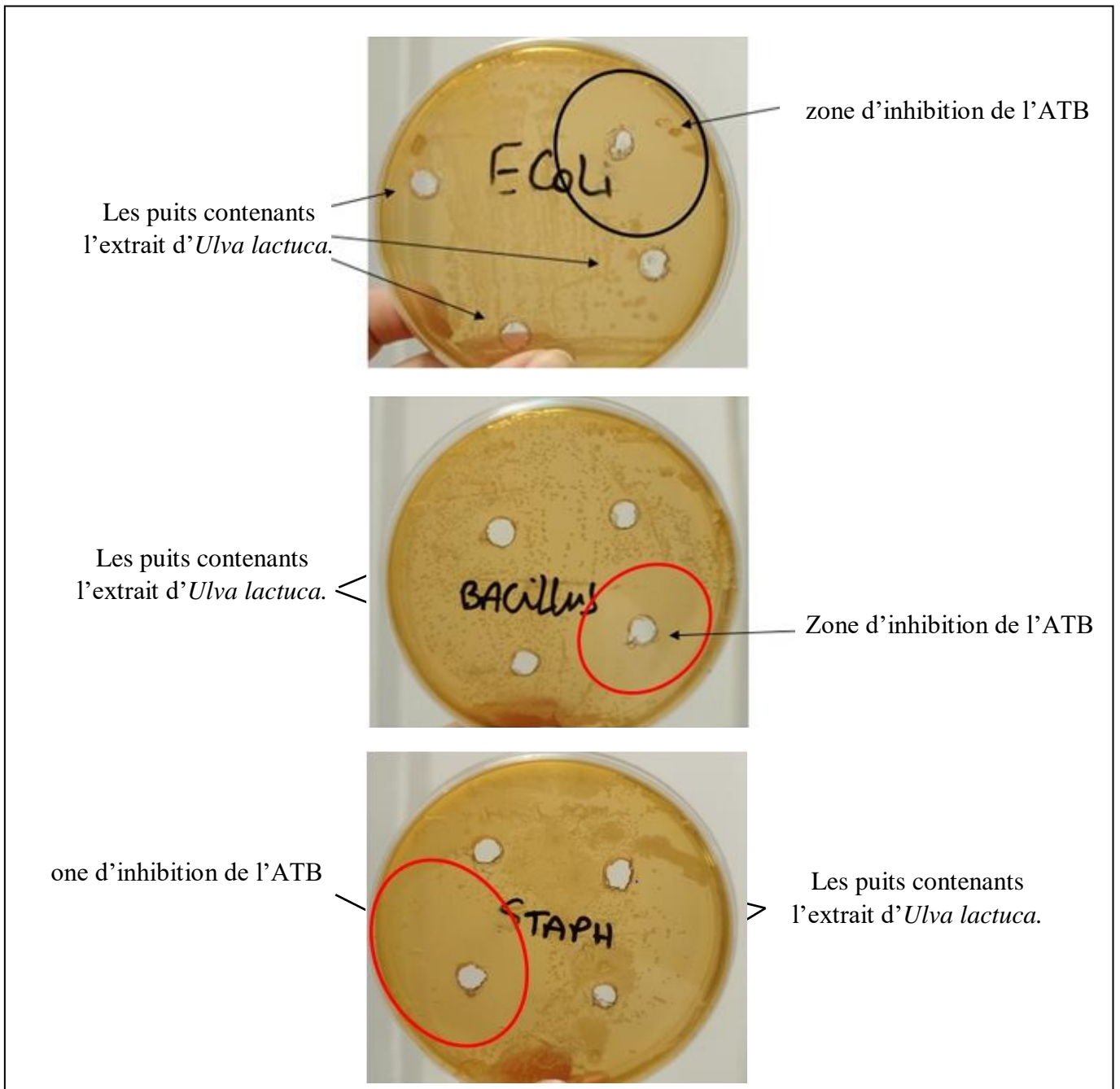


Figure III.7 : Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca*.

Les résultats des tests antibactériens de l'extrait phénolique d'*U. lactuca* montrent que l'extrait obtenu ne présente aucune activité antibactérienne sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus haemolyticus*.

Nos résultats ne sont pas en accord avec beaucoup de travaux de recherche qui mettent le point sur l'activité antibactérienne des extraits phénoliques d'*Ulva lactuca* notamment sur *E.coli* et des bactéries du Genre *Bacillus* (**KARDACHE et KHOUALDI, 2016**). Ceci est peut être dû à la composition de l'extrait obtenu ou à l'utilisation de l'extrait phénolique brut sans passer par une étape de purification.

Une étude phytochimique préliminaire menée par **G. YAKHLEF et al (2011)** sur les effets antimicrobiens des extraits phénoliques des plantes *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis* a démontré que La variation de la composition chimique explique les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques d'une même plante ou de plantes différentes. De plus, une étude menée par **CRISTINA POPOVICI et al (2009)** a démontré qu'il existe une hétérogénéité structurale au sein des composés phénoliques qui se traduit par des propriétés différentes, ce qui pourrait expliquer l'absence d'effets de nos extraits d'algues vertes par rapport aux souches étudiées.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets de certains métabolites secondaires d'algues vertes marines, nous avons donc effectué une extraction des composés phénoliques de l'algue marine *Ulva lactuca*. Notre travail a porté sur une étude de l'activité antioxydante de cet extrait phénolique et sa capacité à réduire les radicaux libres DPPH. Ainsi que l'évaluation de ses propriétés antibactériennes sur trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Bacillus subtilis*.

Notre étude sur l'extraction des molécules d'intérêt médical à partir de l'algue marine *Ulva lactuca* nous a permis d'approfondir nos connaissances scientifiques sur les extraits d'algues riches en molécules actives ce qui contribue au développement de nouveaux composés actifs qui pourront être exploités en alimentation ou dans le secteur de la santé.

La macération de 200 g de poudre d'algues dans une solution éthanoïque de 1000 ml pendant 96h, la filtration du macérât et son passage à l'évaporateur rotatif a permis l'obtention de 2,94 g d'extrait phénolique de couleur vert foncé et à l'aspect pâteux et collant.

L'étude de l'activité antioxydante des composés phénoliques selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré que ces derniers possèdent une activité antioxydante modérée. L'estimation du pouvoir anti-radicalaire selon l'IC50 a permis d'évaluer d'une meilleure façon l'activité antioxydante en comparant l'IC50 de l'extrait phénolique des algues vertes récoltées à celui du butylhydroxytoluène (B.H.T.).

Enfin, l'étude de l'activité antimicrobienne sur les trois souches testées par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide et d'un puits creusé dans le milieu de culture a révélé des résultats négatifs, L'extrait n'a donc montré aucune activité antibactérienne sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Bacillus subtilis*.

Nous concluons de cette étude que l'extrait phénolique de l'algue marine *Ulva lactuca* possède une certaine activité antioxydante sur le DPPH et aucune activité antibactérienne sur les trois souches : *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Bacillus subtilis*.

Perspectives

- Des études plus poussées seraient à mener pour élargir ces observations sur les tests d'activité antioxydante aussi bien que ceux d'activité biologique : antimicrobiennes, anti-inflammatoire et antivirale, afin de caractériser les composés actifs dans les différents extraits testés de cette algue en vue d'identifier les molécules responsables de ces activités, tout en assurant des extraits plus purs pour des conditions d'étude optimales.
- Aussi il serait intéressant de pouvoir user des tests d'identification phytochimique ou de procédés d'identification des molécules par HPLC pour justement pouvoir déduire la pureté ainsi que les types de structures chimiques caractérisant les composés visés dans l'étude entreprise.

LES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARUNACHALAM P., UTHANDAKALAI R., ET al., 2014. Evaluation of antibacterial activity of some selected green seaweeds extracts from Muttam coastal areas, Kanyakumari, Tamil Nadu, India. 2 suppl. 2: 112-115.

AGARWAL A., SRA, BEDAIWY M.A., 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and sterility* 79:829-843.

AFNOR, 1986. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.

ATHUKORALA Y, KIM K-N, et al.,2006. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food Chem Toxicol.*44(7):1065-74.

AGUILAR-BRISEÑO J, CRUZ-SUAREZ L et al. , 2015 Sulphated Polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* Seaweeds both Inhibit Viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. *Mar Drugs.* 697-712.

BERRI M, SLUGOCKI C., et al.,2016 Marine-sulfated polysaccharides extract of *Ulva armoricana* green algae exhibits an antimicrobial activity and stimulates cytokine expression by intestinal epithelial cells. *J Appl Phycol* [Internet]. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10811-016-0822-7>.

BERRI M, SLUGOCKI C, ET AL.,2015. L'activité antibactérienne et immunomodulatrice d'un extrait d'algue verte riche en polysaccharides sulfatés. In: 47 Journées de la recherche porcine [Internet]. IFIP-Institut du Porc; Disponible sur: http://www.olmix.com/sites/default/files/microsoft_powerpoint_-_posterjrp2015_mg-mb.pdf.

BELKHEIRI N., BOUGUERNE B., ET al., 2010. Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic hydrazones family; *European Journal of Medicinal Chemistry* , Volume 45 - Issue 7, Pages 3019-3026; July.

BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 3e édition revue, Paris.

BRAVO L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Research* 56:pp317–33.

BOTANY., 2001. *Algae: Native Ulva lactuca* C Agardh 1823 : University of Hawaii at Manoa.

BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.-E. BERSSET C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28: 25-30.

BLOIS M.S., 1958.Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181, 1199-1200. <http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0>

CELIK TAS YESIL O., HAMES KOCABAS E.E., et al.,2007.Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100, 553-559. doi:10.1016/j.foodchem.2005.10.011.

COLLIN S., ET CROUZET J., 2011. Polyphénols et procédés. *TEC&DOC-Lavoisier*.

CISSE M., 2010. Couplage de procédés membranaires pour la production d'extraits anthocyaniques : application à l'*Hibiscus sabdariffa*. *Thèse de doctorat*, Montpellier Supagro, France.

CACACE J., MAZZA G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *J. Food Eng.*, (59): 379–389.

COLLARD J., 2003. Définition du stress oxydatif. Laboratoire Synlab, Belgique.

CHBANI A., MAWLAWI H.,ETAHIRI S. 2011. ,Activité antibactérienne des extraits d'une algue brune *Padina pavonica* de la côte méditerranéenne au Liban ; *JO Phytothérapie* Volume9 .

CABRY-GOUBET R.,2013. TROUBLES DE LA FERTILITE ET ENVIRONNEMENT - Les perturbateurs endocriniens = Xénoestrogènes.

CYRUS MD, BOLTON JJ, et al ., 2015. The advantages of *Ulva* (Chlorophyta) as an additive in sea urchin formulated feeds: effects on palatability, consumption and digestibility. *Aquac Nutr.*; 21(5):578-91.

DJERIDANE A., YOUSFI M., et al ., 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds; *Food Chemistry* Volume 97 - Issue 4, P 654 – 660.

DAI J., ET MUMPER R.J., 2010. Plant Phenolic: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molécules* .,15: pp7313-7352.

De reviers B., 2002. Biologie et phylogénie des algues. Edition Bellin. Paris (France). 418p.

FLOC'H J., Y. LV., 2010. Les secrets des algues. : 168.

FINAUD J., LAC G ET al., 2006.Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*36, 327-358.

FRIEDMAN M., JURGENS H.S., 2000. Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (6): 2101-2110.

FALLER H. 2011. Les applications et la toxicité des algues marines : 132.

FEDOROV S, ERMAKOVA S, et al .,2013. Anticancer and Cancer Preventive Properties of Marine Polysaccharides: Some Results and Prospects. *Mar Drugs*. 11 (12):4876-901.

GRAHAM DJ, STAFFA JA, et al., 2004. Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *Jama*;292(21):2585-90.

GADENNE V, LEBRUN L, ET AL ., 2013. Antiadhesive activity of ulvan polysaccharides covalently immobilized onto titanium surface. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 112:229-36.

GAYROL P. 1975. Les algues morphologie cytologie reproduction écologie. Edition: Doin.Paris, 166p.

GUPTA S.,ET ABUGHANNAM N., 2011. Bioactive pottentiel and possible health effect of edible brown seaweeds. *Tends in Food Science Technology*. 22, 31-326.

GARON-LARDIERE S., 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.

GERALDINE D., CELINE L., 2009. Les algues, le trésor de la mer, Haute école de santé Genève.

GORDON, M. H., 1996. Dietary antioxidants in disease prevention. *Natural Product Reports*. 13(4): 265-273.

GUIRY G. M. (S. D.), 2012. Algae base: Listing the World's Algae. Algae base: Listing the World's Algae. <http://www.algaebase.org>.

GUERRERO S., CJ., 2012. Integrated Multi-trophic Aquaculture (IMTA): A sustainable, pioneering alternative for marine cultures in Galicia. : Regional Government of Galicia (Spain).

HWANG H., CHEN T., et al., 2006. Photochemoprevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols. *Cancer*, 119: 2742-2749.

HAMED I, OF, OZOGUL Y., et al . 2014. Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14:446-465.

HAMON F., NICOLEAU C., et al.,2008. *in: DORIS, : Ulva lactuca L.*,<http://doris.ffessm.fr/réf/specie/808>.

HENNEBELLE T., SAHPAZ S., et al ., 2006. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *De La Recherche A La Pratique* 2, 3–6 .[.https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8](https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8) .

İRKIN C., L EH., 2014. Chemical composition of *Ulva rigida* C. Agardh from the Çanakkale Strait (Dardanelles), Turkey. *J Black Sea/Mediterranean Environment* 20:114-12.

IVANOVA V., SM, PETROVA D., 2013. Fatty acid composition of black sea *ulva rigida* and *cystoseira crinita*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19:42– 47.

ILKNUR AK., CENK O` Z., et al ., 2015. Effect of sodium acetate and sodium nitrate on biochemical composition of green algae *Ulva rigida*. *Aquaculture International* 23:1–11.

KARDACHE A., KHOUALDI Y., 2016. Étude des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique d'extraits d'algues marines d'origine Algérienne. Mémoire fin d'étude de master Microbiologie. Constantine, Université des Frères Mentouri, 47.

KHODDAMI A., WILKES M.A., et al . 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules* , 18, 2328-2375.

KADRI A., ZARAI A., et al ., 2011. et al. Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *Afr J Biotechnol* 10: 3908–14.

KUMAR A K ., RENGASAMY R.,2008. Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. *Bot. Mar.* 43, 409 - 415.

LAMI R., ORIGNAC J.,2008. Fiche de *Ulva rigida*. : Université virtuelle environnement et développement durable.

LATTANZIO V., QUIDEAU S., 2014. Recent Advances in Polyphenol Research, *John Wiley & Sons*.

LALOU A., 1995. Mise au point d'un procédé d'extraction des hémicelluloses à partir d'un substrat végétal ligno-cellulosique: application au cas des coques de tournesol.

LEIRO JM, CASTRO R, et al 2007. Immunomodulating activities of acidic sulphated polysaccharides obtained from the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. *Int Immunopharmacol.* 879-88.

MÉRIGOUT P., 2006. Étude du métabolisme de la plante en réponse à l'apport de différents fertilisants et adjuvants culturaux. Influence des phytohormones sur le métabolisme azoté. Thèse de doctorat. Université AgroParisTech, Paris, 110 p.

MAZZA G., 1998. Functional foods: biochemical and processing aspects, *CRC Press*.

MANNEVILLE O., 2009. Les lichens et algues de nos côtes, surtout rocheuse. LECA-SAJF-UJF Grenoble. Complément à la conférence de Gentiana.

MEDITERRANEO AM., 2015. *Ulva lactuca*.

NACZK M., SHAHIDI F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 41(5): 1523-1542.

NIL S., 2011. Variation saisonnières du rendement et des propriétés physicochimiques de l'agar de la rhodophycée *Gelidium sesquipedale* de la cote de Mostaganem. Activité antibactérienne et antifongique de l'extrait algal. Thèse de magister. Université d'Oran. 96p.

POZDERKA V. BELLINGER E. et al . 2015. FRESHWATER algae: identification, enumeration and use as bio indicators." *Acta Botanica Hungarica*, vol. 57, no. 3-4, Sept. 2015, pp. 443.

POIROT R., 2007. Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale. *Thèse de doctorat*, L'institut national polytechnique de Toulouse, France.

PARK P. J., JUNG W. K., NAM K.S., et al ., 2001. PURIFICATION and characterization of ant oxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*, 78 (6), 651-656. Reactive species and mitochondrial dysfunction: Mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and Molecular Mutagenesis*.

PUSHPARAJ R., RAUBBIN S., et al ., 2014. "An Antibacterial activity of the Green Seaweed *Caulerpha Sertularioides* using Five Different Solvents", *Int.J.PharmTech Res.*, pp 01-05.

POPOVICI C ., SAYKOVA I ., et al ., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par réactivité avec le radical libre DPPH .4,25-39.

PEROSA A., BORDIGNON G., et al ., 2015. Algae as a Potential Source of Food and Energy in Developing Countries. *Scienza et società*.

RAJAURIA G., JAISWAL A.K., et al ., 2012. Antimicrobial, Antioxidant and Free Radical-Scavenging Capacity of Brown Sea weed *Himanthalia Elongata* from Western Coast of Ireland. *Journal of Food Biochemistry*. (37): 322–335.

ROBBINS R. J., 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(10): 2866-2887.

ROUXEL C., BE, DANIELI A., et al., 2001. Identification by SDS PAGE of green seaweeds (*Ulva* and *Enteromorpha*) used in the food industry. *Journal of Applied Phycology* 13:215–219.

RICO-EVANTS C.A., MILLER N.J., et al ., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4): 375-383.

RICO M., LOPEZ A., et al ., 2012, Phenolic profile of crude extract derived from a red alga, *Corallina elongata* Ellis and Solander. In: Krueger D. & Meyer H. ed. *Algae: ecology economic uses and environmental impact*. Nova Science Publishers, New York, 135-144.

RIADI, H., 1998. Biodiversité des algues et phytoplancton marin du Maroc. Rapport biodiversité au Maroc. Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE). Ministère de l'environnement du Maroc.

ROEDE J.R ., JONES D.P., 2010. Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and Molecular Mutagenesis*.

RAJHA H-N., 2015. Stephanie Chacar, Charbel Afif, Eugene Vorobiev, Nicolas Louka, and Richard G. Maroun. β -Cyclodextrin-Assisted Extraction of Polyphenols from Vine Shoot Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (13), 3387-3393.

SPLINGART D., 2013. Le règne végétal, [csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les algues](http://csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les%20algues) Niveau 1. Perosa A., Bordignon G., Ravagnan G., et Zinoviev S., 2015. Algae as a Potential Source of Food and Energy in Developing Countries. *Scienza et società*.

SPIGNO G., TRAMELLI L., et al., 2007. Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics. *Journal of Food Engineering*. (81): 200- 208.

SIRBU R. SC., GHERGIC D. L., et al ., 2006. CARACTERISATION DE CERTAINS PRINCIPES ACTIFS DE *ULVA LACTUCA* ET *ULVA RIGIDA* –ALGUES VERTES DU LITTORAL ROUMAIN DE LA MERE NOIRE. Scientific study and research 2.

SATPATI G. PR., 2011. Biochemical composition and lipid characterization of marine green alga *Ulva rigida*- a nutritional approach. *Journal of Algal Biomass* 2:10-13.

SALGEIRA-GONZÁLEZ N ., TURNES-CAROU I., et al ., 2012. Fast and selective pressurized liquid extraction with simultaneous in cell clean up for the analysis of alkylphenols and bisphenol A in bivalve molluscs. *Journal of Chromatography A*. 1270, 80-87.

TEFIANI C., RIAZI A., et al., 2015. *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria essential oils: chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities, *Journal of Essential Oil Research*, 27:2, 131-139; .

TSAO R., 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2: 1231-1246.

TANG Z, GAO H, et al ., 2013. Hypolipidemic and antioxidant properties of a polysaccharide fraction from *Enteromorpha prolifera*. *Int J Biol Macromol*. 58:186-9.

TABOADA C., MAR, M'IGUEZ I., 2009. Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae *Ulva lactuca*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90:445–449.

TIRIGUI M. GL, ZOUARI I., TOUNSI S., 2013. Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of anti-acetylcholinesterase potential. *Journal of Apply Phycology* 25:319–328.

WICHARD T., 2015. Algal of the year 2015: The Sea Lettuce *Ulva* only gets into shape with the right bacteria. Website of the Phycology Section of the German Botanical Society.

WATANABE F., TS, KATSURA H., et al . 1999. Dried green and purple lavers (Nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B (12) but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:2341–2343.

WOLLGAST J., ANKLAM E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Inter.*, (33): 423-447.

WADA K, NAKAMURA K, et al ., 2012. Seaweed intake and urinary sex hormone levels in preschool Japanese children. *Cancer Causes Control.* 23 (2):239-44.

YAICH H., GARNA H., et al ., 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.*128, 895-901.

YAICI K ., DAHAMNA S ., et al ., 2019. Evaluation of the Content of Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Erica arborea* L.(Ericaceae) in Traditional Medicine of Setifian Tell in the East Algerian; *JO Pytothérapie*.

YA FANG S., SANG MIN K., et al .,2011. Pressurized liquid methode for fucoxanthin extraction from *Eusenis bicyclis* (Kjellman) Setchell. *Journal of bioscience and bioengineering.* 111 suppl 2 : 237-241.

YAKHLEF G., LAROUI S., et al .,2011. *Phytothérapie* 9 (4), 209-218.

ZHAO J., MA M., WANG S., et al 2011. Bromophenols coupled with derivatives of amino acids and nucleosides from the red alga *Rhodomela confervoides*. *J. Nat. Prod.*, (68): 691–694.

ZITOUNI H., 2015. Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 196p.

Abstract

Currently, much research is devoted to the isolation of new bioactive compounds from marine resources that contain promising health benefits. Among marine resources, the bioactive compounds present in many species of algae have particularly interesting nutritional and pharmaceutical properties.

This thesis examines the beneficial effects of the green algae *Ulva lactuca*. It relates more particularly to the activities of phenolic extracts.

Evaluation of antioxidant properties revealed that these extracts are active by the DPPH scavenging method. Thus presenting a moderate antioxidant activity.

The study of the antibacterial activity on three bacterial strains (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus haemolyticus*) by the agar diffusion method shows that the phenolic extract of *Ulva lactuca* has no antibacterial effect on the three strains tested. , this may be due to the composition of the extract obtained or to the use of the crude phenolic extract without going through a purification step.

Keywords: Green algae; *Ulva lactuca*; Antioxidant activity; Antibacterial activity; Polyphenols; DPPH.

ملخص

حاليًا ، يتم تخصيص الكثير من الأبحاث لعزل مركبات نشطة بيولوجيًا جديدة من الموارد البحرية التي تحتوي على فوائد صحية واعدة. من بينها المركبات الموجودة في العديد من أنواع الطحالب البحرية التي تتمتع بخصائص غذائية وصيدلانية مثيرة للاهتمام.

تناول هذه الرسالة الآثار المفيدة للطحالب الخضراء *Ulva lactuca* ، بشكل خاص بأنشطة المستخلصات الفينولية.

أظهر تقييم خصائص مضادة الأكسدة بطريقة كسح DPPH أن هذه المستخلصات تمتلك نشاط مضاد للأكسدة معتدل. أظهرت دراسة الفعالية ضد البكتيريا لهذه المستخلصات على ثلاث سلالات بكتيرية *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus haemolyticus* أن المستخلص الفينولي من *Ulva lactuca* ليس له تأثير مضاد للجراثيم على السلالات الثلاثة المختبرة وهذا راجع إما للمكونات الكيميائية للمستخلص الذي تم الحصول عليه أو لاستخدام المستخلص الفينولي الخام دون المرور بخطوة تنقية.

الكلمات الرئيسية: الطحالب الخضراء ؛ *Ulva lactuca* ، النشاط المضاد للأكسدة ؛ نشاط مضاد للجراثيم ؛ بوليفينول ، DPPH .

Résumé

Actuellement, plusieurs recherches sont consacrées à l'isolement de nouveaux composés bioactifs à partir des ressources marines qui renferment des effets bénéfiques prometteurs pour la santé. Parmi les ressources marines, les composés bioactifs présents dans de nombreuses espèces d'algues ont des propriétés nutritionnelles et pharmaceutiques particulièrement intéressantes.

Cette thèse s'intéresse aux effets bénéfiques de l'algue verte *Ulva lactuca*. Elle concerne plus particulièrement les activités des extraits phénoliques.

L'évaluation des propriétés anti-oxydantes a révélé que ces extraits sont actifs selon la méthode de piégeage du DPPH. Présentant ainsi une activité anti-oxydante modérée.

L'étude de l'activité antibactérienne sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus haemolyticus*) par la méthode de diffusion sur gélose montre que l'extrait phénolique d'*Ulva lactuca* n'a aucun effet antibactérien sur les trois souches testées, ceci est peut être dû à la composition de l'extrait obtenu ou à l'utilisation de l'extrait phénolique brut sans passer par une étape de purification.

Mots clés : Algue verte ; *Ulva lactuca* ; Activité anti-oxydante ; Activité antibactérienne ; Polyphénols ; DPPH.