

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES
UNIVERSITAIRES APPLIQUEES (D.E.U.A) EN SCIENCES DE LA MER

Sujet :

*Apport pharmaceutique des algues marines en
antioxydants naturels*

Préparé par :

BOUKOFTANE MOHAMED YACINE

Examiné par :

M^{me} : BENTCHIKOU L.

Mr : DRICHE M.

Promotrice
Examineur

Session : S/ 2010

Remerciements

Au nom de Dieu le tous miséricordieux le très miséricordieux

Au terme de ce travail

Tout d'abord, nous remercions le Bon Dieu tout puissant de nous avoir donné de la force et courage pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à madame BENTCHIKOU pour m'avoir encadré durant ce travail de la meilleure manière qui soit et d'avoir favorisé, par son aide son dynamisme sa compétence et sagesse, un terrain de travail agréable et encourageant.

Nous tenons également à remercier monsieur HAMMOUCHE Président Directeur Général de SAIDAL MEDEA pour avoir accepté de nous accueillir au sein de son entreprise.

Nos vifs remerciements vont au chef de service HPLC monsieur Smain BENAOUA pour son aide et ses encouragements soutenus et ses conseils précieux et fortement appréciés.

Nous voulons encore remercier monsieur BELKACEMI ABED pour son bon accueil et aide et ses conseils aussi pour sa patience avec nous durant ce travail.

Bien sur un grand remerciement pour monsieur MOUSTAFA BENAISSA de service formation de SAIDAL MEDEA pour sa sympathie et son aide.

N'oublions pas mon ami et l'ami de mon père monsieur Mohamed FEHIS responsable de centre d'information et de documentions Antibiotical pour son aide depuis mon enfance.

Nous ne pouvons oublier de citer nos valeureux enseignants, plus particulièrement monsieur REDOUAN BOUKORT et monsieur BELHASENAT et monsieur DRICHE pour avoir accepté de juger ce travail.

Une présence particulière va à monsieur MOUSTAFA et GHANOU et DEKIK SIDAALI ainsi que tous les agents de sécurité de L'ENSSMAL

Nous remercions également Melle ABDELAZIZ WIDAD et tous les gents de l'université MENTOURI de Constantine.

Notre gratitude va à messieurs : CHERIF, et l'ensemble des travailleurs de la bibliothèque d'ENSSMAL, pour leur aide, en mettant à notre disposition la documentation.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à mon ami KHALIL BENAIDJA et mon cousin FETHI et tous mes voisins : BENZEMOURI, BOUGHOUA, MESAUDAN, BOUCHOUCHA pour leurs diverses aides.

Nous ne remercions toute personne qui, de près ou de loin, a contribué à la réalisation de ce travail.

Nous vous disons encore une fois, MERCI

M.Y. BOUKOFTANE

DEDICACES

Je dédie ce mémoire de fin d'études à ma très chère mère et mon très chère père qui m'ont comblée d'amour et de tous sacrifices qu'ils ont consentis, pour leur encouragements et pour toujours rependu présents quand j'avais besoin d'eux

A mes deux sœurs et leurs maries

Abla et Fouad

Rekia et Abdelkader

A toute la famille grande et petite qu'ils soient et en particulier à mon oncle (HOUSSIN) et ma tante (HOUDA)

A tous mes amis d'étude et mes amis de quartier

A toute la promotion 2009/2010

A la famille ABD EL AZIZ

A tous ceux qui portant le nom de famille BOUKOFTANE

MOHAMED YACINE

Sommaire

Table des illustrations.

Introduction bibliographique.

- Chapitre I : Généralités sur les algues vertes

1- Elément de classification des macros algues marines	2
2- Classification des chlorophycées.....	3
3- Richesse des algues vertes en chlorophylles, carotènes et xanthophylles	5
3-1. D'autres richesses d'algues vertes.	
3-1-1. polysaccharides de réserves (amidon)	7
3-1-2. polysaccharides de parois.....	7
3-1-3. polysaccharides fibrillaires du squelette des parois.....	7
3-1-4. polysaccharides matriciels.....	8
3-2. Lipides membranaires –acides gras et stérols.....	8
3-3. Terpènes :	
3-3-1. des métabolites secondaires des chlorophycées.....	10
3-3-2. meroterpènes des Dasycladales.....	10
3-4. Dérives aromatiques.....	10
3-5. Acides aminés, aminés, bêtaines	11
3-6. peptides et dis peptides :Kahalalides.....	11
3-7. autres dérivés azotés.....	11
3-8. dérivés soufrés.....	12

Chapitres II : Usages des macros algues

4-1. Usage en alimentation humaines	14
4-2. Usage industriel.....	14
4-3. Usage en cosmétologie.....	15
4-4. Usage agricole.....	15
4-5. Usage en médecine et pharmacie.....	16
5. Les tocophérols ou vitamine E.....	17
6. L'acides ascorbique ou vitamine C.....	17

-Chapitre III : Les caroténoïdes et leurs différents rôles

III.1. Généralités.....	20
III.2 .Classification des caroténoïdes	
2-1. les carotènes.....	20
2-2. les xanthophylles	20
III.3. Classification des caroténoïdes alimentaires.....	21
III.4. structure des caroténoïdes.....	22
4.1. Les caroténoïdes hydrocarburés	22
4.2. Les caroténoïdes oxygénés.....	22
III.5. Biosynthèses des caroténoïdes.....	23
III.6. rôles et utilisation des caroténoïdes.....	23
6.1. Rôle des caroténoïdes.....	23
6.1.1. Fonction biologique (rôle nutritionnel).....	23
6.1.2. Fonction photosynthétique	24
a. photo protection.....	24

b. photo réception.....	24
c. photo transmission.....	24
6.2.2. Les caroténoïdes usuels :	
a. α -carotène.....	25
b. β -carotène.....	25
c. γ -carotène et δ -carotène.....	25
d. carotène officinal.....	25
e. β -Apo-caroténal.....	25
f. xanthophylles.....	26
7. préparations des caroténoïdes commerciaux :	
7.1. Utilisations des préparations caroténoïdes hydrosolubles en industrie alimentaire.....	26
7.2. Utilisations dans le domaine pharmaceutique et cosmétologique.....	26
a. action anti radicalaire.....	27
b. action anti immunostimulante.....	27
c. action anti cancérigène.....	27
d. action sur les tissus épithéliaux.....	27
e. action sur la vision.....	27
f. action anti vieillissement.....	27
g. action sur la croissance.....	27

- Chapitre IV : laitue de mer étudiée

IV.1. systématique.....	29
IV.2. morphologie.....	29
IV.3. biologie.....	30
IV.4. habitat et écologie.....	30
IV.5. autres caractéristique.....	31
IV.6. récolte et utilisation.....	31

- Chapitre V : Méthode d'identification des caroténoïdes

1. Méthode d'identification des caroténoïdes.....	33
2. Chromatographie liquide à haut performance (HPLC).....	33
2.1. Principe de la méthode	34
2.2. Composition d'un appareil HPLC	34

- Chapitre VI : Matériels et méthodes

1. Zone d'étude	
1.1. Situation géographique.....	38
2. le choix de la station d'échantillonnage.....	38
3.1. Échantillonnage.....	39
3.2. Méthode de prélèvement.....	39
3.3. Préparation de l'échantillon.....	39
a- lavage et conservation de l'échantillon	39
b- séchage.....	39
c- broyage	39
d- conservation	39
4. Extraction et analyse des caroténoïdes.....	40
4.1. Mode opératoire.....	40
4.1.2. Extraction par macération en utilisant un mélange binaire.....	40
4.1.3. Extraction à l'éthanol pur	40
5. Analyse des extraits obtenus	43
5.1. Analyse par spectrophotométrie dans l'ultra violet.....	43
5.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	43

Chapitre VII : Résultat et discussions

1. rendements d'extraction.....	44
2. analyse par la spectrophotométrie.....	44
2.1. Identification des différents spectres.....	45
3- Analyse des extraits par chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	46
- conclusion.....	47

- Annexe1

-Annexe 2

Table des illustrations

Liste des figures :

Figure 1 : Classification simplifiée des chlorophycées	4
Figure 2 : Représentation de la forme semi-développée des caroténoïdes essentiels.....	6
Figure 3 : Les caroténoïdes les plus présentes chez les algues.....	6
Figure 4 : Principaux stérols des algues vertes.....	9
Figure 5 : Les cholestérols d'algues vertes.....	9
Figure 6 : Quelques exemples d'acide aminée de la laitue de mer.....	11
Figure 7 : Exemple de deux dérivées azotées d'algues marines	12
Figure 8 : Exemple de dérivés soufre présente chez l'algue marine.....	12
Figure 9 : Structure générale des caroténoïdes.....	23
Figure 10 : Photographie de l'algue verte (l' <i>Ulva lactuca</i>).....	31
Figure 11 : Localisation géographique de la zone de prélèvement.....	41
Figure 12 : Localisation du point de prélèvement.....	41
Figure 13 : Méthode d'extraction adopte dans notre travail.....	45

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification simplifiée des chlorophycées.....	4
Tableau 2 : Les différents rendements calculés.....	44
Tableau 3 : Identification des différentes spectres.....	46

1. INTRODUCTION :

La totalité du milieu marin n'est pas peuplée par les algues, leur présence en profondeur est limitée par l'absence de la lumière nécessaire à la photosynthèse. La profondeur atteinte par certaines algues est variable selon les mers, elle est généralement inférieure à 200 m. Jusqu'à cette profondeur, c'est le système littoral aphotique, caractérisé par des organismes benthiques (phyto et zoo benthos) fixés au substrat ou reposant sur le fond de la mer, et par des organismes pélagiques qui nagent ou flottent en suspension dans l'eau, comme les algues unicellulaires microscopiques ou phytoplanctons.

Les algues présentent un appareil végétatif peu évolué (sans racine, ni tige, ni feuille) mais elles jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre écologique du milieu aquatique.

Elles sont les principales responsables de la production primaire (l'évaluation de celle-ci pour le phytoplancton permet de déterminer les lieux de pêche favorable), Car elles synthétisent la matière organique nécessaire qui constitue la source alimentaire d'une grande partie de la faune marine. Elles dégagent de l'oxygène directement utilisé par les espèces marines, et présentent un support d'alevins de nombreux poissons, de mollusques, de crabes et autres espèces. Elles permettent également l'amélioration, la clarification, la récupération des éléments nutritifs en suspension et l'autoépuration de l'eau, car certaines macro algues libèrent des substances bactéricides tels que les acides gras, les chlorophylliens, les terpènes, les phénols, et les antioxydants.

Du point de vue économique, elles présentent actuellement une source nutritionnelle et un produit à valeur montante. Elles sont utilisées en agriculture comme engrais et fourrage, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (agar, alginates, carraghénanes sont des produits extraits d'algues), dans le textile ainsi que dans d'autres domaines.

Les côtes Algériennes recèlent une richesse importante en ce genre d'espèces d'intérêt économique et écologique. Mais, plusieurs franges de celle-ci sont entrain d'être dégradées inconsciemment. Une part importante de cette dégradation provient des rejets directs en mer des eaux résiduaires (domestiques et industrielles) sans aucun prétraitement et de l'arrachage intensif des espèces à vocation économique sur la côte.

Introduction

Ces impacts directs ou indirects ne sont pas sans effet sur les peuplements d'algues, et leurs nombreux faciès ainsi que sur nos richesses halieutiques.

L'étude que nous avons réalisée, malgré sa courte durée et les moyens mis à notre disposition, a été basée en grande partie sur la bibliographie et sur des travaux personnels réalisés sur plusieurs franges côtières et laboratoires. On a été confronté lors de la réalisation de ce travail à un certain nombre d'obstacles parmi lesquels, un manque aigu d'informations concernant l'effet avant et après les changements climatiques survenus sur certaines franges côtières; ainsi qu'à un manque en produit chimiques (étalons), servant à l'identification des composés analysés.

Enfin, ce travail n'a pas été une tâche facile, c'est une étude réalisée en Algérie et qui traite un certain nombre d'aspects de la flore marine algériennes, et leur utilisation dans le domaine pharmaceutique.

Ce document devrait être un travail à partir duquel d'autres recherches doivent voir le jour par l'aide et le financement des institutions concernées (Ministère de l'Environnement, Ministère des Pêches, et autres...) pour assurer la conservation et l'exploitation de la flore marine de façon pérenne.

CHAPITRE 1

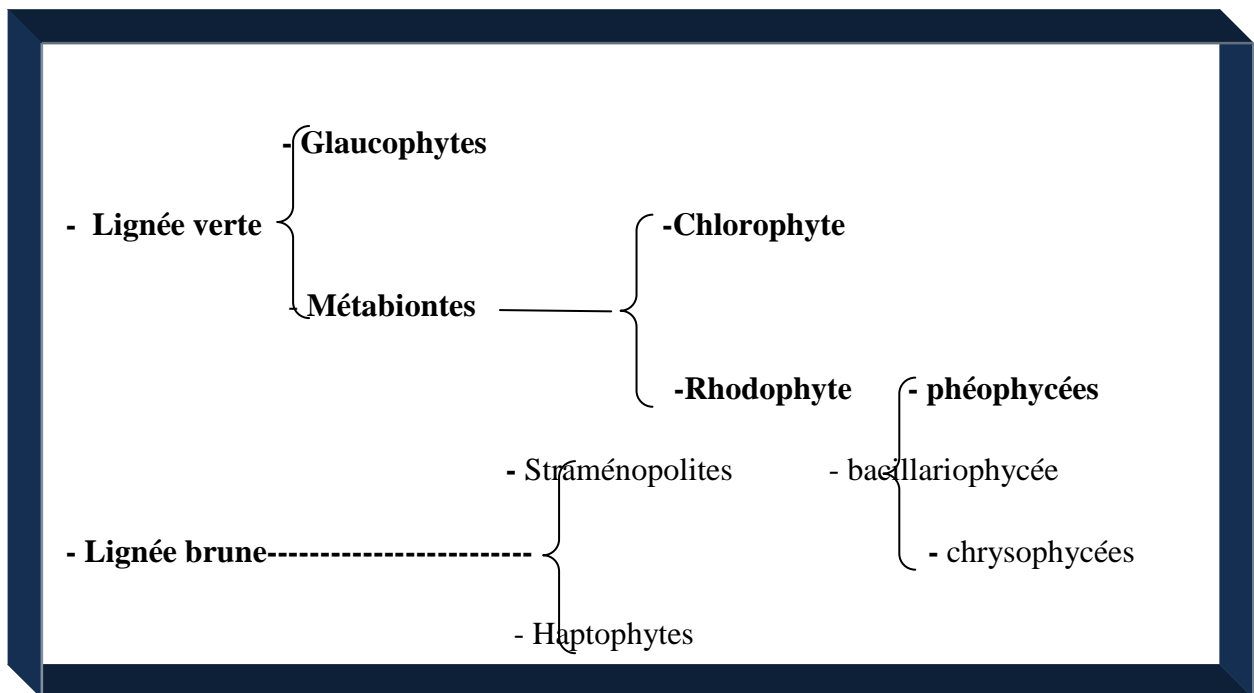
GENERALITES SUR LES ALGUES VERTES

1. Elément de classification des macro algues marines :

Rappelons que la notion macro algue désigne un organisme pluricellulaire évolué, ce qui n’implique pas automatiquement un organisme de grande taille visible à l’œil nu, bien que ce soit très souvent le cas.

D’une manière générale, les systèmes de classification utilisés par les biologistes se modifient, d’une part, avec le progrès des connaissances lié au développement technologique (il en est ainsi de l’introduction de critères de biologie moléculaire) et ,d’autres part, avec la découverte de nouvelles espèces ou de nouvelles formes de vie inconnues, Il en est ainsi des organismes vivants dans les (oasis) abyssaux, à proximité des sources hydrothermales sous-marines où la vie est totalement indépendante de la photosynthèse et entièrement fondée sur la chimiosynthèse (Kornprobst, 2005).

C’est ainsi que la classification des algues marines a été très sensiblement modifiée depuis ces 20 dernières années et il est conseillé à tous ceux qui s’intéressent aux algues, sans être des algologues professionnels, de prendre en compte les modifications récentes apportées parmi les ordres, les familles, les genres et les espèces autrefois considérés comme traditionnels. Ceci est particulièrement important quand on analyse des publications faisant référence a des organismes dont la position systématique, voir le nom, ont été modifiés. D’après le développement continu et les recherches faites dans cet axe (kornprobst, 2005), on établie le classement suivant :



2-Classification des chlorophycées :

Rappelons que les chlorophycées furent les premiers organismes pluricellulaires; les chlorobiontes, qui englobent les algues vertes et les végétaux terrestres. Ainsi, tous les végétaux terrestres dérivent des algues vertes et possèdent les mêmes caractéristiques biochimiques : même pigment photosynthétiques (chlorophylles a et b), mêmes polysaccharides de réserve (amidon) et de paroi (cellulose). Sur les 7 000 espèces estimées, 13% seulement, soit environ un millier, seraient marines, par la composition de leur équipement photosynthétique. Les chlorophycées nécessitent de la lumière; elles ne se trouvent que très rarement au-dessous de 25 mètres de profondeur et se rencontrent le plus souvent dans les dix premiers mètres d'eau, bien qu'on a observé quelques espèces au-delà de 50 mètres. Par ailleurs, les algues vertes vivent davantage dans les eaux calmes qu'en milieu agité et préfèrent en général les baies abritées et les zones du rivage protégées de la houle et des vagues du large.

Traditionnellement, la classe des chlorophycées est divisée en 14 ordres; six d'entre eux ont des représentants macroscopiques, donc observables le long des côtes et sur les roches. Le tableau 01 résume l'essentiel de la classification des algues vertes macroscopiques en donnant, pour chaque ordre, le nombre de familles, les principales d'entre elles, et les genres qui ont conduit à des travaux sur leurs métabolites primaires et secondaires (Kornprobst, 2005).

Tableau N°01 : Classification simplifiée des chlorophycées (Kornprobst, 2005).

Ordre	Nb.de familles	Principal familles	Principaux genres
Cladophorales	2	Cladophoraceae	chaetomorpha, cladophor , rhizoclonium, spongomorpha
Prasiolales	1	Prasiolaceae	prasiola
Ulvales	5	Monostromaceae	blidingia, monostroma
		Ulvaceae	enteromorpha, ulva
Bryopsidales	5	Bryopsidaceae	bryopsis , derbesia, trichosolon
		Caulerpaceae	caulerpa
		Codiaceae	codium
		Halimedaceae	halimeda
		Udoteaceae	avrainvillea , chlorodeesmis ; pencilus , rhipocephalus , tydermania , udotea
Dasycladales	1	Dasycladaceae	acetabularia, cymopolia, dasycladus, neomeris
Siphonocladales	2	Siphonocladaceae	boodlea, cladophorapsis siphonocladus
		Valoniaceae	dictyosphaeria, ernodesmi volonia
Chaetophorales	1	Chaetophoraceae	acrochaete (endoderma), phaeophila

REMARQUE : les espèces en gras sont les espèces les plus fréquente en méditerranée et surtout en Algérie.

Les espèces appartenant aux trois premiers ordres sont majoritairement marines et vivent surtout dans les eaux tempérées, les termes prasiolales et ulvales comme noms d'ordres sont relativement récents et ont respectivement remplacé les termes plus anciens de schizogoniales et d'ulotrichales. Les espèces appartenant aux trois ordres suivants sont exclusivement marines et se trouvent surtout dans les eaux tropicales. Le genre *Halimeda* se distingue des autres bryopsidales par une calcification fréquente du thalle, le nom d'ordre bryopsidales a remplacé celui de caulerpales, qui avait remplacé celui de siphonales. Enfin, l'ordre des chaetophorales contient surtout des algues unicellulaires, souvent endophytes qui sont d'autres espèces de chlorophycées (par exemple *Acrochaete*) (Kornprobst, 2005).

3. Richesse des algues vertes en Chlorophylles, carotènes et xanthophylles :

Les chlorophycées contiennent les chlorophylles a et b à des proportions relatives de 3 à 1 et la teneur moyenne en chlorophylles est de 0.1% du poids sec du thalle. Les trois classes d'algues macroscopiques contiennent les α et β -carotènes dans des proportions caractéristiques de chacune des classes.

Pour les chlorophycées, la teneur en β -carotène est presque toujours la plus élevée avec un rapport voisin de 1/20 entre les formes α - et β (voir figure n2). Les exceptions concernent les espèces de l'ordre des Bryopsidales pour lesquelles ce rapport est inversé est supérieure à 1. D'autres carotènes minoritaires sont également communs aux trois classes d'algues, en particuliers le lycopéne et le γ -carotène (Kornprobst, 2005).

Les xanthophylles sont davantage spécifiques à l'intérieur de chaque classe d'algues. Une xanthophylle particulière, la lutéine (3,3'-dihydroxy- α -carotènes), est commune aux trois classes mais souvent majoritaire dans les chlorophycées. Deux autres xanthophylles sont diversement réparties entre ces trois classes: la zéaxanthine (3,3'-dihydroxy- β -carotène) dans les chlorophycées et les rhodophycées, et la violaxanthine (5,6,5',6'-diépoxyzéathine) dans les chlorophycées, les rhodophycées et les phéophycées. Comme pour les carotènes, les proportions relatives de chacune de ces xanthophylles varient avec la classe d'algues considérée (voir figure n^o3); (Kornprobst 2005).

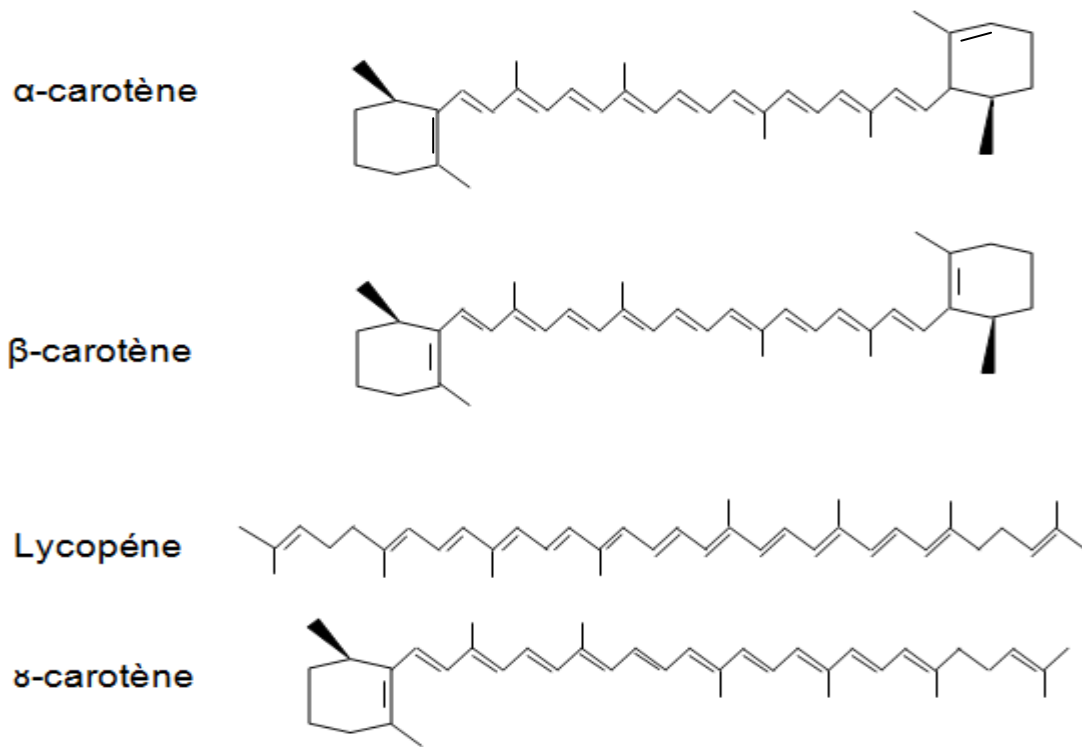


Figure n°2 : Représentation de la formule semi-développée des caroténoïdes essentiels

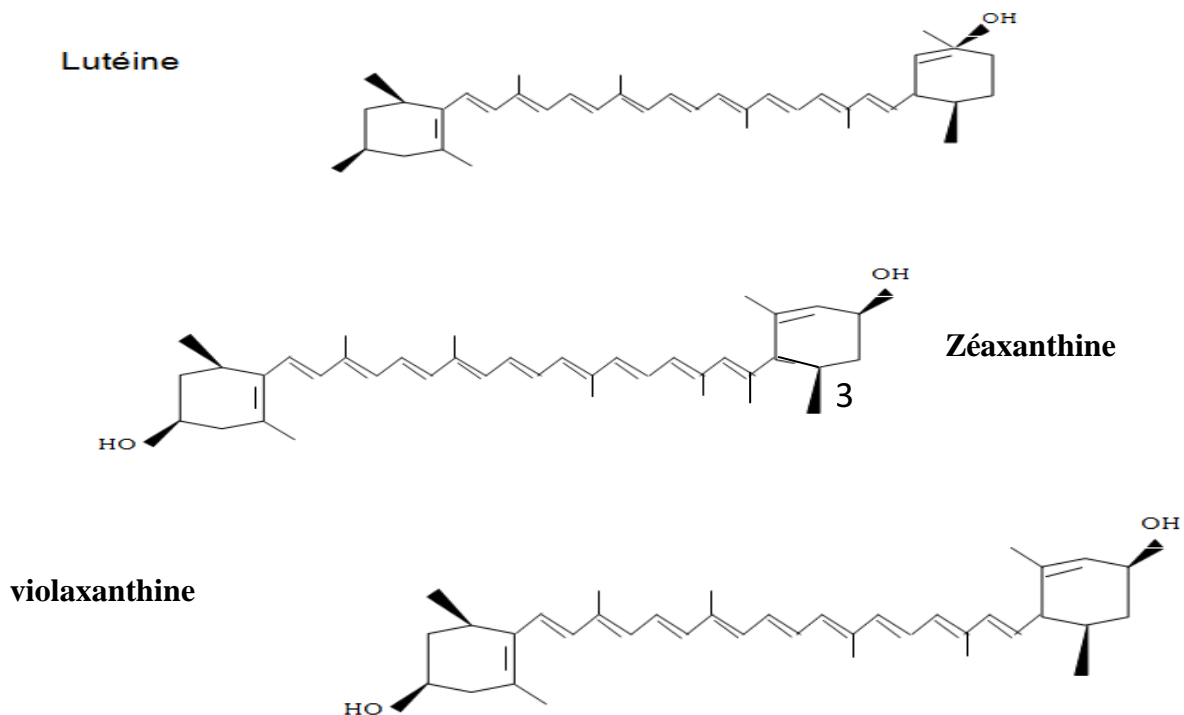


Figure n°3 : les caroténoïdes les plus présentes chez les algues

Les deux grandes xanthophylles qui sont présentes dans toutes les algues vertes : l'anthéroxanthine (mono-époxyde de la Zéaxanthine) et la néoxanthine, sont apparentées à la fucoxanthine. On rencontre également parmi les algues vertes plusieurs xanthophylles possédant une fonction cétone en 4 comme l'échinénone, l'hydroxy-4-échinone, la canthaxanthine, l'astaxanthine, et divers esters de cette dernière. La production de ces xanthophylles cétoniques est liée à une carence en azote (Liaaen-jensen, 1978).

Les caroténoïdes auraient pour rôle essentiel d'assurer la photo protection de l'organisme en piégeant l'oxygène singulier produit par la forme excitée des chlorophylles (Liaaen-jensen, 1978).

3.1. D'autres richesses d'algues vertes :

3.1.1. Polysaccharides de réserves (amidons):

Les polysaccharides de réserve (Storage polysaccharides) sont stockés par les algues et sont réutilisables à la demande pour maintenir le métabolisme de l'organisme. Pour les algues vertes et rouges, ces polysaccharides sont des α -1,4-glucanes, qui sont en tous points comparables aux amidons des végétaux terrestres. Ils possèdent tous les mêmes caractéristiques structurales : un enchainement linéaire, plus ou moins ramifié, d'unités glucose liées entre elles au carbone α et 4 (Kornprobst, 2005).

3.1.2. Polysaccharides de parois :

Les parois cellulaires des algues sont formées de deux parties:

- une phase dite cristalline, qui joue le rôle de (squelette)
- une phase dite matrice, qui contient le squelette. Les polysaccharides matriciels sont en général poly anioniques et portent soit des groupes sulfate (algues vertes et rouges), soit des ions carboxylate (algues brunes).

3.1.3. Polysaccharides fibrillaires du squelette des parois :

Il s'agit essentiellement de la cellulose, qui est un β -1,4-glucane qui constitue les polysaccharides (de squelette) de l'ensemble des végétaux pluricellulaires, marins et terrestres.

D'une manière générale, les pourcentages de cellulose sont plus élevés dans les algues vertes que dans les algues rouges et brunes. Ces pourcentages sont de l'ordre de 30 % à 60%.

La cellulose n'est pas cependant le seul polysaccharide fibrillaire des algues vertes. C'est ainsi que les Bryopsidales contiennent également un β -1,3-xylane dont la teneur peut atteindre 50% du poids sec des parois cellulaires, aussi les Dasycladales contiennent un β -1,4-mannane (Kornprobst, 2005).

3.1.4. Polysaccharides matriciels:

Il s'agit de polyholosides complexes, diversement sulfatés, qui sont à répartir en deux groupes : Le premier contient les polyholosides formés à partir de L-rhamnose, de D-xylose et d'acide glucuronique, qui se trouvent surtout dans les espèces de l'ordre Ulvales (*Entiromorpha*, *Ulva*). Ce sont des glucurono-rhamno-xylo-glycanes sulfatés dont le taux de sulfate varie de 7 à 20%, les groupes sulfates étant situés en C₂ des xyloses et /ou rhamnose.

Pour l'*Ulva lactuca* on observe les pourcentages suivants : glucose (72.9%), oxylose (9.7%), rhamnose (4.6%), acide glucuronique (4.3%) et sulfate (8.5%) (Lahaye et al, 1994).

- Le deuxième groupe contient les polysaccharides formés à partir de D-galactose, d' α -L-arabinose et de D-xylose, qui se trouvent surtout dans les espèces de l'ordre des Cladophorales. Dont les groupes sulfate sont situés en C₃ sur les arabinoses et en C₂ et/ou C₄ sur les galactoses (Kornprobst, 2005).

3.2. Lipides membranaires –acides gras et stérols :

- Il n'y a pas d'acides gras spécifiques des algues vertes. Tout au plus, certaines tendances sont observables, saturés et insaturés, et avec un nombre de doubles liaisons allant de 1 à 4 (Pohl et Zurheid, 1979; khotimchenko, 1993). Dans les algues marines, les stérols sont en général estérifiés et les stérols libres n'existent qu'en faibles quantités, voire à l'état de traces. L'étude des stérols d'algues implique donc une saponification de l'extrait lipidique total. D'une manière générale, les stérols des chlorophycées sont nombreux et ont de 27 à 29 carbones, c'est-à-dire des chaînes latérales de 8 à 10 carbones. Actuellement, tous les stérols isolés d'algues vertes possèdent le système tétra cyclique (classique) du cholestérol (kerr et Baker, 1991 ; Patterson, 1991).
- L'isofucostérol est toujours présent dans l'ordre des Ulotrichales, et en général majoritaire pour les Ulvacées (% \geq 80).

- Les ulves (laitue de mer) qui polluent les plages des rivages eutrophisés sont ainsi une source à bon marché d'un stérol rare non commercial.

Les figures 4 et 5 montrent quelques stérols et cholestérols d'algues vertes.

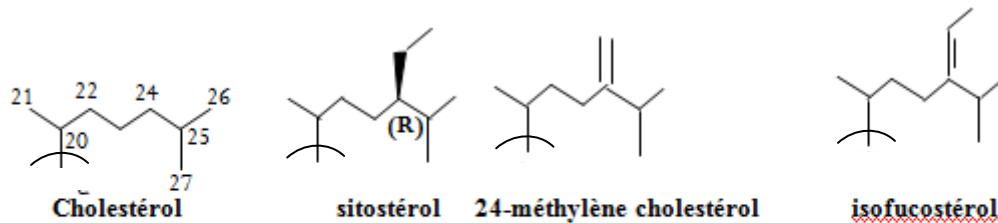


Figure n° 4 : Principaux stérols des algues vertes.

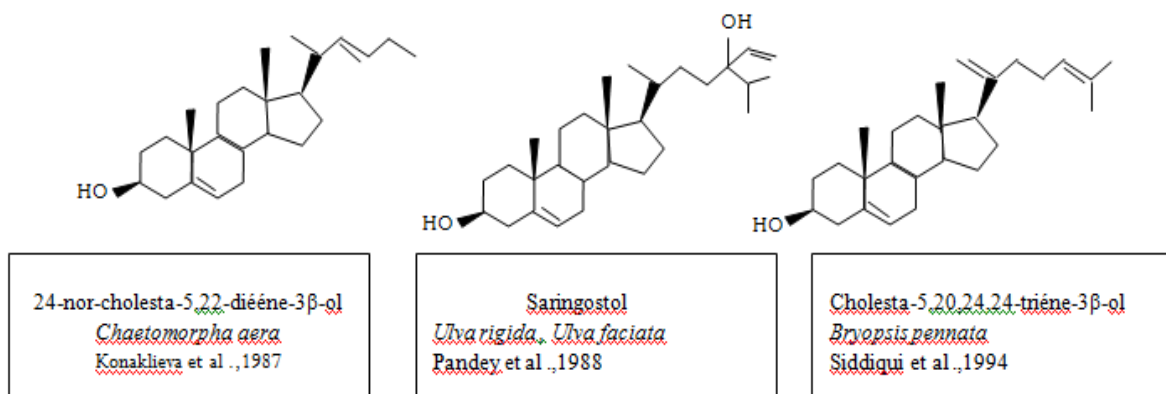


Figure n° 5 : Les cholestérols d'algues vertes

- Abondantes et diversifiées chez les algues rouges et brunes, les oxylipines existent également chez les algues vertes, et la plupart d'entre elles dérivent de l'acide stéaridonique 6, 9, 12, 15-18 : 4 ou 18 : 4 (n-3), et de l'acide α-linoléique 9, 12, 15 : 3 ou 18 : 3 (n-3), qui conduisent à des dérivés en C18 mais également en C10 (Marinlit, 2002).

3.3. Terpènes :

3.3.1 Des métabolites secondaires des chlorophycées :

L'essentiel des métabolites secondaires des algues vertes est constitué de terpènes et de dérivés aromatiques, souvent associés aux premiers dans des méroterpènes. Cette catégorie de métabolites secondaires représente près de 50 % des résultats publiés. Les dérivés halogénés sont peu fréquents, moins de 10 % des structures, et il s'agit quasi exclusivement de dérivés bromés. Parmi les dérivés soufrés, il a été isolé quelques alcools triterpéniques apparentés au cycloarténol et dont certains sont sulfatés.

Jusqu'à présent, trois catégories de terpènes ont été mises en évidence dans les Chlorophycées : les sesqui-, di-, triterpènes. Tous les terpènes isolés des Chlorophycées ont des propriétés ichthyo-toxique et leur rôle serait défensif contre les poissons et autres organismes herbivores.

3.3.2 Mero terpènes des Dasycladales :

Les méroterpènes sont le résultat du croisement de deux voies métaboliques : la voie mévalonique, conduisant à la partie terpène et le plus souvent, la voie de l'acide shikimique ou la voie acylpolymalonate, conduisant à la partie aromatique. Les méroterpènes, associant une chaîne polyprénique et une hydroquinone ou une quinone, sont très répandus en milieu marin, en particulier dans les algues vertes et brunes et interviendraient comme antioxydants. C'est parmi les prénylquinones que l'on trouve les seuls exemples de monoterpènes, et ceci de façon quasi exclusive, contrairement aux méroterpènes d'autres phylums (algues brunes et éponges en particulier) pour lesquels les chaînes prénylées sont beaucoup plus longues (de 8 à 10 unités isopréniques). Dans de nombreux cas, la chaîne monoterpénique forme un benzopyrane avec la partie hydroquinone. C'est enfin parmi ces méroterpènes que l'on trouve le plus grand nombre de dérivés bromés (Gerwick, 1997 ; Kornprobst, 2005).

3.4. Dérives aromatiques :

- Les Chlorophycées contiennent de nombreux dérivés aromatiques qui pourraient intervenir comme moyens de défense contre les bactéries marines, notamment les bromophénols, ou contre les prédateurs herbivores. Les dérivés phénoliques sont bien représentés dans la plupart des phylums, en particulier parmi les trois classes d'algues macroscopiques (Higar, 1981). Les bromophénols des Chlorophycées apparaissent

comme des oligomères de l'alcool 3,4-dihydroxy-5-bromobenzyle, résultant de couplages radicalaires C-C (diphénylméthanés) ou C-O (diphényléthers), (J. M. Kornprobst, 2005).

3.5. Acides aminés, amines, bétaines :

Toutes les algues marines contiennent des amines, des acides aminés non protéiques, des bétaines et sulfobetaines dont les fonctions pour l'algue restent encore obscures. Plusieurs mises au point sur ces dérivés ont été publiées dans les vingt dernières années, pour les amines, (Kneifel, 1979) ; pour les acides aminés non conventionnels, (Fattorusso et Piattelli, 1980) ; pour les bétaines, (Blunden et Gordon, 1986). Des exemples d'acides aminés sont répertoriés en figure 6.

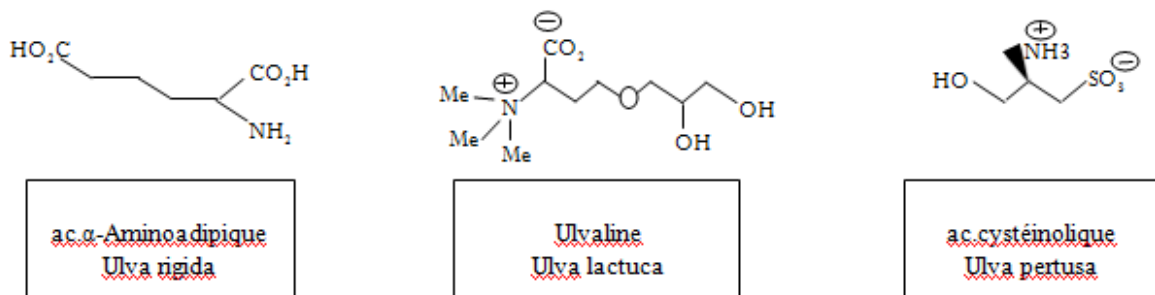


Figure n°6 : quelque exemple d'acide aminé de laitue de mer

3.6. Peptides et dis peptides –kahalalides :

Quelques peptides simples ont été isolés des Dasycladales et des Ulvales. Les kahalalides constituent une famille de peptides linéaires (kahalalides G,H et J) et de dipeptides cycliques (kahalalides A-F, Ket O) formés d'acides aminés conventionnels, mais de configurations D et L, et d'acides aminés non protéiques. Ces molécules complexes s'échelonnent entre un tripeptide en C₁₃ (kahalalides D) et un tridécapeptide en C₇₅ (kahalalides F). Par ailleurs, pour chaque peptide, l'extrémité N-terminal est liée à un acide gras, le plus souvent iso.

3.7. Autres dérives azotées :

Le thalle est une cellule unique possédant de très nombreux noyaux à l'intérieur de la même membrane cytoplasmique. Cette structure coenocytique peut présenter l'aspect macroscopique de filaments (pour certaines Cladophorales comme *Cladophora*), ou de thalle

différencié (avec l'équivalent de tiges, de racines et de feuilles) comme c'est le cas pour les Bryopsidales (Jacobs, 1995).

- la sphinganine, l'érythro-4,8-diénine-N-palmitate, possédant des propriétés antivirales, a été isolée de l'espèce *Ulva faciata* (sharm et al., 1996).

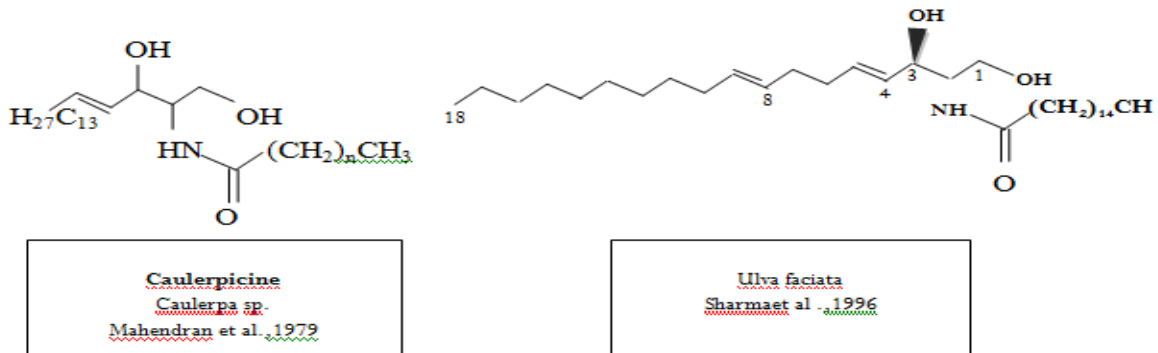


Figure N°7 : Exemple de deux dérivés azotés d'algues marines.

3.8. Dérives soufrés :

Peu de métabolites secondaires soufrés ont été isolés des algues vertes. Hormis les alcools triterpéniques sulfatés, deux composés atypiques biologiquement actifs ont été caractérisés. Le premier est un bis-alkylxanthate, fonction très rare en milieu naturel et toxique pour les larves de moustiques. Le second est un disulfure cyclique inhibiteur de la phospholipase A2 dont il existe des analogues dans certaines algues rouges.

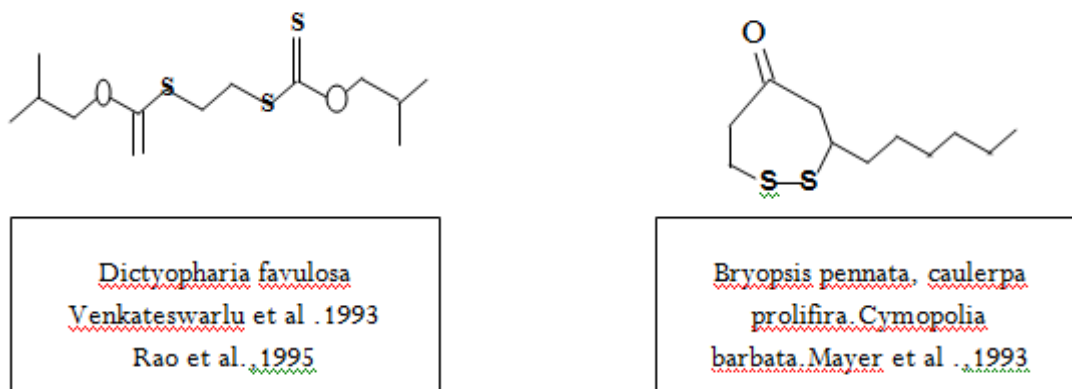


Figure n°8 : Exemple de dérivés soufrés présent chez l'algue marine.

CHAPITRE 2

Usages des macros algues

On attribue aux algues les vertus les plus diverses, qui incitent à les utiliser dans des domaines aussi variés que la médecine, le cosmétique, l'alimentation humaine ou l'agriculture. Ces utilisations semblent jouir d'un préjugé favorable auprès des populations agressées par la vie moderne ou en quête de produit nouveau.

4.1. Usage en alimentation humaine :

Les algues ont été utilisées depuis des temps immémoriaux dans tous les pays maritimes du globe. Mais c'est surtout dans les pays de l'Asie du Sud-Est : Japon, Chine et Corée, qu'elles ont trouvé depuis longtemps une place de choix dans l'alimentation humaine (Cabioc'H et al, 1992).

Certaines espèces d'algues sont utilisées pour l'alimentation humaine, soit directement comme une sorte de légumes (Pérez, 1997) ; soit sous forme de compléments alimentaires. Par exemple la Spiruline (micro algue bleue) commercialisée sous forme de complément riche en protéines et en vitamines représentant environ 70% de matière en suspension (Wrobel, 2005). Pour les Irlandais, ils utilisent les laits gélifiés fabriqués à partir de la petite algue rouge *Chondrus* (Cabioc'H, 1992).

Elles sont aussi utilisées sous forme d'additifs pour l'industrie agro-alimentaire, surtout les polysaccharides appelés « alginates » qui sont extraites à partir des algues brunes (*Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* et *Ascophyllum nodosum*), et les carraghénanes qui sont extraites à partir des algues rouges (*Chondrus crispus* et *Mastacarpus stelltus*) (Cabioc'H et al, 1992).

Ces substances n'existant que chez ces végétaux, qui n'ont pas leur équivalent de synthèse chez les plantes terrestres, sont recherchées pour leurs propriétés physiques et utilisées surtout comme agent gélifiant, épaississant et stabilisateur.

4.2. Usage industriel :

Les industries des textiles, du papier, de l'enrobage, ainsi que le domaine du traitement des eaux utilisent les produits extraits des algues (Larousse agricole, 1981).

C'est dans les pays occidentaux que les algues entrent en force dans l'industrie moderne, une nouvelle activité s'est en effet développée qui utilise les algues comme matière première : l'industrie des phycocolloïdes (alginates et carraghénanes) qui entrent de manière discrète dans une multitude d'application aussi variées que l'impression des textiles, le

couchage du papier, l'enrobage des électrodes, les vernis, les colles, les dentifrices, les couches pour bébés... (Cabioc'H, 1992).

4.3. Usage en cosmétologie :

Grâce à leur composition chimique particulière, les algues entrent dans la préparation de pas mal de produits cosmétiques. On en distingue deux types : les préparations pour lesquelles l'addition d'un phycocolloïde (carraghénanes) permet d'atteindre la viscosité désirée d'un gel et des préparations pour lesquelles un extrait végétal est ajouté pour augmenter l'action tonifiante nettoyante, antiride, gommante, hydratante, desséchante ou anti-oxydante du cosmétique (Pérez, 1997).

La particulière richesse des algues Laminaires et Fucus en oligo-éléments confère aux produits de beauté tel que les crèmes pour le visage, un aspect hydratant et régénérant des cellules ; aussi, ces algues ont un effet thérapeutique concernant essentiellement la gencive, facilitant la reminéralisation de celle-ci. Les shampooings préparés à partir des végétaux aquatiques permettent une meilleure tenue de la chevelure, elles sont indiquées dans les soins du corps avec le bain aux algues marines stimulant les fonctions éliminatrices de l'organisme exerçant ainsi une action défatigante et minéralisant (Boisvert, 1988)

4.4. Usage agricole :

Depuis longtemps, les agriculteurs vivants à proximité du littoral recueillent les végétaux épaves pour les épandre sur les champs d'artichauts, de pomme de terre, de choux-fleurs ainsi que sur les vergers de pommiers, de pêchés (Pérez, 1997).

Ces engrais et amendements sont constitués surtout par des Fucus, des algues rouges et certaines Laminaires. Ils peuvent être compostés, à l'état frais (de 70% à 80% d'eau), ils ne sont guère utilisés que dans la zone cultivée pré-littorale. On peut aussi les dessécher (de 20 à 30% d'eau) ou en faire des extraits d'algues, ce qui permet de les transporter plus aisément et de les utiliser dans des régions éloignées de la cote (Larousse agricole, 1981).

L'application de ceux-ci se traduirait par élévation du taux de croissance de la plante de 5 à 30% selon l'espèce traitée et la nature du fertilisant (Pérez, 1997). Ces extraits d'algues accroissent la résistance des plantes aux conditions du milieu, aux agressions fongiques et parasitaires, ils améliorent ainsi les propriétés physiques du sol (Jolivet, 1991). Ils apportent au sol de l'azote, de l'acide phosphorique, de la potasse ainsi qu'une bonne provision de chaux. Ils ont une richesse en azote comparable à celle du fumier, mais ils sont plus pauvres

en acide phosphorique, deux fois plus riches en potasse et se décomposent plus lentement que celui-ci (Larousse agricole, 1981).

Il a été démontré que les extraits de *Laurencia obtusa* sont très efficaces contre les araignées, les pucerons et les chenilles, ceux de *Pachyton coriaceum* contre la cloque de l'oseille et les vers, ceux d'*Odonthalia glaccosa* contre les mauvaises herbes et ceux d'*Anacystis marina* contre les liserons (Pérez, 1997).

L'emploi des fertilisants naturels devrait permettre une diminution de la quantité d'engrais chimiques et des traitements phytosanitaires classiques polluant le sol et la récolte.

4.5. Usage en médecine et pharmacie :

Les algues ont pris place dans la pharmacopée chinoise depuis 2000 ans (Boullard, 2001). La médecine orientale a recours à des végétaux marins pour assurer un certain nombre de thérapies, notamment celles traitant le goitre, l'hypertension et les maladies cardio-vasculaires (Pérez, 1997). L'utilisation des algues en médecine et en pharmacie est en pleine croissance, d'ailleurs d'après John (2005), un produit à base d'algues peut être utilisé pour le traitement de l'immunodéficience due au virus du SIDA, ajoutons que selon Beauquesne et al (1980) les sels minéraux, l'iode, les oligoéléments, les vitamines et provitamines des préparations d'algues brunes peuvent provoquer par ingestion, une stimulation du métabolisme général, l'accroissement des échanges osmotiques et l'élimination des déchets...

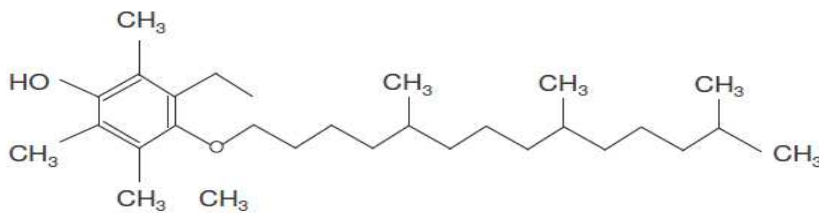
En raison de leur richesse en composants mucilagineux hypocaloriques qui ont les propriétés de se réhydrater dans l'estomac, gonflent et engendrent une sensation de plénitude, les algues sont indiquées pour lutter contre l'obésité (Pérez, 1997 et Boullard, 2001).

Les algues constituent une ressource potentielle de nouveaux composés antioxydants pouvant être utilisés dans le domaine de la santé ou de la qualité des aliments. Des études épidémiologiques menées dans les pays asiatiques démontrent les effets bénéfiques sur la santé d'une consommation importante d'algues. La prévalence de certains cancers est réduite. Des essais in vitro, in vivo et biochimiques chez l'animal ont permis d'identifier des substances favorables. Les algues, comme tout organisme vivant, ont développé des mécanismes de protection contre les conditions de stress environnantes. Elles ont ainsi synthétisé des molécules pouvant agir à différents niveaux. Les antioxydants peuvent inhiber la formation des espèces activées de l'oxygène (1ère ligne de défense). Ils peuvent aussi

interrompre la chaîne de propagation des réactions d'oxydation conduisant à la dégradation des protéines, des lipides ou de l'ADN. Ils peuvent enfin réparer les macromolécules dégradées par le processus d'oxydation. L'objectif de l'intervention est de passer en revue l'ensemble des molécules algales présentant des propriétés antioxydantes. Les composés sont de nature lipophile (caroténoïdes, vitamine E) et de nature hydrophile (polyphénols, phycobiliprotéines, vitamine C, enzymes comme la superoxyde dismutase).

5. Les tocophérols ou vitamine E

Les formes tocophérol et tocotriénol ont été identifiées chez les algues. L'effet antioxydant de la vitamine E est aujourd'hui bien connu. La vitamine E possède aussi une activité anti-inflammatoire. Elle est principalement retrouvée dans les algues brunes par rapport aux deux autres phyllums (algues rouges et vertes). Sa quantité est importante chez l'*ascophyllum* et le *fucus*. L'alpha tocophérol est représenté par la formule semi développée suivante :



C'est un antioxydant liposoluble que l'on trouve, entre autres, à l'état naturel dans la sauge et le romarin, l'huile de germe de blé, d'olive, de tournesol et de carthame.

6. L'acide ascorbique ou vitamine C :

Son activité antioxydante est reconnue. Elle protège entre autres du cancer de l'estomac, de l'oesophage, du pharynx...etc. La vitamine C a été identifiée dans les algues sous forme d'acide L-ascorbique et di-hydro-ascorbique. Quel que soit le phylum, les teneurs varient entre 150 et 300 mg pour 100 g de matière sèche.

CHAPITRE 3

LES CAROTENOIDES ET LEURS DIFFERENTS ROLES

3.1 Généralités:

Les carotènes, caroténoïdes, sont des mots dérivés de *Daucus carota*, le nom latin de la carotte dont le β -carotène fut extrait et isolé pour la première fois en 1931 (GHAZI et SAHRAOUI ; 2002).

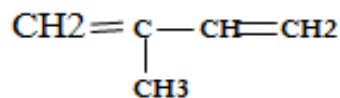
Les caroténoïdes sont appelés pigments photosynthétiques accessoires, leur rôle au niveau du tissu végétal est essentiellement l'absorption des photons lumineux, pour les transférer à la chlorophylle lors du processus photosynthétique. Près de 10% des caroténoïdes et parmi eux, l' α -carotènes, la cryptoxanthine et le β -carotène sont des précurseurs de la vitamine A.

Les caroténoïdes sont largement répandu dans la nature, à l'origine de teintes brillantes : jaune, orange et rouge de nombreux fruits comestibles (oranges, citrons, abricots, fraises...), de légumes (carottes, tomates,...etc.) ; de champignons (grille), de fleurs ; ils sont aussi présents dans les produits animaux ; jaune d'œufs, homard, langouste et poissons divers (LINDEN et al ; 1994).

Plus de 60 pigments caroténoïdes différents, ont été identifiés chez les algues, mais seulement 4 ou 5 sont présentes dans toutes les classes d'algues.

Sur le plan chimique, les caroténoïdes à 40 atomes de carbones appartiennent à une grande classe chimique appelée : les terpènes, plus précisément dans le groupe des tetraterpènes qui est un système à double liaisons conjuguées avec des unités cycliques (parfois non cycliques) aux extrémités de la molécule (Louisot, 1974 in Boumediane ; 1991).

Ces pigment, au nombre d'une centaine, dérivent d'un carbure fondamental, l'isoprène, dont la formule semi développée est comme suit :



L'isoprène

2. Classifications des caroténoïdes :

*- Les caroténoïdes hydrocarburés :

Ces hydrocarbures, fortement insaturés, peuvent être plus ou moins oxygénés. Ce caractère a permis leur classement en deux grands groupes :

3.2.1 Les carotènes :

Ce sont des hydrocarbures polyniques formés par longues chaînes hydrophobes. Ils sont associés à la chlorophylle dans les cellules vertes.

Ces carotènes peuvent être considérés comme la structure de base et tous les autres caroténoïdes en découlent par dérivation, déshydrogénation et même oxydation, (Newman ; 1972 in Ghazi et Sahraoui ; 2005).

Le principal représentant de ce groupe est le β -carotène, son oxydation au niveau de la double liaison médiane donne naissance à deux molécules de rétinol (vitamine A) ; qui sont des provitamines A.

Les principales provitamines A :

- β - carotène
- α -carotène
- δ -carotène
- ζ -carotène
- Cryptoxanthine
- Citroxantine
- Cryptocapsine

3.2.2 Les xanthophylles :

Les xanthophylles sont un ensemble de pigments caroténoïdes oxygénés, portant des groupes hydroxyles, elles sont dépourvues d'efficacité vitaminique (A) à l'exception de la cryptoxanthine (Capon et al ; 1993 ; in Boucherkhoufa et Tebakh ; 2006).

Ces xanthophylles qui sont initialement des produits d'hydroxylation des carotènes, possèdent des fonctions alcool ou cétone (c'est le cas de la zéaxanthine ou de la lutéine). Cette hydroxylation peut être suivie par une autre oxydation pour donner des époxydes ; c'est le cas de la capsanthine ou de l'astaxanthine.

Les feuilles et les fruits des plantes supérieures en renferment une large variété. La principale xanthophylle est la lutéine $C_{40}H_{56}O_2$, qui se trouve également dans le jaune d'œuf.

Les feuilles renferment d'autres xanthophylles tel que la zéaxanthine ou la lycoxanthine (Lascombes ; 1975 in Boumediane ; 1991).

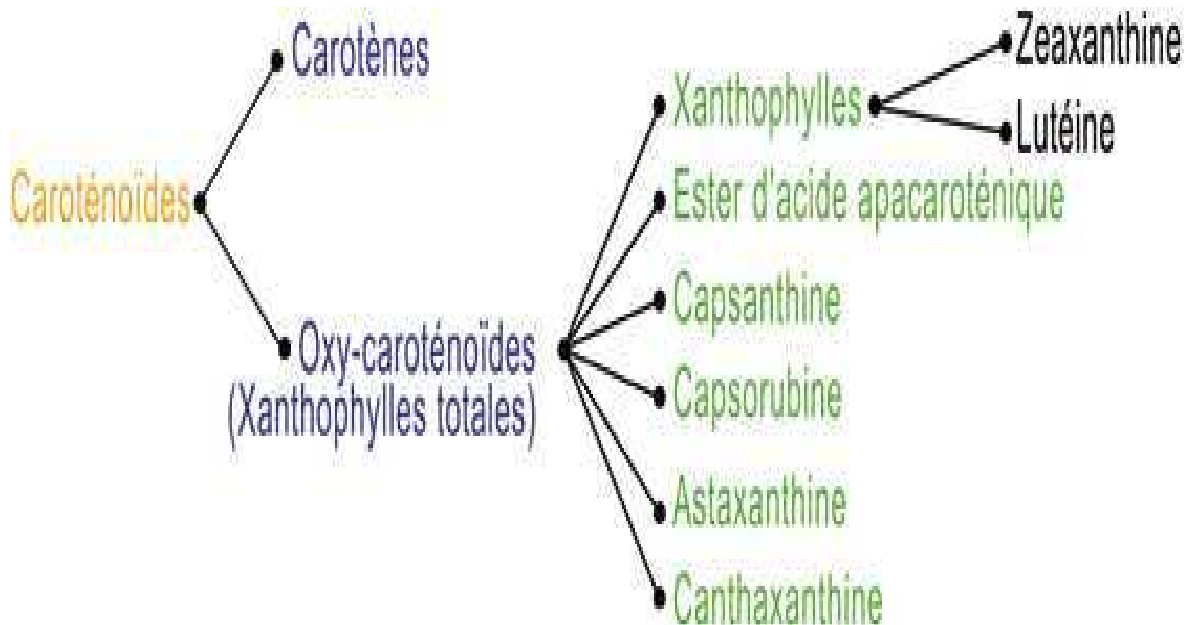
Parmi les xanthophylles spéciales aux algues, il faut citer la fucoxanthine qui associée à la néofucoxanthine colore les phéoplastes.

Les xanthophylles les plus connus sont :

- Xanthophylle
- Zéaxanthine
- Lutéine
- Astaxanthine
- Violaxanthine
- Cryptoxantine

3.3. Classification des caroténoïdes alimentaires :

La classification des caroténoïdes alimentaires est représentée comme suit :



3.4 Structure des caroténoïdes :

La famille des caroténoïdes est constituée de deux groupes :

- les hydrocarbures polyéniques et les caroténoïdes oxygénés

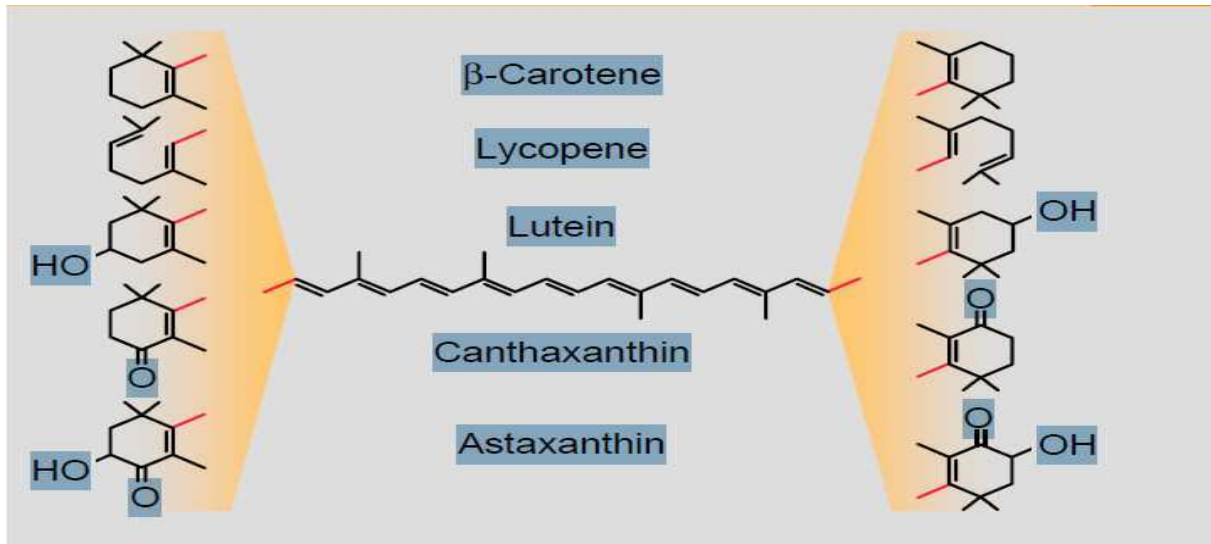


Figure n°9 : Structure général des caroténoïdes (Business Communications Company Inc. www.bccresearch.com/editors).

3.4.1. Les caroténoïdes hydrocarbonurés:

Ce sont des composés considérés comme des précurseurs des autres caroténoïdes. La structure de ce groupe est un système de 8 à 9 doubles liaisons conjuguées de formule générale $C_{40}H_{56}$. Au fur et à mesure que ces doubles liaisons conjuguées sont saturées, le produit perd sa couleur. Ce groupe est très répandu aussi bien dans le règne végétal que dans le règne animal.

Le β -carotène constitue la majeure partie des mélanges de carotènes se trouvant dans le végétal, et chez toutes les algues (Benkharchouk et Benkherouf ; 1996).

En plus des isomères de carotène, ce groupe renferme d'autres constituants tels que le lycopène (tomate), la citroxanthine (peau d'orange)...etc.

3.4.2 Les carotènes oxygénés :

Les caroténoïdes oxygénés appelés aussi xanthophylles, possèdent de plus par rapport aux carotènes, des atomes d'oxygène (groupes cétoniques $-C=O$ et groupes hydroxyles $-C-OH$).

Ce groupe est dérivé des caroténoïdes hydrocarburés, précédemment mentionnés, par oxydation qui compte plusieurs dérivés parmi lesquels, nous pouvons citer :

- *- Les dérivés hydroxyles (lutéine, zéaxanthine).
- *- Les dérivés avides (acide apo-8'-carothénoïque).
- *- Les dérivés hydroxylés et cétoniques (capsanthine).
- *- Les dérivés cétoniques (cantaxanthine).

3.5. Biosynthèses des caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont synthétisés par dimérisation « tête à tête » de deux molécules de pyrophosphate de géranyl.

Ces composés sont très insaturés et le nombre élevé de doubles liaisons conjuguées leur confère une coloration rouge ou jaune franche. Ils se forment de phytogène qui se transforme en carotène, par désaturation et cyclisation des extrémités. L'introduction des groupes oxygénés permet la formation des xanthophylles (Mazliak ; 1979 in Djballi et Hammouche ; 1997).

3.6. Rôle et utilisation des caroténoïdes :

3.6.1 Rôle des caroténoïdes :

Parmi la cinquantaine de caroténoïdes couramment présents dans l'alimentation, une vingtaine est trouvée dans le sang et les tissus humains, parmi eux, citons le β -carotène, le lycopène, la β -cryptoxantine, la zéaxanthine, la lutéine, la cantaxanthine et l'astaxanthine (Ghazi et Sahraoui ; 2005).

1.1. Fonction biologique (rôle nutritionnel) :

Une des plus importantes fonctions physiologiques des caroténoïdes est leur action comme précurseurs de la vitamine A dans l'organisme animal (Gross ; 1977 in Benchouk et Benkherouf ; 1996).

Parmi les caroténoïdes, provitamines A : l' α -carotène et le β -carotène, sont des vitamines essentielles pour l'alimentation humaine, elles jouissent des propriétés antioxydantes et anti-cancérogènes (Benchouk et Benkherouf ;1996).

La vitamine A est essentielle pour la vision, la croissance et la reproduction ; elle est nécessaire au contrôle et à la différenciation des tissus épithéliaux. (Chaudhary et al ; 1989 in Ghazi et Sahraoui ; 2005)

1.2. Fonction photosynthétique :

Depuis que les caroténoïdes ont été universellement trouvés dans les tissus photosynthétiques, trois importantes photofonctions ont été établies :

A. Photo protection : contre la photosensibilisation :

Les pigments caroténoïdes jouent un rôle de photo protection chez les végétaux. Lors d'une exposition prolongée à de fortes intensités lumineuses des plantes, le substrat caroténoïdes va subir une oxydation et une régénération, ce qui va inhiber potentiellement les dommages cellulaires causés par cette lumière ; donc les caroténoïdes agissent comme des agents protecteurs (Ghazi et Sahraoui ; 2005).

B. Photo réception :

Dans la photosynthèse, les pigments caroténoïdes absorbent l'énergie lumineuse, lorsque la chlorophylle est présente en faible quantité, puis transmettent à celle-ci l'énergie ainsi captée.

C. Photo transmission :

Les pigments caroténoïdes participent aux transferts d'énergie chez les organismes photosynthétiques, par multiples interactions avec les donneurs et les accepteurs de cette énergie.

3.6.2. Utilisation des caroténoïdes :

Les pigments caroténoïdes sont largement utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour leur propriétés colorantes (additif et agent colorant), et également dans l'industrie cosmétique ou pharmaceutique pour leurs propriétés anti oxydantes et leur capacité de photo protection (A. Muller ; 1997).

6.2.1. Classification :

Les divers caroténoïdes retenus par la législation européenne sont répertoriés sous le numéro E160 n (Kiger ; 1964 in Boumediane ; 1991), à laquelle correspond la provitamine A,

les xanthophylles voisines étant notées E161 n (Boumediane ; 1991, Benchouk et Benkherouf ; 1996).

6.2.2. Les caroténoïdes usuels :

Ils sont obtenus par extraction à partir de source naturelle ou par voie synthétique.

A. α -carotène :

Il se présente sous forme de prisme polyédrique brillant, pourpre foncé a reflets bleutés solubles dans l'éther de pétrole, le chloroforme, le sulfure de carbone, benzène, le toluène, il est peu soluble dans les alcools et l'éther. Et présente un point de fusion est de 187⁰c.

B. β -carotène :

C'est le carotène le plus abondant dans la nature, présentant les mêmes aspects et caractères de solubilité que l' α -carotène, mais, il est cristallisé en paillettes rhombiques rouges presque carrées. Il est moins soluble dans les solvants organiques son point de fusion est de 190⁰c (Fouassin.1975 IN Benchouk et al ; 1996)

C. γ -carotène et δ -carotène :

Se rencontre en faible proportions par apport aux deux premiers. Ils sont d'un aspect identique, en prismes rouges. Leurs points de fusion sont respectivement de 178⁰c et de 172⁰c.

D. carotène officinal :

C'est un mélange des isomères α et β , mais surtout riche en β -carotène, présenté sous forme de poudre cristalline rouge à reflets bleutés. Il est soluble dans l'eau, légèrement soluble dans l'éthanol chaud et les huiles végétales.

L'extraction industrielle du carotène officinal, s'effectue a partir de la carotte (20 à 50mg/Kg), de la luzerne (60 à 70 mg/Kg) et surtout a partir de l'huile de plume (400 a 600 mg/Kg). Il sert essentiellement à colorer les margarines et certains produits laitiers.

E. β -Apo-caroténal :

Il se présente en cristaux violets a éclat métallique, il est très solubles dans le sulfure de carbone, le chlorure de méthylène, le chloroforme, le benzène, soluble dans l'éther de

pétrole, peu soluble dans l'alcool, le méthanol et dans les huiles végétales. Son point de fusion est de 138C⁰ (Benchouk et al ; 1996).

F. xanthophylles :

Ce sont des dérivés hydroxyliques ou cétoniques du carotène, parmi lesquels :

Flavoxantine, xanthophylles ou lutéine, zéaxanthine,..... etc.

Ces alcools et cétones caroténoïdiques sont extrêmement abondants et dispersés dans la nature.

7. Préparations des caroténoïdes commerciaux :

Les caroténoïdes commerciaux sont préparés par dissolution simultanée du caroténoïde et du palmitate d'ascorbyle dans un solvant comme le chloroforme, l'ensemble est mis dans une solution aqueuse d'un colloïde protecteur (exemple : la gélatine) ; suivie d'une distillation pour éliminer les solvants. Parmi ces préparations nous avons :

-le β -carotène en poudre : hydrosoluble, donnant les dispersions aqueuses allant du jaune – orange à l'orange rougeâtre.

7.1 Utilisation des préparations de caroténoïdes hydrosolubles en industrie alimentaire :

D'abord, ces produits sont mis en solution dans 10 à 15 fois leur poids en eau, ensuite portés à une température de 80-90⁰C en agitation.

Ils peuvent alors, être incorporés aux produits désirés ; soit directement aux aliments de consommation humaine ou indirectement à l'alimentation des animaux.

Les colorants alimentaires sont employés pour colorer divers aliments tels que : les boissons gazeuses, utilisés à raison de 20 à 100g pour 100 litres ; aussi dans les fromages à raison de 4 à 20 g/tonnes, et en produits de biscuiterie et pâtes alimentaires à raison de 15 à 35 mg/Kg de farine (Fouassin ; 1975 in Benchouk et al ; 1996)

7.2 Utilisations dans le domaine pharmaceutique et cosmétologique :

Les caroténoïdes sont des molécules à double liaison, d'où leurs propriétés antioxydants.

A. action anti radicalaire : Certaines caroténoïdes possèdent la capacité d'agir sur l'oxygène singulier (O_2) et de piéger les radicaux libres (molécules hautement activées), protégeant ainsi les lipides, les protéines et l'ADN des dommages radicalaires (Faure et al ; 1999 in Ghazi et al, 2005).

B. action immunostimulante : Le β -carotène principalement, ainsi que la canthaxanthine, peuvent faire augmenter de façon significative les défenses immunitaires naturelles. La vitamine A est utilisée dans le traitement de la rougeole, le β -carotène dans celui du SIDA. Des propriétés immunostimulantes ont aussi été découvertes dans le lycopène.

C. action anti cancérigène : La stimulation du système immunitaire pourrait être associée à la prévention et l'inhibition de certains cancers (tumeurs de la vessie, de la bouche, des voies respiratoires, du sein, du colon...). Le β -carotène inhibe le développement du cancer mais à des doses importantes. Le lycopène est le seul caroténoïdes protecteurs du cancer de prostate (Boukharchoufa et Tebakh ; 2006).

D. action sur les tissus épithéliaux : La vitamine A participe à l'équilibre et au renouvellement des tissus épithéliaux telles que les cicatrisations et affections dermatologiques.

E. action sur la vision : La lutéine et la zéaxanthine se trouvent dans la macula (tache jaune de l'œil) et la protège de la dégénérescence de l'œil intervenant avec l'âge. Grace à leur propriété anti-oxydante, les caroténoïdes protègent le cristallin. Le β -carotène agit en synergie avec d'autres antioxydants comme les vitamines C et E, les effets bénéfiques sont ainsi augmentés.

F. action anti vieillissement : Le β -carotène et d'autres caroténoïdes comme le lycopène sont de puissants lipoprotecteurs ; protègent du « rancissement », qui intervient dans le vieillissement et les maladies dégénératives associées (cancer, dégénérescence cérébrale et pathologie cardiovasculaire). Le β -carotène freine la vitesse des processus dégénératifs accélérés dans des situations particulières comme l'exposition excessive au soleil, le tabagisme, le diabète.....

G. action sur la croissance : Du fait de son rôle dans la croissance et la multiplication des cellules, la vitamine A est nécessaire au bon développement et à la croissance de l'embryon, de l'enfant et de l'adolescent.

CHAPITRE 4

Laitue de mer étudiée

1. Systématiques: (AMEUR F ; 2005)

CLASSIFICATION DE L'ALGUES VERTE CHOISIE

- **Phylum :** Chlorophyta
- **Embranchement :** Chlorophycophyta
- **Classe :** Ulvophyceae
- **Ordere :** Ulvales
- **Famille :** Ulvacées
- **Genre :** Ulva
- **Espece :** Lactuca

Autres noms scientifiques encore en usage :

- *Ulva lactuca* Linnaeus var. *rigida* (C. Agardh) Le Jolis, 1863
- *Ulva thuretii* Föyn, 1955
- *Ulva rigida* C. Agardh, 1824

2. Morphologie:

Tout le thalle adulte est formé d'une seule fronde entière, sans stipe bien distromatique caractérisé et présente une structure distromatique (2assises de cellules).(W. Fischer et M. Schneider ; 1987) voir figure n 9

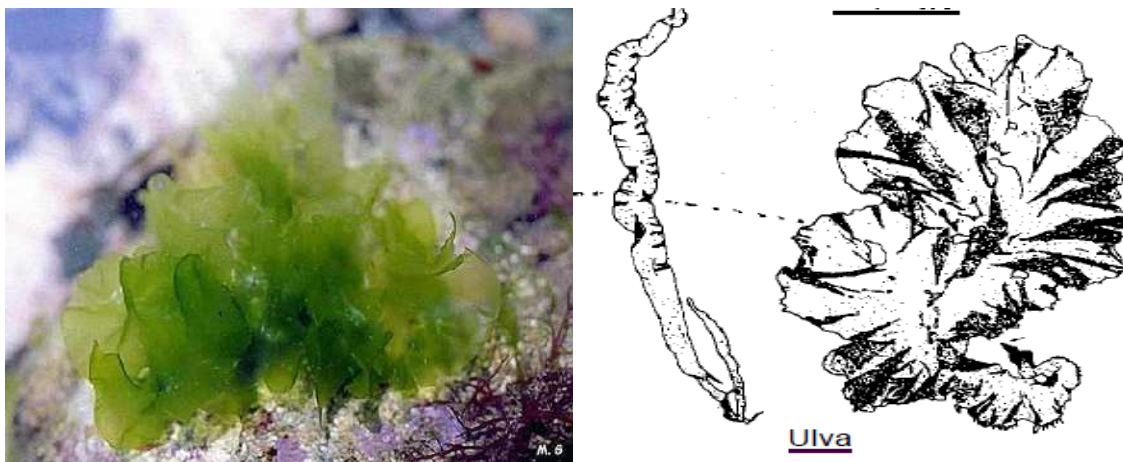


Figure n°10 : Photographie de l'algue verte, *Ulva lactuca*

Laitue de mer : algue verte, souple, aux saveurs corsées auxquelles se mêle un goût proche de celui de l'oseille. Elle est très riche en : calcium, fer, magnésium, vitamines A et C

La laitue de mer contient 2 fois plus de fer que le germe de blé. Elle est également remarquable pour ses teneurs en magnésium. La qualité des acides aminés essentiels de la Porphyre est voisine de celle du poisson ou de l'œuf.....etc.

Ainsi la forte concentration en sels minéraux et la richesse en composés aromatiques confèrent aux algues le rôle de condiment. (W. Fischer et M. Schneider ; 1987)

3- Biologies :

➤ Caractères distinctifs :

- **Morphologie** : Thalle foliacé, très polymorphe, fixé au substrat par un petit disque formé de nombreux rhizoïdes issus des cellules basales.
- **Structure** : Distomatique (deux assises de cellules); les cellules de la zone basale engendrent des rhizoïdes.
- **Croissance** : d'abord terminale (stade filamenteux plein, puis creux) puis diffuse quand la structure distromatique apparaît (par accolement des parois).
- **Cytologie** : Les cellules contiennent un seul noyau, sauf les cellules rhizoïdales parfois plurinucléées; type archéoplastidié (un grand plaste pariétal avec 1 ou 2 pyrénoides).
- **Reproduction** : Les gamétophytes engendrent des gamètes biflagellés anisogames et les sporophytes des spores quadriflagellées. Le cycle de vie est digénétique isomorphe.
- **Taille** : Commune de 10 à 30 cm; et peut atteindre 1 m dans les stations calmes et eutrophisées. (W. Fischer et M. Schneider 1987).

4. Habitat et écologie :

C'est une espèce des étages médiolittoral et infralittoral supérieur, se développant en abondance dans les stations riches en sels nutritifs. Elle est considérée comme indicateur de pollution.

5. autres caractéristiques :

Individu adulte de taille petite ou moyenne (inférieure à 50 cm) et **foliacé**: le thalle est, en très grande partie, formé d'une ou plusieurs feuilles toujours d'épaisseur faible par rapport à la largeur et à la longueur (cette dernière est en général inférieure à 3 fois la largeur du thalle).

6. Récolte et utilisation :

Récoltée à la main Compte-tenu de son importance dans les “marées vertes” liées en partie à l'augmentation des sels nutritifs dans certaines eaux côtières, de grandes quantités de ce matériel algal sont disponibles. Utilisation potentielle dans l'alimentation humaine sous forme de salade, dans l'alimentation animale, et médicale en raison des vitamines C et B1 et des substances antimicrobiennes. Matériel qui pourrait facilement être cultivé par aquaculture pour la production de biomasse.

6.1. Note :

Ulva rigida est l'espèce la plus fréquente en Méditerranée, également en atlantique mais elle a été confondue au départ à l'*ulva lactuca* (Linnaeus,1973), où les spécialistes dans le domaine ont parvenu à établir la différence entre les deux espèces très voisines (par leur aspect physique).

Cependant, comme ces deux espèces présentent expérimentalement le même intérêt économique, elles risquent toujours d'être confondues.

CHAPITRE 5

Méthodes d'indentification des caroténoïdes

1. Méthodes d'identification des caroténoïdes

Nous pouvons citer les différentes techniques d'identification :

1. chromatographie liquide à haute performance, qui fait l'objet de notre travail.
2. chromatographie d'absorption sur colonne.
3. chromatographie sur couche mince.

2. Chromatographie liquide a haute performance (HPLC):

High performance liquid chromatography, Ou haute résolution; haute pression; sont les même noms que ceux qui sont utilisés dans la Chromatographie sur échangeur d'ions ou la chromatographie par exclusion (diffusion). Elle constitue une technique de séparation très générale d'emploi. Elle correspond à une évolution de la chromatographie préparative sur colonne dont les performances (efficacité, facteur de résolution, donnés d'analyse) se sont trouvées grandement améliorées par l'utilisation d'une haute pression et de phases stationnaires très élaborées.

L'échantillon doit être totalement soluble dans la phase mobile qui sera appelé : solvant d'élution ; celui-ci doit être passé à haute pression afin d'assurer un débit constant dans la colonne et y éviter toute perte de charge.

La chromatographie liquide à haut performance classique fait intervenir des mécanismes d'échange soluté /phase mobile /phase stationnaire basés sur les coefficients de partage ou d'absorption selon la nature des phases présente.

La détection fait appelle à une spectrophotométrie UV/visible à longueur d'onde variable ou encore à des appareillages à barrette de d'iode permettant des analyses spectrales en trois dimensions et aussi de vérifier la pureté de chaque pic. -le choix d'un étalon interné satisfaisant demeure une difficulté lorsqu'on veut passer à une analyse quantitative des constituants de l'échantillon à analyser.

2.1. Principe de la méthode :

Cette méthode chromatographique permet de séparer les constituants d'un mélange en utilisant les différences entre les constantes d'équilibre de ces composés lors de leurs partage /adsorption entre une phase mobile (liquide) dans laquelle ils sont solubles ; et une phase dite fixe ou stationnaire (liquide/solide) qui exerce sur eux un effet retardateur. Les interactions mises en jeu peuvent être de différentes natures : dipole-dipole, hydrophobes, liaison hydrogène.....

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt en permanence le système chromatographique. Le mélange de solutés dissous dans un solvant, est injecté par l'intermédiaire d'une vanne, puis transporté au travers du système chromatographique. Au niveau de la colonne les composés en solution se répartissent selon leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. Le signal enregistré à la sortie d'un détecteur approprié (U.V. ou autre) après passage du soluté à analyser à travers la colonne, a la forme d'un pic constituant un chromatogramme.

2.2. Composition d'un appareil de HPLC

Au cours des dernières années, cet appareillage a connu un développement important par le degré de perfectionnement et d'automatisation lié à l'utilisation des microprocesseurs, en particulier dans le domaine de la détection.

Le schéma de principe d'un appareil d'HPLC est illustré dans la figure suivante :

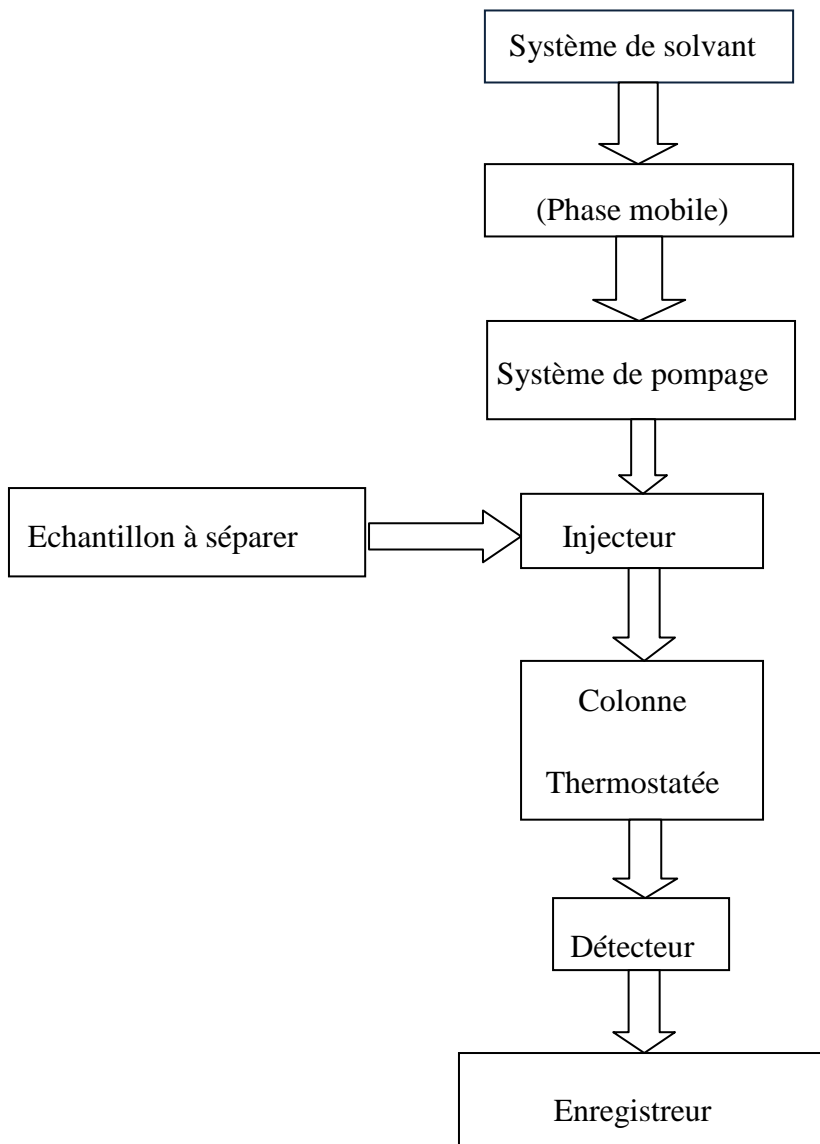


Figure n^o11 : Schéma de principe d'un chromatographe en phase liquide

Deuxième partie :
partie
expérimentale

CHAPITRE 6

MATERIELS ET METHODES

1. Zone d'étude :

1.1. Situation géographique:

La baie d'EL Djamila se situe à une trentaine de kilomètres à l'Ouest d'Alger, elle représente le quart oriental de la baie de Bousmail. C'est une baie relativement fermée, limitée à l'Ouest par la presqu'île de Sidi-Fredj et à l'Est par Ras Acrata. Son rivage est orienté Sud-ouest et ses coordonnées Lambert sont (Bellahsene et Messaoudi, 2005) (Medjoudj nadjjet, 2008)

$20^{\circ}50' .744''$ est et $36^{\circ}45'43.092''$ Nord (port sidi-Fredj)

$2^{\circ}53'42.792''$ Est et $36^{\circ}48'5.796''$



Figure n^o11 : localisation géographique de la zone de prélèvement

1.2- Le choix de la station et de la méthode de prélèvement:

A. Le choix de la station d'échantillonnage :

Etant donnée la multiplicité des paramètres physico-chimiques et bactériologiques une seule station, a fait l'objet d'un prélèvement représentatif.

Le prélèvement a été fait en avril 2010, période où le développement de l'algue faisant l'objet de notre travail (l'ulve) est intense (Voir figure n 11).



Figure n 12 : localisation du point de prélèvement

2. Échantillonnage :

notre étude a été réalisée sur une algue verte qui est connue sous le nom scientifique d'*Ulva lactuca*, sur laquelle le choix a été porté vu sa richesse en caroténoïde ainsi que la disponibilité et l'abondance de ce genre d'algues sur les côtes algéroises.

L'exploitation des prélèvements a pour objectif l'utilisation de cette algue après séchage pour extraire les caroténoïdes.

2.1 Méthode de prélèvement :

L'échantillon destiné à l'extraction (*Ulva lactuca*) a été prélevé à la main puis mis dans un fût en plastique de 10 litres, lors de la collecte on choisit des grandes algues (feuillues de grande taille) et dont la couleur est plus foncée ce qui correspond à un jeune âge.

L'échantillonnage a été effectué quelques dizaines de centimètres de la surface (15 à 60 Cm).

2.2 Préparation de l'échantillon :

Pour obtenir la matière séchée, nos échantillons doivent passer par les étapes suivantes

a/lavage et conservation de l'échantillon :

Le but du lavage est de débarrasser l'échantillon de tous épiphytes (végétales, animales, invertébrés, substances calcaires...etc.) même des espèces qui vivent en symbiose. Les algues sont lavées à grande eau (eau de robinet), puis égouttées.

b/séchage :

Le séchage a été fait à l'air libre et à l'ombre (pour éviter la dégradation des différents pigments caroténoïdes) et ce pour une durée de un mois.

c/broyage :

Les algues séchées sont pilées dans un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre pouvant passer à travers un tamis de 200 μ m de diamètre.

d/conservation :

La poudre obtenue est stockée dans des bocaux ombrés, mis par la suite dans un dessiccateur à l'abri de l'humidité.

3. Extraction et analyse des caroténoïdes

- Extraction des caroténoïdes à partir de l'ulva lactuca :

L'extraction des caroténoïdes a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie (ENSSMAL, Daly Ibrahim).

La méthode adoptée pour l'extraction des caroténoïdes a été choisie en faisant une combinaison entre plusieurs protocoles comme base de données bibliographiques qui ciblent l'extraction des caroténoïdes à partir de différentes matières premières.

On cite celui de Victor et al ; 1995. Et Hongxia Li et al 2004 Boukhercoufa et Tebakh 2005 ; Yvonne V. Yuan et al ; 2006, Andréia Assuncao Soares et al 2008. D'après ces études faites sur ce sujet on arrive à obtenir notre propre méthode d'extraction,

L'auteur (Laura Jaime et Irene Rodriguez et al ; 2009) a constaté que l'extraction par éthanol pur est d'un rendement plus élevé par rapport aux solvants (mélange binaire)

- A partir de ceci, nous avons jugé utile d'opérer l'extraction des caroténoïdes en utilisant une fois un solvant pur qui est l'éthanol et une autre, un solvant binaire : éthanol : hexane). à proportions égales comme il est montré dans l'organigramme porté dans la figure n11.

4.1. Mode opératoire : l'extraction a été élaborée sur trois types d'échantillons de la même espèce (Ulva lactuca).

Dans ce travail on a fait deux types de traitement pour chaque échantillon :

Le premier échantillon : algue séchée à la température ambiante

Le deuxième échantillon: algue séchée à l'étuve à une température de 105 C⁰

Le troisième échantillon : algue lyophilisée

4.1.2. Extraction par macération en utilisant un solvant constitué d'un mélange binaire (éthanol : hexane) :

Une prise d'essai de 20g de l'échantillon broyé (poudre) est mise en contact avec 40ml d'hexane-éthanol (1:1) dans un erlen-Meyer tout en assurant l'agitation par un barreau aimanté (technique de macération) pour une durée de 30 minutes.

-le mélange est filtré par la suite puis lavé et relavé au solvant jusqu'à décoloration du

résidu (échantillon épuisé au 3^{ème} au 4^{ème} lavage).

-le mélange est transvasé dans une ampoule à décantier avec l'ajout de 25 ml d'hexane et 20 ml d'eau distillée. Puis bien agité manuellement pendant une minute.

-après décantation on obtient deux phases distinctes: Phase organique (phase supérieure); phase aqueuse (phase inférieure). voir annexe 1 photo n°10

-la phase aqueuse est réextraite 2 à 3 fois de suite par 40 ml de solvant éthanol-hexane (1:1) afin d'en extraire toute trace de caroténoïdes contenue.

-après ajout de Na₂SO₄ à la phase organique recueillie (pour éliminer les molécules d'eau existantes), on filtre cette dernière.

-Le filtrat obtenu est évaporé à sec à l'aide d'un rotavapeur à 40 C⁰, sous vide, afin d'obtenir notre fraction de caroténoïde exempte en solvant. Enfin pour récupérer notre extrait, on ajoute 5 ml d'éthanol, et on conserve au frais. L'extrait solubilisé dans l'éthanol est envoyée ensuite pour l'analyse.

-analyse par spectrophotomètre. (détermination de la longueur d'onde et l'absorbance).

-le concentré de l'échantillon est mis dans un HPLC pour déterminer leurs absorbances est donc déterminer leur teneurs en caroténoïdes.

4.1.3. Extraction à l'éthanol pur :

Il s'agit du même protocole d'extraction que le précédent, par macération, on change uniquement le solvant d'extraction de manière que le mélange (1 :1) soit remplacé par l'éthanol pur.

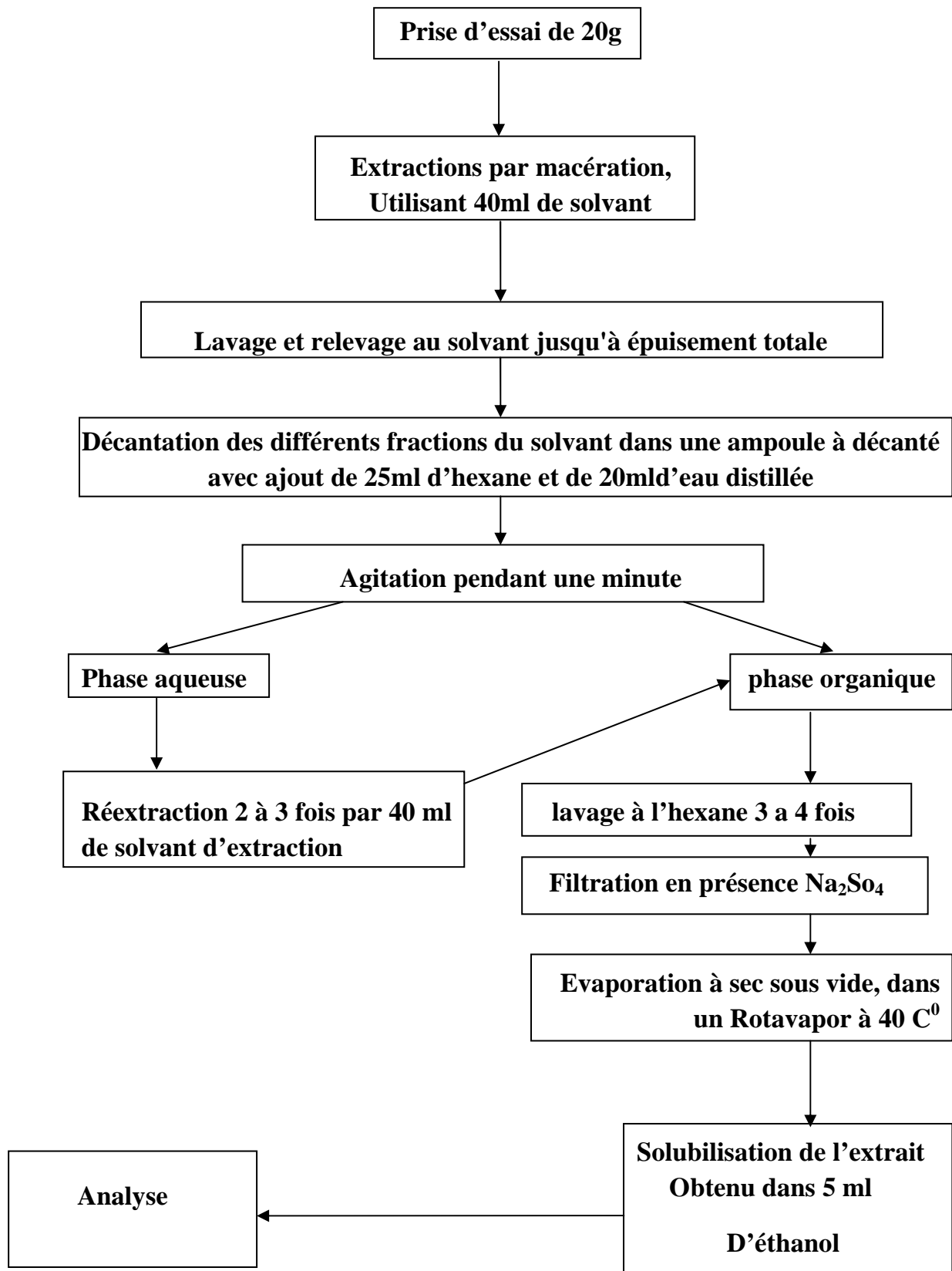


Figure n13: méthodes d'extraction adopte dans notre travail.

5. Analyse des extraits obtenus :

Les deux analyses concernées ont été faites au laboratoire de biochimie, de l'université de Constantine (Mantouri).

5.1. Analyse par spectrophotométrie dans l'ultra violet :

Avant de passer à l'analyse HPLC, utilisant un détecteur U.V., il nous a été indispensable de tester nos échantillons (extraits) vis-à-vis de leur absorbance dans le domaine de l'U.V ; et même de déterminer la longueur d'onde optimale dans laquelle ils absorbent pour pouvoir travailler en HPLC. Pour ce faire, nous avons utilisé un spectrophotomètre dont les caractéristiques sont les suivantes :

U.V-160A (UV-visible Recording Spectrophotometer SHIMADZU)

Dimension de la cuve = (1x1x3) cm³

$\lambda = 100-200$ nm.

5.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

Pour l'analyse chromatographique liquide, nous avons utilisé un appareil HPLC, PE NELSON 1022 LC Plus. U.V-160A SHIMADZU. Applied Biosystèmes 785A Programmable Absorbance Détecteur.

Cette analyse a été effectuée dans les conditions opératoires suivantes :

- Phase mobile : Acétonitryle- méthanol
- Phase stationnaire : nous extrait
- La colonne : NUCLEOSIL3, C3, L : 100mm, D.I :4.6mm
- Détecteur U.V ; à une longueur d'onde de 411.5 nm.
- Mode : gradient d'élution.

Composition de la phase mobile (A : B) en %	90 :10	30 :70
Temps en minute	00	12

CHAPITRE 7

Résultats et discussions

1- Rendements d'extraction :

Les rendements d'extraction ont été calculés sur la base l'équation suivant :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{masse du végétal utilisée pour l'extraction}}{\text{masse de l'extrait sec obtenue après extraction}} \times 100$$

Masse de l'extrait sec obtenu = (poids de ballon avec l'extrait après évaporation) - (poids net de ballon)

Les différents rendements sont présents dans le tableau n°3 :

Tableau3 : rendement d'extraction des différents échantillons :

Masse de végétal utilisé en g	Mode de séchages	Solvant utilisé lors de l'extraction	Rendement en%
20	à l'air libre	Ethanol, hexane	0.950
20	à l'air libre	Éthanol	0.150
20	105 °C	Ethanol, hexane	0.240
20	105 °C	Éthanol	0.180
20	Lyophilisée	Ethanol, hexane	0.270
20	Lyophilisée	Éthanol	0.003

On remarque que le rendement d'extraction des caroténoïdes à partir d'algues séchée naturellement à l'air libre (utilisant le mélange éthanol, hexane comme solvant d'extraction) dépasse de loin les autres rendements d'extraction, alors que le rendement d'extraction de l'algue lyophilisée, utilisant seulement l'éthanol comme solvant d'extraction ; est le plus faible (0.003%).

Donc quantitativement, l'extraction utilisant le mélange binaire (éthanol-hexane) à partir l'algue séchée à l'air libre et à l'ombre, est la meilleure par rapport aux autres extractions élaborées.

2. Analyse par Spectrophotométrie ultra violet (U.V) :

2.1. Identification des différents spectres :

Les absorbances obtenues expérimentalement pour différentes longueurs d'ondes des pigments caroténoïdes pour chaque échantillon, sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Extraits d'algues séchées	Absorbance (nm)	Longueur d'onde (nm)
à l'air libre (1 :1)	2.388	411.0
à l'air libre (pur)	2.078	406.5
105 ⁰ C (1 :1)	2.030	412.5
105 ⁰ C (pur)	1.840	411.5
Lyophilisé (1 :1)	1.475	412.0
Lyophilisé (pur)	2.000	411.5

Il est clair que les constituants de nos extraits absorbent dans le domaine U.V pratiquement aux mêmes alentours (à une moyenne de 411nm).

L'analyse de nos échantillons (extraits) par spectrophotométrie U.V a révélé que l'Ulva lactuca renferme une quantité de caroténoïdes qui correspondent aux longueurs d'onde trouvées (411.0nm, 411.5nm, 412.0nm, 412.5nm) voir les figures 1-6 dans annexe 2.

On remarque que ces valeurs sont très proches à celles trouvées chez la micro algue Haematococcus pluvialis. La chlorophyllic a et b derivative absorbant à une longueur d'onde de 400nm, 408nm et 414nm U.V visible. La chlorophyllic a derivative à absorbe une longueur d'onde de 398 et 410 nm et le β -carotène à une longueur d'onde de 400 à 430nm, d'après (L. Jaime et I.Roderiguez et al ;2009).

En effet la spectrophotométrie d'absorption, a été efficace pour la détermination de la longueur d'onde avec laquelle on peut travailler en HPLC.

3- Analyse des extraits par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance a donnée des chromatogrammes différents quant à la composition des six échantillons analysés.

On remarque l'existence de trois pics différents (en outre du pic du solvant).

- Un premier au alentour 2.9 min qui apparait dans l'échantillon d'algues lyophilisé et étuvé à 105⁰ C pour les deux types de solvants (binaire, pur). Et qu'on ne retrouve pas dans l'échantillon séché à température ambiante avec la meilleure séparation se situant au niveau de l'échantillon d'algues étuvé à 105⁰C utilisant un solvant pur (éthanol).voir Annexe 2.
- Une second à 3.8 mn d'une très faible intensité qui persiste dans l'échantillon d'algue lyophilisé ainsi que celui de l'algue séchée à une température ambiante (solvant pur et binaire), mais qui est absent au niveau de l'algue étuvé à 105⁰C, voir annexe 2.

- Un troisième et dernier, à un temps de rétention de 8,08 minutes qui n'apparaît que dans l'échantillon d'algues séchées à température ambiante.
- Ces différences dans les résultats obtenus indiquent l'impact du mode de séchage de l'algue sur la composition des extraits obtenus ainsi que l'effet de la nature du solvant d'extraction utilisé (éthanol pur ou éthanol/hexane).

Ainsi, il apparaît une probabilité de présence de trois types de caroténoïdes différents composant l'ensemble de nos échantillons considérés qui restent indéfinis, vu l'absence de produit étalons, qui auraient servi à leur identification.

Conclusion :

L'exploitation des algues marines à des fins alimentaires et commerciales (additifs alimentaires, pharmaceutique et cosmétiques) a fait qu'on s'est précisément intéressé à l'étude d'une famille de leurs constituants qui sont les pigments caroténoïdes.

Les caroténoïdes par leurs rôles nutritionnels, photo protecteur, agent colorant et antioxydant, ont fait que plusieurs chercheurs s'y sont intéressés.

Les algues marines telles que les algues vertes constituent une source disponible et facile à obtenir pour en extraire les caroténoïdes.

-Notre contribution dans cette étude, s'est axée sur l'essai de la mise au point des techniques d'extractions et de séparation par la HPLC. Il s'agit d'une technique simple et rapide de séparation, mais demandant la présence impérative d'étalons afin d'aboutir à l'identification des constituants séparés.

Néanmoins, elle nous a permis d'envisager sur la base des résultats obtenus dans nos échantillons étudiés, la probabilité de présence de quelques caroténoïdes tels que : la chlorophylle a et b dérivative, ainsi que le β -carotène (en se basant sur le maximum d'absorbance de ces constituants). Ce qui correspond aux mêmes résultats trouvés par L. Jaime et I. Rodriguez ; 2009, car il s'agit des mêmes longueurs d'onde pour ces pigments (par comparaison).

-La technique d'identification des caroténoïdes par la chromatographie liquide à haut performance est une méthode puissante d'analyse du point de vue qualitatif et quantitatif quand elle utilise les étalons nécessaires, cependant à défaut de moyens, et par manque d'étalons on ne peut confirmer qualitativement ni quantitativement les caroténoïdes séparés.

A la lumière de ces résultats obtenus après un essai d'analyse spectrophotométrique et chromatographique (HPLC), il serait intéressant de poursuivre ce travail d'une part de manière à vérifier la reproductibilité de la technique utilisée pour séparer et identifier

les différents pigments, et d'autre dans le sens d'appliquer et d'utiliser des techniques complémentaires telles que la chromatographie de partage sur colonne et la chromatographie sur couche mince.

Il convient aussi de comparer ces résultats sur la même espèce mais vivant dans des milieux différents, à des périodes différentes de l'année et d'élargir l'échantillonnage à d'autres espèces.

Références bibliographique

- **ANDREIA A et GISELE P ; 2009.** « Antioxydant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei Murriel*) in two stages of maturity»
Food chemistry 112(2009) Pp: 775-781.
- **AMEUR F ; 2005.** «contribution a l'étude de la variation saisonnière de la composition biochimique de quelques algues des cotes algériennes »
Mémoire d'ingénieur, Saad Dahlab Blida;p.p:26-34
- **ARNAUD MULLER ; 1997.** « micro algues marines, les enjeux de la recherché ».
Ed. INFREMER, p.p. 27-28.
- **BENCHOUK D et BENKHEROUF ; 1996.** « extraction par solvants des caroténoïdes à partir d'écorces d'oranges »,
Mémoire d'ingénieur.INA, El-Harrach, p.p. 17-22,30-38,48-56,61-74.
- **BENYOUNES W et SADOON A ; 2005.** « culture de la spiruline et détermination de certain composés biochimiques ».
Mémoire d'ingénieur. ISMAL, Daly Brahim
- **BOUKHERCHOURA N et TEBAKH F ; 2005.** « Extraction et identification de certains pigments caroténoïdes a partir d'algues brunes ».
Mémoire d'ingénieur, ISMAL, Daly Brahim.
- **BOUMEDIANE A ; 1991** « valorisation des sous produits d'agrumes par extraction Caroténoïdes ».
Mémoire d'ingénieur.INA.EL-Harrach, p.p. 9-11,16-18,26-28.
- **BOISVERT, C., 1988.** « Les jardins de la mer, du bon usage des algues »,
Paris, 1988, p.p. 212.
- **DJBALI M et HAMMOUCHE ; 1997** « effet d'un herbicide : le Norflurazon sur la teneur en pigments foliaires, en protéines, en nitrites et sur l'activité nitrate réductase d'une légumineuse le soja glycine max »
Mémoire d'ingénieur. USTHB, Alger,p.p :11-12,31.
- **EN CARTA.** 2005. CD en carta.2005.2008
- **FERG C HUA-BIN.L ; 2005.** « Isolation and purification of the bioactive carotenoid zeaxanthin from microalga *Misrocystis aeruginosa* by figh-speed counter-current chromatography»
Journal of Chromatography A, 1064(2005), Pp: 183-186.
- **HONGXIA L et TYNDALE T ; 2005.** « Determination of carotenoids and all-trans-retional in fish agges by liquid chromatography-electrospray ioniziation-trandem mass spectrometry. »
Journal of chromatography B, 816(2005) Pp : 49-56.
- **JOLIVET.E et MOROT GAUDRY.J.F. ; 1991.** « Les extraits d'algues marines : propriétés phytocides et intérêt agronomique ».
In : Année biologique T30-FASC 2.Pp109-126.

- **Gaël RUIZ** ; 2005.Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges.
Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges ; P : 10-16.
- **GHAZI F. et SAHRAOUI S.** ; 2005. « Evolution des composés phénoliques et des Caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes »
Mémoire d'ingénieur .INA, EL-Harrach-p : 13,40-49.
- **KARNPROBST J-M**, 2005 ; « substances naturelles d'origine marine. Chimio diversité/pharmaco diversité/biotechnologie ». T.1.
- **LAROUSSE AGRICOLE.**, 1981. Librairie Larousse, 1981. Paris. Pages 21-28.
- **L.Jaime, Irene Rodriguez**, 2009 « Perssurized liquids as an alternative process to antioxidant carotenoids extraction from Haematococcus pluvialis microalgae »
Food science and technology, universitie Autonoma de Madrid V118.
- **W. Fischer et M. Schneider et M.-L. Bauchot ; 1987.** « Mediterranee et mer noire Zone de Pêche 37 Révision 1 V. I
(VEGETAUX ET INVERTEBRES p.p.108-124.
- **Mdjoudj N**, 2008, « analyse des eaux côtières pour la mis en place d'un élevage aquacole au niveau de la plage ouest de sidi fredj », Rapport de DEUA.ISMAL.Dely Ibrahim.
- **PEREZ, R.**, 1997. « Ces algues qui nous entourent (conception actuelle, rôle dans la biosphère, Utilisation, culture) »
Ed. Ifremer, 1997. Plou Zané France. Pp 272
- **Yvonne V. Yuan**, 2006 « Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of seaweed »
Food and chemical toxicology,Reyrson University, Canada, V59, P 78-98

Site d'internet :

Source: Business Communications Company Inc. www.bccresearch.com/editors/RGA-110.html

www.INRA.fr les antioxydants dans l'alimentation.

www.CEVA.fr centre d'étude et de valorisation des algues.

.DIRECTIVE 2004/47/CE DE LA COMMISSION

-du 16 avril 2004 modifiant la directive 95/45/CE en ce qui concerne les carotènes mélangés [E 160 a (i)] et le bêta-carotène[E 160 a (ii)] (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

Journal officiel de l'Union européenne 20.4.2004

www.SFA.com Société Française des Antioxydants

www.intechmer.cnam.fr Institut national des sciences et techniques de la mer

www.sgs-multilab.com Euroforum, Paris – le 12 octobre 2004

Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits

www.berkem.com EXTRACTION VEGETALE SUR-MESURE POUR L'AGROALIMENTAIRE

www.google.com HPLC/ utilisation/ caroténoïdes/extraction des caroténoïdes/chromatographie/ les vitamines/

www.elsevier.com /locate/chromb/journal of chromatography B, 816(2005)49-56.

www.sciencedirect.com food chemistry /seaweed/carotinoides

Annexe 1



Photo N1 : lieu de prélèvement Sidi Fredje plage ouest



Photo N2 : l'ulva lactuca lavée et près au sechage

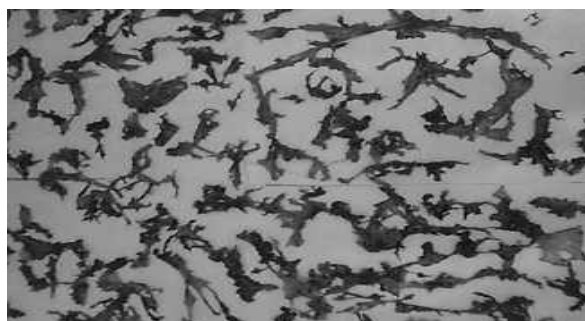


Photo N3 : l'ulva lactuca séchée à la température ambiante et à l'abri de la lumière et l'air



Photo n4 : l'ulva lactuca a l'interieure du lyophilisateur.



photo n5 : broyage de l'echatillon dans un mortier



Photo N6 : étape de percolation et filtration



photo N7 : filtration de residu sur papier filtre



Photo N8: décantation dans une ampoule à décanter a fin de séparer la phase organique et phase aqueuse



Photo N9: concentration de l'extrai au rotavapor.

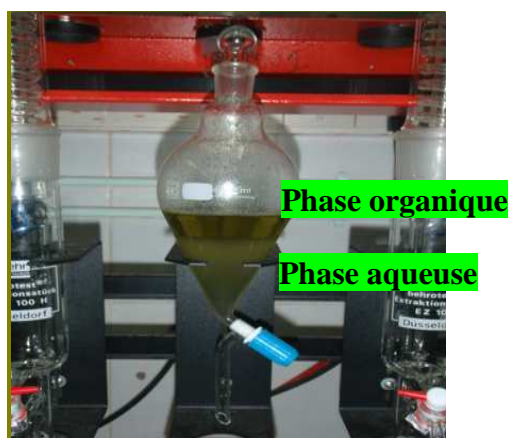


Photo N10: Le mélange biphasique obtenu lors de l'extraction décantation.



Photo N11 : filtration du résidu en présence de Na_2SO_4



Photo N12 : rotvaporation et recuperation des solvants



Photo N13 : extrait sec obtenu



Photo N14 : les six extrait obtenu après extraction



Photo N15 : etape de filtration



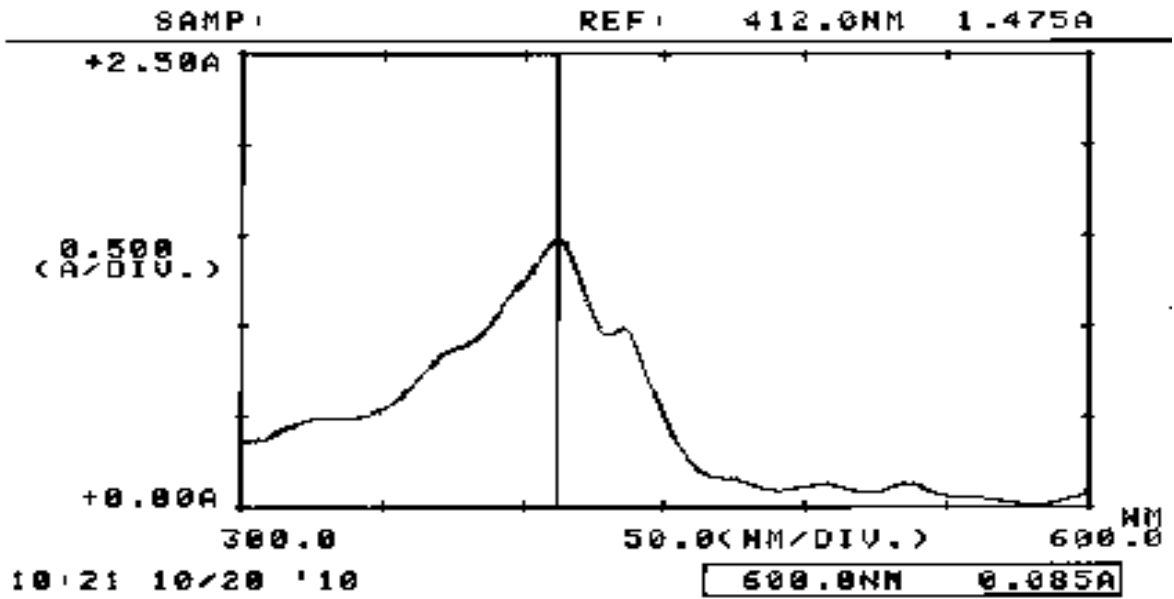
Photo n 16 : appareil d'HPLC utilisée (U.V VIS).



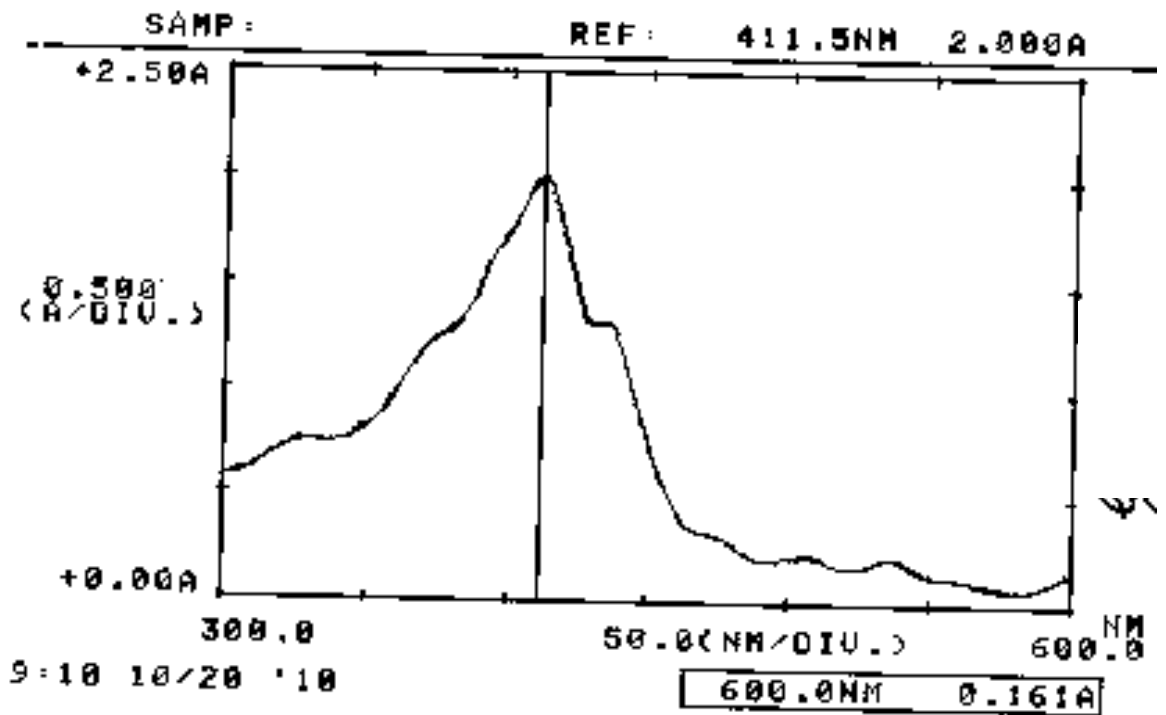
Photo n 17 : spectrophotomètre UV VIS

Annexe 2

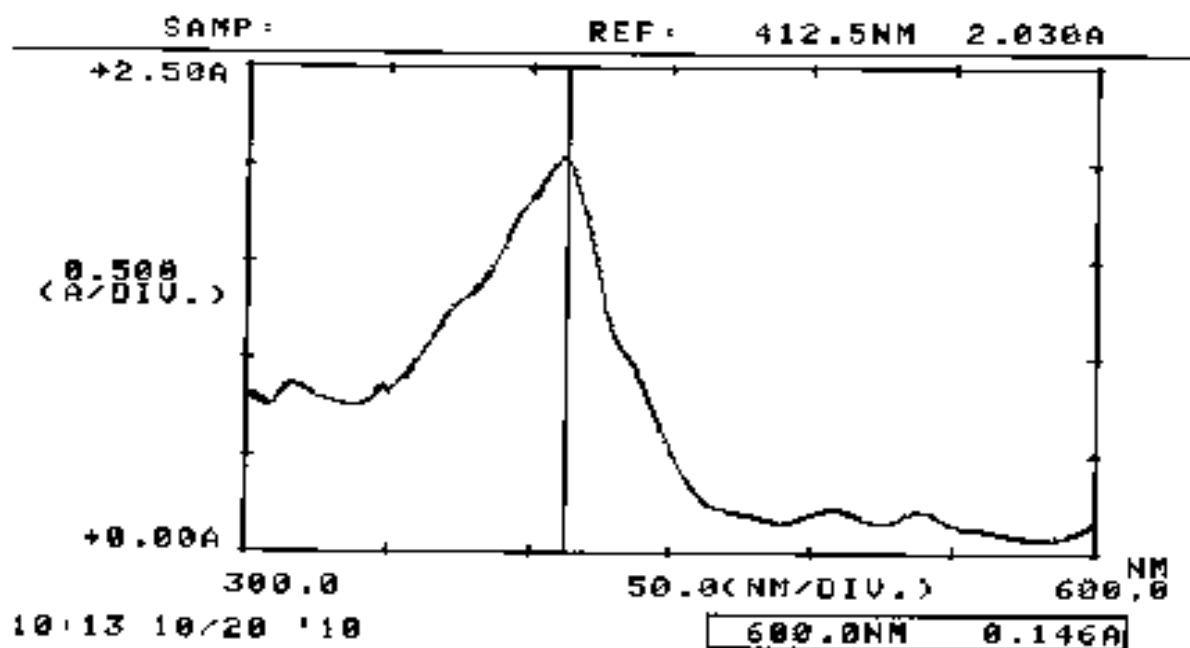
-Les différentes courbes d'absorption obtenue par spectrophotométrie :



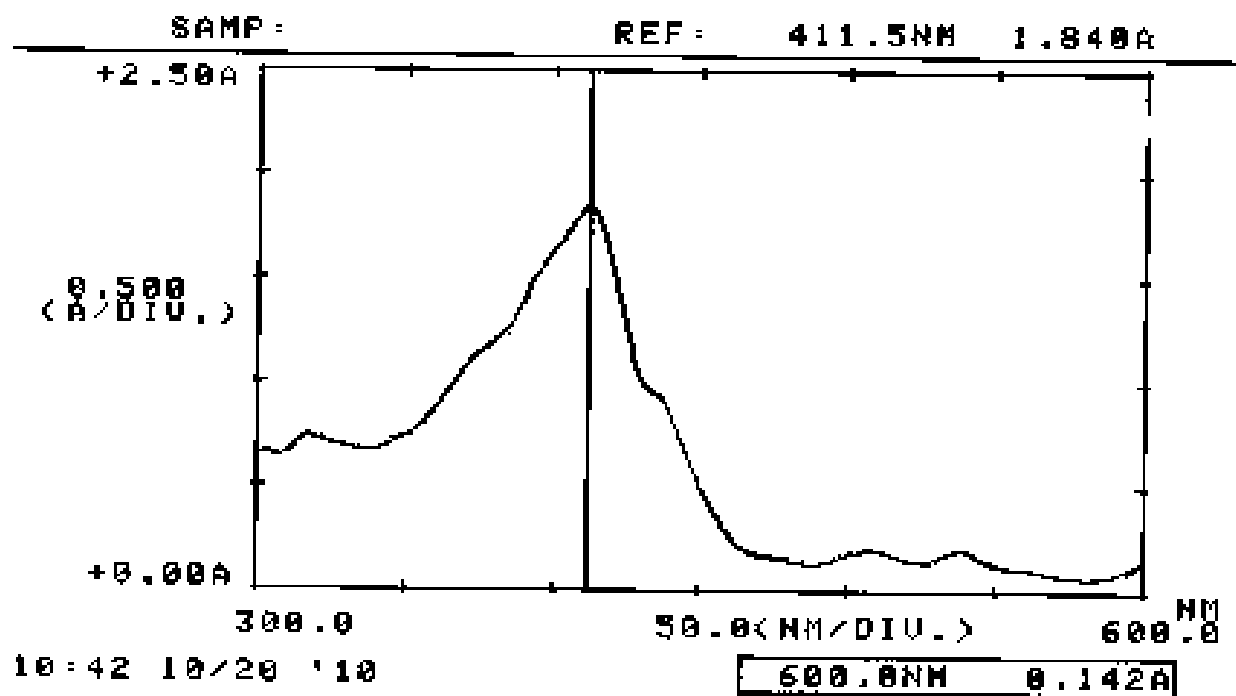
- Spectre U.V de l'extrait d'algue lyophilisée (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1)).



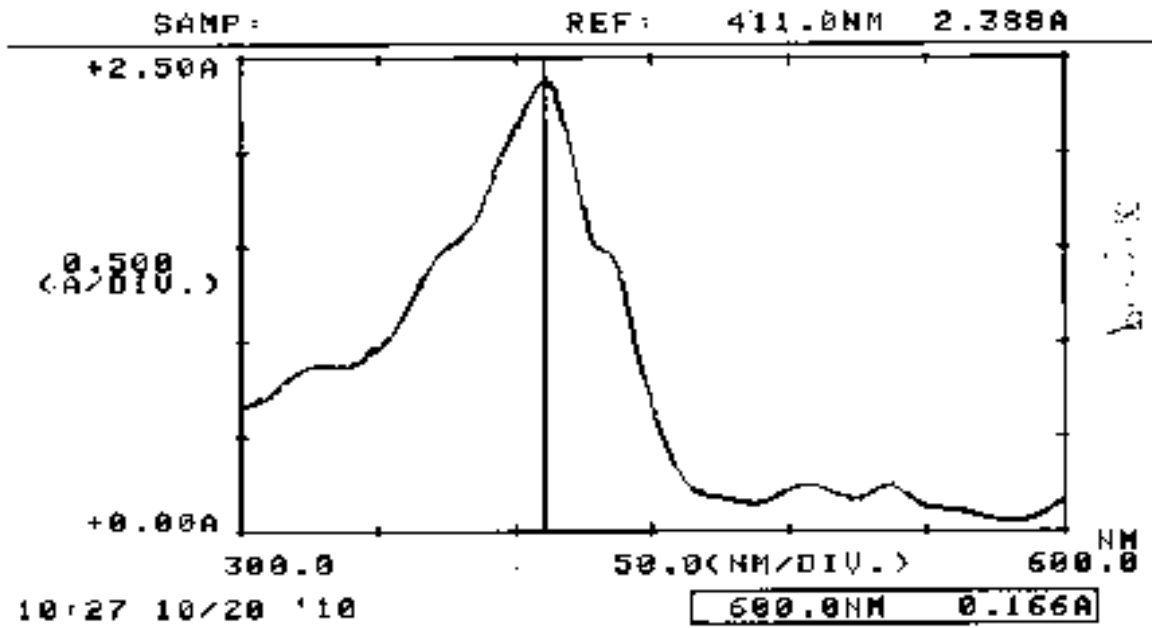
- Spectre U.V de l'extrait d'algues lyophilisée (éthanol pur).



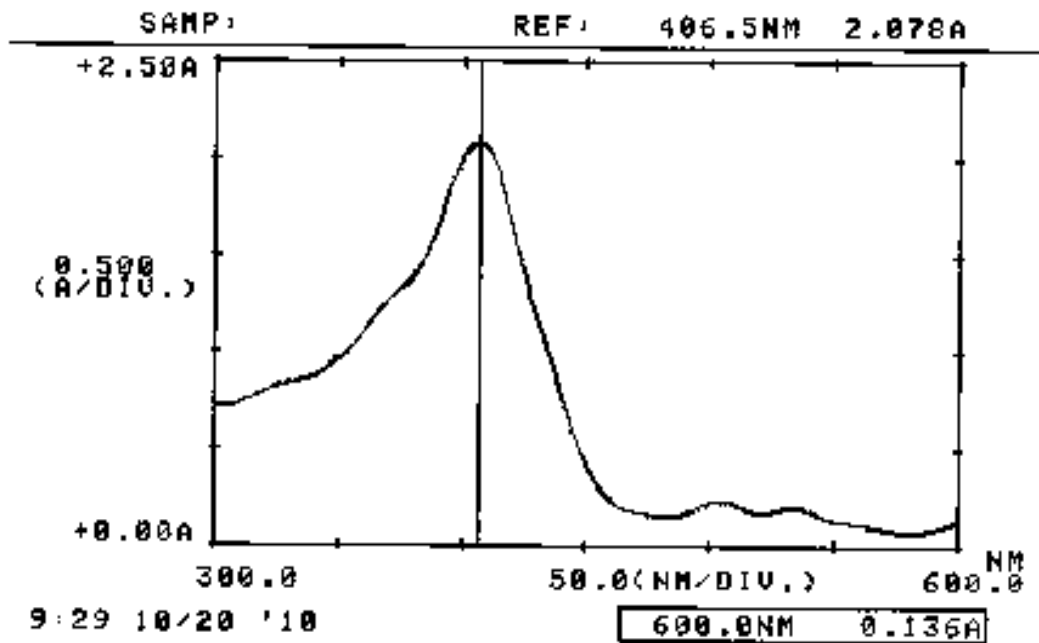
- Spectre U.V de l'extrait d'algue étuvée à 150°C (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1))



- Spectre U.V de d'extrait d'algue étuvée à 150°C (éthanol pur).

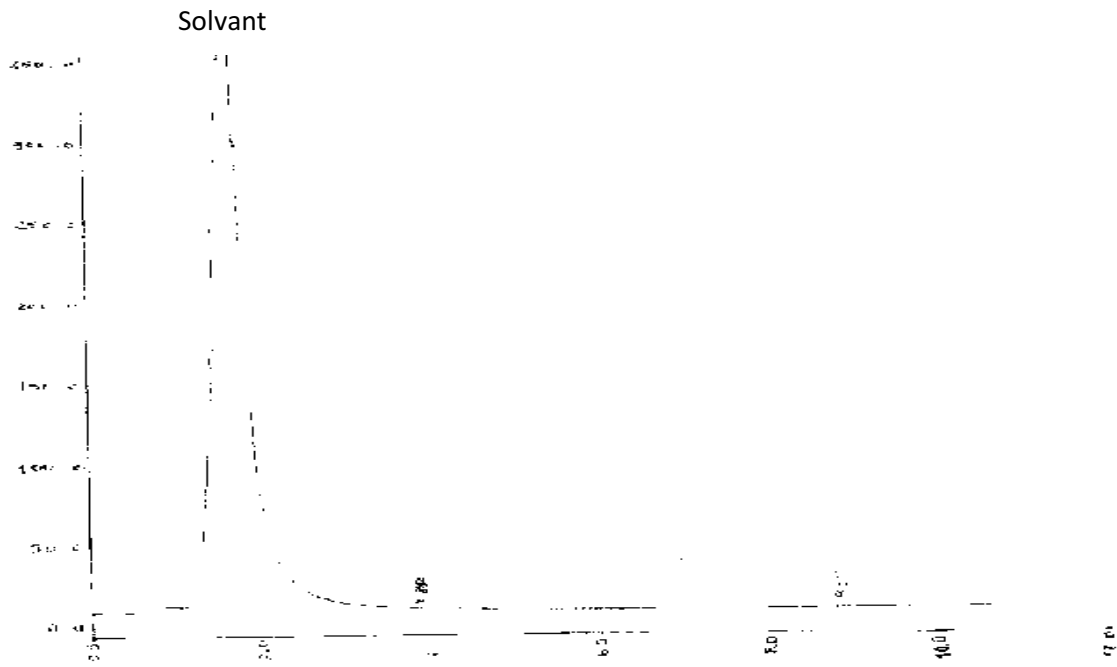


- Spectre U.V de l'extrait d'algue séchée à la température ambiante (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1)).

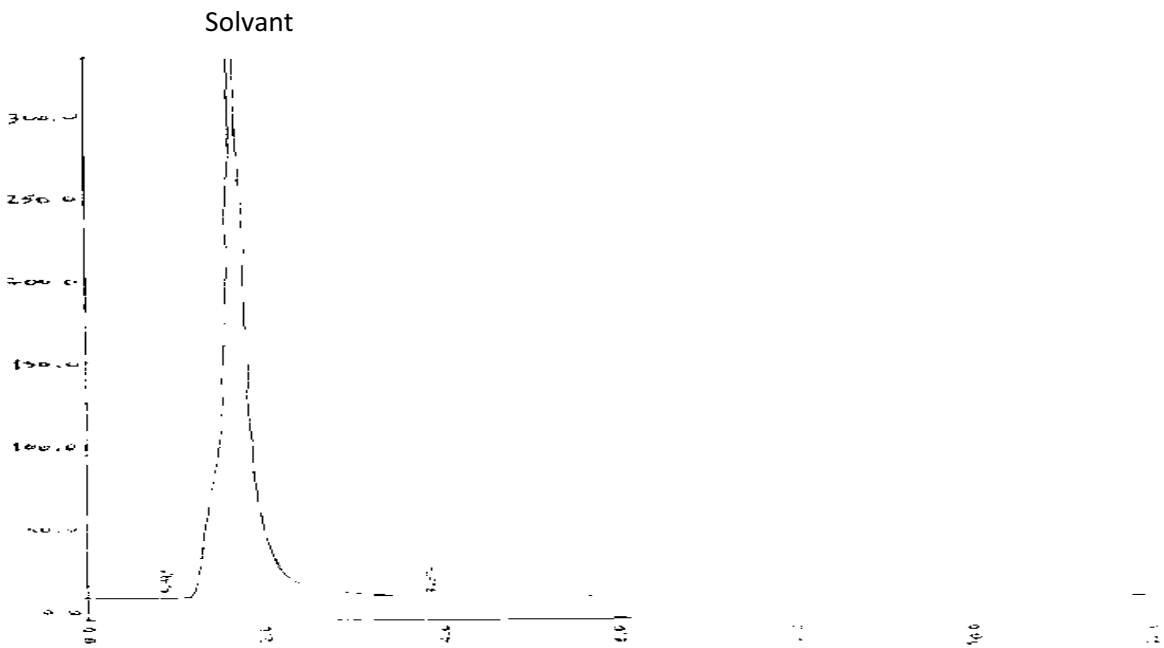


- Spectre U.V de l'extrait d'algues séchée a la température ambiante (éthanol pur).

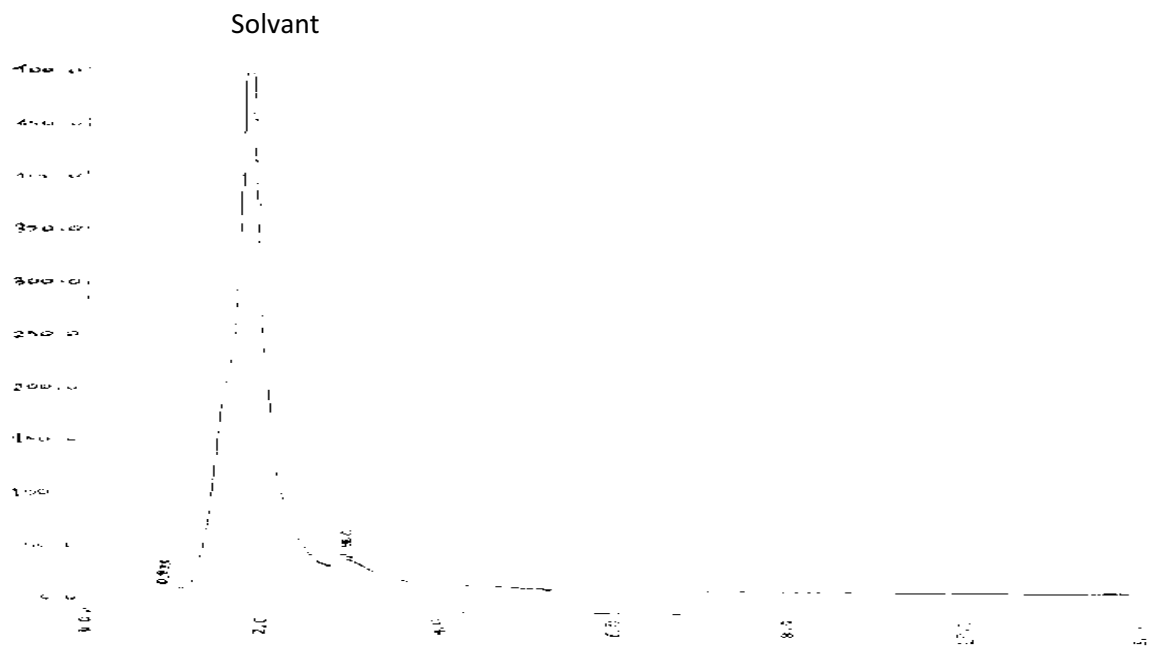
- Les différents chromatogrammes obtenus par HPLC :



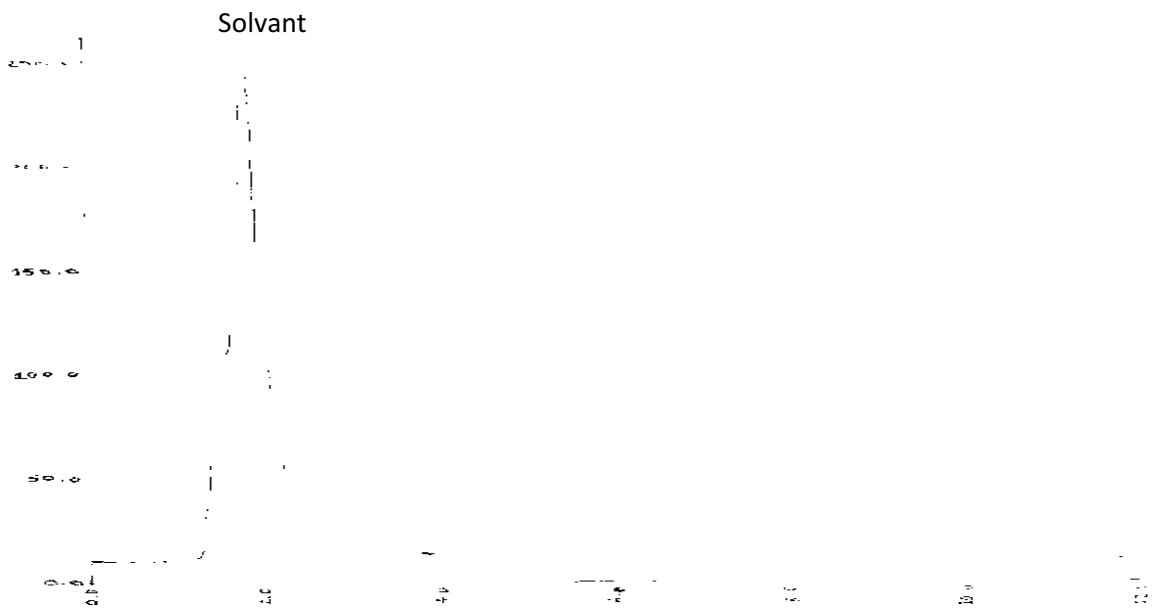
- Chromatogramme de l'extrait d'algue lyophilisée (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1)).



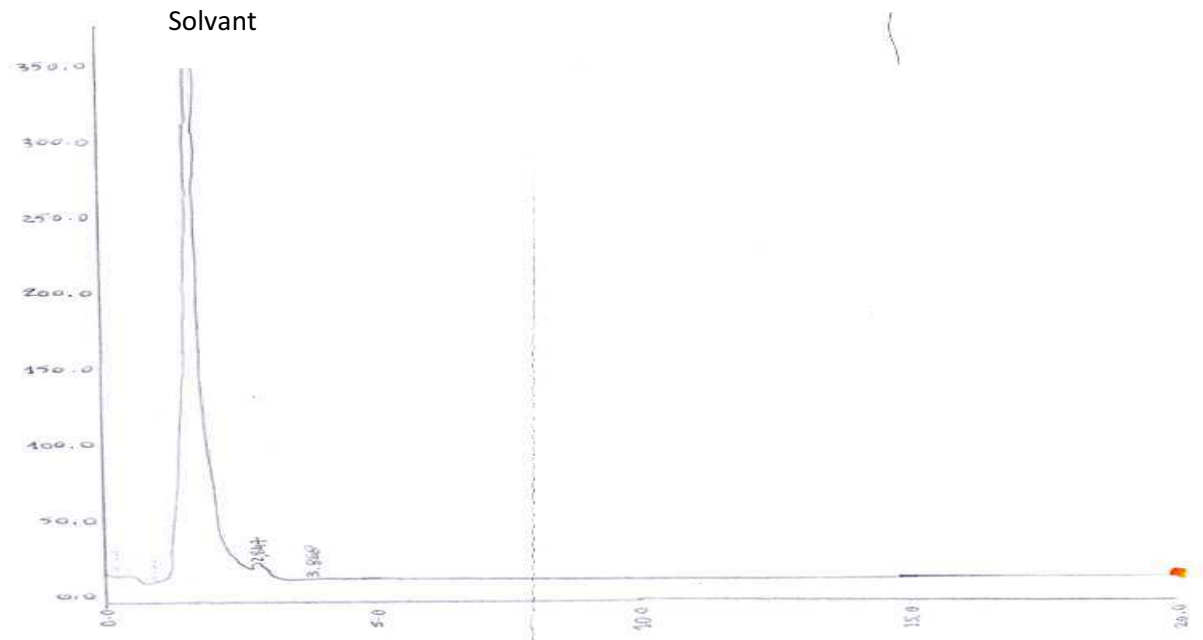
- Chromatogramme de l'extrait d'algue séchée a la température ambiante (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1)).



- Chromatogramme de d'extrait d'algue étuvée à 150⁰C (éthanol pur).



- Chromatogramme de l'extrait d'algue lyophilisée (éthanol pur).



- Chromatogramme de l'extrait d'algue séchée à la température ambiante (éthanol pur).



- Chromatogramme de l'extrait d'algue étuvée à 150⁰C (mélange binaire éthanol/hexane (1 :1))