



Juin 2008

## MÉMOIRE DE MASTER

# Étude de la teneur en composés phénoliques et du potentiel antioxydant associé à ces composés, de plusieurs espèces de Sargassaceae du Pacifique Sud

# CRISP



Coral Reef InitiativeS for the Pacific  
Initiatives Corail pour le Pacifique



La cellule de coordination du CRISP a été intégrée au Secrétariat de la Communauté du Pacifique en 2008 afin d'assurer une coordination et synergie maximales des actions touchant à la gestion des écosystèmes coralliens dans le Pacifique.



Le CRISP est un programme mis en œuvre dans le cadre de la politique développée par le Programme Régional Océanien de l'Environnement afin de contribuer à la protection et la gestion durable des récifs coralliens des pays du Pacifique.

L'initiative pour la protection et la gestion des récifs coralliens dans le Pacifique (CRISP), portée par la France et préparée par l'AFD dans un cadre interministériel depuis 2002, a pour but de développer une vision pour l'avenir de ces milieux uniques et des peuples qui en dépendent, et de mettre en place des stratégies et des projets visant à préserver leur biodiversité et à développer dans le futur les services économiques et environnementaux qu'ils apportent tant au niveau local que global. Elle est conçue en outre comme un vecteur d'intégration entre états développés (Australie, Nouvelle-Zélande, Japon et USA), Collectivités françaises de l'Outre-Mer et pays en voie de développement du Pacifique.

Cellule de Coordination CRISP  
Chef de programme : **Eric CLUA**  
CPS - BP D5  
98848 Nouméa Cedex  
Nouvelle-Calédonie  
Tél./Fax : (687) 26 54 71  
E-mail : [ericc@spc.int](mailto:ericc@spc.int)  
[www.crisponline.net](http://www.crisponline.net)

Le CRISP est structuré en trois composantes comprenant respectivement divers projets :

### Composante 1 : Aires marines protégées et gestion côtière intégrée

- Projet 1A1 : Analyse éco-régionale
- Projet 1A2 : Aires Marines Protégées (AMP)
- Projet 1A3 : Renforcement institutionnel
- Projet 1A4 : Gestion intégrée des zones lagonaires et des bassins versants

### Composante 2 : Connaissance, gestion, restauration et valorisation des écosystèmes coralliens

- 2A : Connaissance, valorisation et gestion des écosystèmes coralliens
- 2B : Restauration récifale
- 2C : Valorisation des Substances Actives Marines
- 2D : Mise en place d'une base de données régionale (Reefbase Pacifique)

### Composante 3 : Appui institutionnel et technique

- 3A : Capitalisation, valorisation et vulgarisation des acquis du programme CRISP
- 3B : Coordination, promotion et développement du programme CRISP

## COMPOSANTE 2C

### Substances Actives Marines (SAM)

Responsable de composante :  
**Cécile DEBITUS**  
IRD - UMR 152  
Université Paul Sabatier  
Toulouse II  
Faculté des Sciences  
31062 Toulouse cedex 9  
France  
Tél. : (33) 5 62 25 98 11  
Fax : (33) 5 62 25 98 02  
E-mail : [cecile.debitus@ird.fr](mailto:cecile.debitus@ird.fr)

#### ■ PROJET 2C-1 :

Volet juridique - Proposition d'amélioration des législations des pays insulaires pour le partage des bénéfices issus de la valorisation des SAM

#### ■ PROJET 2C-2 :

Volet taxonomique - Amélioration de la connaissance des invertébrés benthiques récifaux

#### ■ PROJET 2C-3 :

Volet technologique - Isolement et identification de SAM

#### ■ PROJET 2C-4 :

Volet de renforcement institutionnel - Formation de personnes ressources du Pacifique insulaire

LE PROGRAMME CRISP EST FINANCÉ PAR LES ORGANISATIONS SUIVANTES :



# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur Eric DESLANDES, directeur du LEBHAM, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire durant ce stage.

Merci également au Docteur Valérie STIGER d'avoir eu la gentillesse de me proposer ce sujet de stage et de m'intégrer dans ses programmes de recherche.

Je tiens tout particulièrement à remercier Klervi LE LANN de m'avoir prise en stage, de m'avoir permise de traiter ses données de thèse, de m'avoir proposée des sorties sur le terrain ainsi que pour ses nombreuses explications sur les protocoles d'extraction et de dosage.

Je remercie aussi le Professeur Claude PAYRI pour l'échantillonnage des diverses espèces collectées en Nouvelle Calédonie et aux Fidji, et qui ont été utilisées dans cette étude.

Je remercie également toute l'équipe du LEBHAM et les autres stagiaires pour la bonne humeur régnant au sein du laboratoire et plus particulièrement Camille pour ses nombreux conseils.

Merci à toutes et à tous.

# Sommaire

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>I – MATERIEL ET METHODE .....</b>	<b>2</b>
1) Matériel biologique .....	2
a. Espèces de Sargassaceae étudiées .....	2
b. Sites d'échantillonnage .....	3
2) Détermination de la teneur en composés phénoliques .....	4
a. Extraction des composés phénoliques.....	4
b. Dosage des composés phénoliques selon la méthode de Folin-Ciocalteu .....	5
3) Détermination des activités anti-radicalaire et anti-oxydante des extraits.....	6
a. Détermination de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH sur microplaque.....	7
b. Détermination de l'activité anti-oxydante par la méthode des $\beta$ -carotène sur microplaque.....	8
4) Analyses statistiques des données : .....	10
5) Abréviations utilisées : .....	10
<b>II - RESULTATS .....</b>	<b>11</b>
1) Teneur en composés phénoliques .....	11
a. Variations inter-génériques .....	11
b. Variations inter-spécifiques .....	12
c. Variations spatiales .....	12
2) Activités anti-oxydante et anti-radicalaire des échantillons .....	12
a. Activité anti-radicalaire déterminée par la méthode du DPPH .....	12
b. Activité anti-oxydante déterminée par la méthode du $\beta$ -carotène.....	14
3) Corrélation entre composés phénoliques et activités anti-radicalaire et anti-oxydante .....	15
<b>III - DISCUSSION .....</b>	<b>16</b>
1) Teneurs en composés phénoliques .....	16
2) Activités anti- radicalaire et anti-oxydante des échantillons.....	18
<b>IV - CONCLUSION .....</b>	<b>20</b>
<b>V - BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>21</b>

# Introduction

Les algues marines constituent une bioressource importante, utilisée dans l'alimentation mais également, par exemple, en médecine et en cosmétologie. La présence de composés tels que les minéraux, les polysaccharides, les acides aminés dérivés, les acides gras, les stérols, les caroténoïdes et les polyphénols (ou composés phénoliques) est maintenant bien connue. Néanmoins, depuis quelques années, les polyphénols font l'objet d'une attention particulière. Ils auraient un rôle préventif des maladies cardiovasculaires et inflammatoires mais aussi curatif de nombreuses maladies, tels que les cancers (Fujiki et al., 1998). Ce sont également des molécules à activités antioxydante (Larson, 1988 ; Rice-Evans et al., 1996), anti-radicalaire et anti-inflammatoire (Surch et al., 2001).

Les composés phénoliques, appelés aussi tannins, sont des métabolites de défense ou de stress présents chez les végétaux supérieurs et les algues, notamment les algues brunes. Les polyphénols sont constitués d'un cycle aromatique qui porte un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils protègent les végétaux contre l'épiphytisme (Ragan et Glombitza, 1986), les brouteurs, les pathogènes et surtout les radiations UV (Pavia et al, 1997).

Chez les végétaux supérieurs, les tannins sont présents en quantité importante et sont devenus très populaires sur « le marché », notamment ceux trouvés dans le thé vert, le raisin ou les olives.

Chez les algues, les polyphénols, dits phlorotannins, sont de deux types : les bromophénols chez les algues rouges et les polymères de phloroglucinol chez les algues brunes (Ragan et Craigie, 1979). Parmi les Phaeophyceae, les Sargassaceae (Fucales) sont relativement pauvres en phlorotannins, avec en moyenne, de 1,59 % par g de matière sèche pour les espèces tropicales (Zubia, 2003), comparées aux Fucales et aux Dictyotales tempérées qui en possèdent plus de 20% (Connan, 2004). Cependant, ces teneurs sont influencées par de nombreux facteurs externes (salinité, saison, radiation lumineuse) et internes (tissu, âge, état de reproduction) (Ragan et Glombitza, 1986).

Durant ce stage, cinq espèces d'algues brunes : *Cystoseira sp.*, *Sargassum sp.*, *Sargassum polycystum*, *Turbinaria conoides* et *Turbinaria ornata*, présentes sur différents sites de Nouvelle-Calédonie et des Iles Fiji ont été étudiées. La campagne d'échantillonnage, qui a eu lieu en juin 2007 aux Fiji, s'est effectuée dans le cadre du programme « Biodiversité et substances marines actives » du volet « molécules actives » du Coral Reef Initiative in the South Pacific (CRISP), soutenu par l'Agence Française pour le Développement (convention IRD-AFD CZZ3012-02 U). Ce

travail intègre les deux domaines dans lesquels intervient le LEBHAM, à savoir la taxonomie et la recherche de substances actives chez les Sargassaceae, avec d'une part, la mise en place d'une méthode chimiotaxonomique, moins onéreuse et plus rapide que les méthodes classiques de biologie moléculaire, afin de distinguer les espèces proches morphologiquement et génétiquement (Le Lann et al., 2008), et d'autre part, la recherche d'extraits actifs, intéressant divers domaines tels que l'aquaculture, le biofouling et les secteurs paramédicaux et pharmaceutiques au sein des pays partenaires.

Ce stage fait partie intégrante d'une thèse de Doctorat menée par Klervi LE LANN sur la « Valorisation de la biodiversité des macroalgues marines : recherche des composés actifs extraits de quelques genres tempérés et tropicaux d'algues brunes Sargassaceae ». Lors de cette étude, nous nous sommes intéressés tout particulièrement aux composés phénoliques et à leur teneur dans les différents échantillons fournis. De plus, les activités anti-radicalaire et anti-oxydante des extraits ont été testées, permettant d'avoir une approche sur la défense chimique de ces algues brunes en milieu tropical.

# I - Matériel et méthodes

## 1) Matériel biologique

### a. Espèces de Sargassaceae étudiées

Durant les campagnes de récolte, réalisées en avril 2006 et en juin 2007, différentes espèces de Sargassaceae ont été collectées, conditionnées sur place puis envoyées en métropole sous forme lyophilisée. Ce mode de conditionnement s'est avéré optimal pour l'étude des composés phénoliques et la mesure des activités biologiques (Le Lann et al. sous presse).

Durant ce stage, les espèces des genres *Cystoseira*, *Sargassum*, et *Turbinaria* ont été étudiées. Ces trois genres appartiennent à la division des *Ochrophyta*, à la classe des *Phaeophyceae*, à l'ordre des *Fucales* et à la famille des *Sargassaceae*. Néanmoins, la taxonomie de ces genres est difficile. A l'heure actuelle, 66 espèces de *Cystoseira*, 575 de *Sargassum* et 30 de *Turbinaria* sont connues, la taxonomie se basant sur des études morphologiques et moléculaires.

Des caractéristiques communes à chacun de ces genres peuvent cependant être données. Les espèces du genre *Cystoseira* sont caractérisées par une base, un ou plusieurs axes dressés, un système de rameaux de plusieurs ordres et des réceptacles intercalaires ou terminaux sur les rameaux. Ces algues sont pérennantes. L'espèce étudiée ici n'a pu être déterminée.

Les espèces du genre *Sargassum* présentent un thalle souple, constitué d'un axe principal pérennant, généralement court, et de ramifications latérales annuelles souples et à croissance limitée. Dans cette étude, seule l'espèce *Sargassum polycystum* C. Agardh a pu être identifiée, les autres espèces de ce genre restant indéterminées.

Le genre *Turbinaria* est caractérisé par des espèces au thalle rigide et dressé, l'axe principal porte des axes coniques à croissance limitée (les pleuridies) dont la forme varie avec l'espèce. La disposition des pleuridies forme un volume cylindrique autour de l'axe principal. Les algues étudiées ici sont *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kützing et *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh.

Ces 3 genres présentent un cycle de vie (ou cycle de reproduction) monogénétique diplonte. Ces espèces sont aussi considérées comme haplobiontiques à phase diploïde (De Reviere, 2003).

## b. Sites d'échantillonnage

Les Sargassaceae étudiées ici proviennent de Nouvelle Calédonie et des Iles Fiji. Les algues prélevées en Nouvelle Calédonie l'ont été durant deux périodes d'échantillonnages (avril 2006 et juin 2007). La campagne d'échantillonnage aux Iles Fiji s'est déroulée au mois de Juin 2007.

La Nouvelle-Calédonie est un ensemble d'îles et d'archipels mélanésien de l'Océan Pacifique sud, à environ 1 200 km à l'est de l'Australie et 1 500 km au nord-est de la Nouvelle-Zélande. Le territoire jouit d'un climat tropical océanique. La température annuelle moyenne est de 23°C. On partage l'année en deux saisons : la saison chaude et la saison fraîche. La saison chaude ou été austral, de mi-novembre à mi-avril, avec des températures maximales de 28 à 32°C, commence avec une période de forte sécheresse mais finit avec un fort taux d'humidité. Elle comprend également la saison des cyclones qui peut s'étirer de mi-novembre à mai. La saison fraîche, quant à elle, est plus sèche, avec en moyenne des températures de 20 à 23°C.

D'autres algues étudiées ont, quant à elle, été échantillonnées sur les îles Fiji en juin 2007, situées dans le Pacifique Sud, au nord de la Nouvelle-Zélande. Les Fiji bénéficient d'un climat tropical humide, tempéré par les alizés, soufflant du Sud-Est. Les températures moyennes oscillent entre 24 et 28 °C toute l'année. Entre novembre et avril, a lieu la saison des pluies, accompagnée d'une atmosphère chaude et très humide, assez étouffante. Des tempêtes, voire des cyclones, peuvent surgir, entre décembre et mars. L'océan, en revanche, atteint alors ses températures maximales, autour de 28 °C. Entre mai et septembre se déroule la saison sèche ou "fraîche" avec des températures entre 22 et 26 °C et une eau de mer à 24-25 °C.

Les informations concernant les algues de cette étude sont résumées en Annexe 1.

## 2) Détermination de la teneur en composés phénoliques

### a. Extraction des composés phénoliques

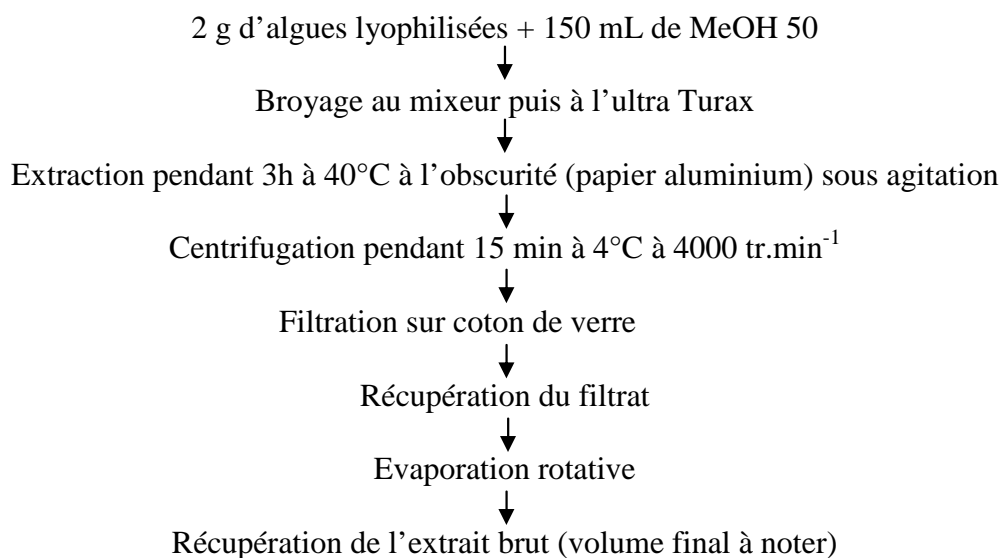
L'extraction des polyphénols se fait grâce au solvant méthanol-eau dont les proportions sont de 50/50 (MeOH 50) (*figure 1*).

Afin de limiter les risques d'oxydation des composés phénoliques, les processus d'extraction et d'évaporation sont réalisés à l'abri de la lumière. De plus, les polyphénols étant sensibles à des températures excessives, les extraits sont maintenus à des températures inférieures à 40°C durant les phases d'extraction et d'évaporation.

Après extraction, les extraits sont centrifugés et filtrés ; environ 150 mL seront récupérés puis passés ensuite à l'évaporateur rotatif (Rotavap) afin d'éliminer le méthanol et de concentrer ainsi l'extrait.

Au final, environ 25 mL d'extrait brut sont obtenus ; ils sont ensuite stockés en chambre froide et seront utilisés pour les études complémentaires.

L'extraction est réalisée en triplicata.



*Figure 1 : Protocole de l'extraction des composés phénoliques*

## b. Dosage des composés phénoliques selon la méthode de Folin-Ciocalteu

La méthode de dosage des polyphénols choisie est la méthode de Folin-Ciocalteu (1927) adaptée par Van Alstyne en 1995. Cette méthode de dosage est dérivée de la méthode de Folin-Denis adaptée par Harrison et Durance (1989) (*figure 2*).

Les composés phénoliques se composent d'un enchaînement d'une unité de base : le phloroglucinol (1, 3, 5-trihydroxybenzène), constitué de cycles aromatiques hydroxylés.

La méthode de Folin-Denis est basée sur l'oxydation des cycles phénoliques, couplée à la réduction d'acide phosphomolybdique. Cette méthode diffère de celle de Folin-Ciocalteu où du lithium sulfate, permettant de diminuer la formation de précipité, facilitant la lecture de l'absorbance, est ajouté au réactif de Folin-Denis. De plus, la méthode utilisée ici ne nécessite pas de centrifugation et est plus rapide.

On utilise comme référence une gamme étalon préparée à partir d'une solution mère de phloroglucinol à  $100 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , avec des concentrations variant de 0 à  $20 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ .

Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune vire au bleu en solution après la réaction avec les composés phénoliques totaux.

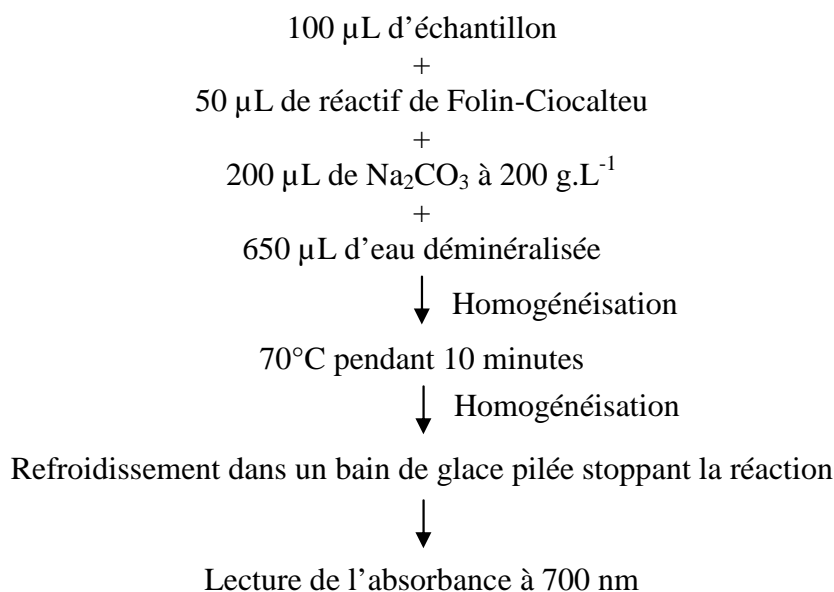


Figure 2 : Protocole de dosage des polyphénols selon la méthode de Folin-Ciocalteu

### 3) Détermination des activités anti-radicalaire et anti-oxydante des extraits

La notion d'activité anti-oxydante est inévitablement associée aux radicaux libres, c'est-à-dire des molécules instables possédant un électron non apparié.

Ces radicaux libres recherchent un état plus stable. Pour ceci, ils capturent un électron à l'oxygène. Des formes particulièrement actives de l'oxygène sont ainsi produites telles que les radicaux hydroxyle ou peroxyde, l'oxygène singulet et/ou l'anion superoxyde.

Les radicaux libres risquent de provoquer une oxydation de certains composants cellulaires qui peuvent alors conduire à des dommages de l'ADN ou à une peroxydation des lipides des membranes plasmiques. L'action des radicaux libres peut cependant être contrée par des mécanismes de défense cellulaire tels que les peroxydases cellulaires qui détruisent les radicaux libres ou des molécules anti-oxydantes telles que les acides aminés soufrés, l'acide urique et l'acide ascorbique qui piègent ces radicaux.

Les algues, comme tout organisme vivant, ont su développer des mécanismes de protection contre les conditions de stress. Elles synthétisent ainsi des molécules pouvant agir à différents niveaux. Les molécules anti-oxydantes chez les algues sont de nature lipophile (caroténoïdes, vitamine E) et de nature hydrophile (polyphénols, phycobiliprotéines, vitamine C, enzymes telle la superoxyde dismutase).

Les antioxydants peuvent inhiber la formation des espèces activées de l'oxygène, constituant la première ligne de défense. Ils peuvent également interrompre la chaîne de propagation des réactions d'oxydation conduisant à la dégradation des protéines, des lipides ou de l'ADN. Pour finir, ils permettent la réparation des macromolécules dégradées par le processus d'oxydation.

Des molécules, dont l'activité anti-oxydante est connue, et qui pour certaines sont au carrefour de nombre de réactions d'oxydo-réduction dans le vivant, sont utilisées ici comme témoins positifs. Il s'agit d'antioxydants d'origine synthétique, le BHA (butylhydroxyanisole) et le BHT (dibutylhydroxytoluène) ainsi que des antioxydants d'origine naturelle, les vitamines C et E.

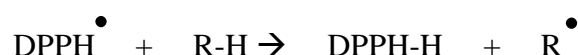
## a. Détermination de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH sur microplaque

Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un radical libre, stable en solution : le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), utilisé préalablement par Connan (2004) et Le Lann (2006).

La solution de DPPH à  $3,58 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  soit 21,15 mg dans 150 mL de méthanol 90%, doit être préparée trois heures à l'avance, à l'obscurité et sous agitation facilitant la solubilisation de la poudre de DPPH.

La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, mesurable par spectrophotométrie à 540 nm. Il y a alors activité antiradicalaire.

La réduction du DPPH peut être représentée comme suit :



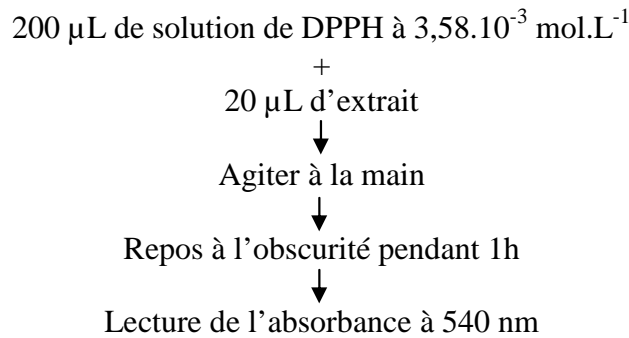
L'absorbance lue est ensuite transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin. La courbe traçant la relation entre le pourcentage d'inhibition et la teneur en composés phénoliques n'étant pas linéaire mais logarithmique (plateau atteint vers 80% d'inhibition), les extraits sont donc dilués pour obtenir un pourcentage d'inhibition compris entre 30 et 70% (Connan, 2004). Les dilutions réalisées au cours de ces expériences sont de 1/2, 1/5 et 1/10, en triplicata.

Afin de comparer les extraits entre eux, l'indice IC 50 est calculé. Il correspond à la quantité en mg de composés phénoliques nécessaire pour obtenir environ 50% d'inhibition :

$$\text{IC 50} = \frac{\text{Concentration} \times 50}{\% \text{ d'inhibition}}$$

Néanmoins, ce test n'est pas quantitatif ; il permet seulement de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH en tant que radical libre, et ainsi d'apprécier indirectement les variations qualitatives des composés phénoliques.

Ce test antioxydant est réalisé, en triplicata, sur microplaque permettant une utilisation moindre des réactifs ainsi qu'un gain de temps (*figure 3*).



*n.b. : témoins positifs :*

- BHA
- BHT
- Vitamine E
- Vitamine C

*zéro du spectrophotomètre : 20  $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée + 200  $\mu\text{L}$  de DPPH*

*Figure 3 : Protocole de la méthode de détermination de l'activité anti-oxydante du DPPH sur microplaque*

## b. Détermination de l'activité anti-oxydante par la méthode des $\beta$ -carotène sur microplaque

Cette méthode est basée sur la perte de la couleur jaune du  $\beta$ -carotène et donc de la consommation de celui-ci, due à la réaction avec les radicaux qui sont formés par l'oxydation de l'acide linoléique en émulsion (Marco, 1968).

Le blanchissement du  $\beta$ -carotène, ralenti en présence d'antioxydants, est mesuré par un suivi spectrophotométrique à 470 nm. L'absorbance est ainsi lue au temps 0 puis au bout de deux heures.

Cette méthode est sensible, ceci étant dû à la forte absorption du  $\beta$ -carotène mais est plus lente que celle du DPPH. Récemment, la méthode a été améliorée grâce à l'utilisation de microplaques à 96 puits.

Cette méthode est largement utilisée dans l'évaluation de l'activité anti-oxydante de différents types d'échantillons tels que les composés seuls, les extraits de plantes, de graines, de fruits, de légumes.

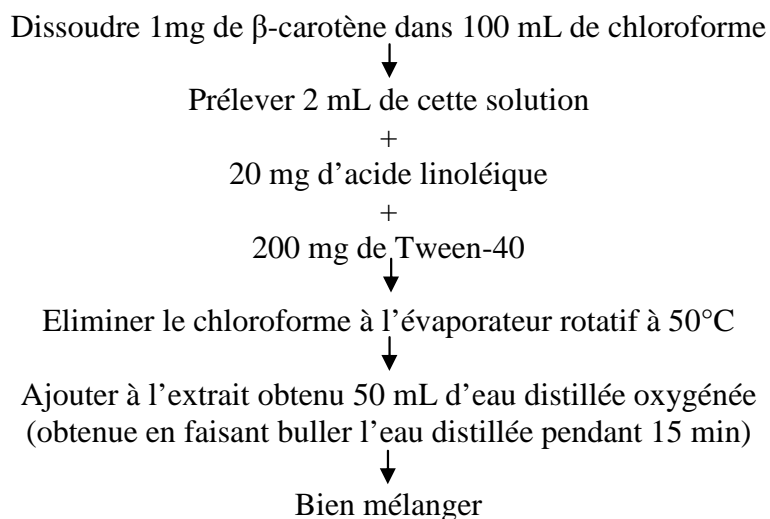
L'activité anti-oxydante peut être alors décrite par un rapport, l'AAC.

$$\text{AAC} = \frac{(\text{DO}_{\text{éch}} 120\text{min}}{(\text{DO}_{\text{blanc}} 0\text{min}} - \text{DO}_{\text{blanc}} 120\text{min})} - \text{DO}_{\text{blanc}} 120\text{min})}{(\text{DO}_{\text{blanc}} 0\text{min}} - \text{DO}_{\text{blanc}} 120\text{min})} \times 1000$$

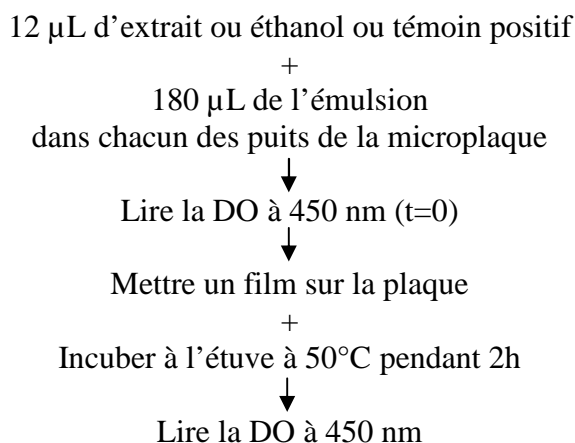
Néanmoins, la comparaison entre échantillon est impossible, car la quantité de matière testée n'est pas exprimée. Un indice a alors été créé : l'IC 700 (Le Lann). En effet, la valeur de l'AAC pour les témoins positifs tels que le BHA et le BH est d'environ 700. L'IC 700 correspond alors à la quantité nécessaire pour obtenir un AAC de 700.

$$\text{IC 700} = \frac{700 \times \text{AAC}_{\text{échantillon}}}{[\text{échantillon}]}$$

Nous utiliserons ici la méthode de Koleva et al. (2002) en ce qui concerne les premières étapes de la manipulation puis celle de Kaur et Kapoor (2002) pour l'emploi de la microplaque (figure 4).



**Au niveau de la microplaque :**



*n.b. : témoins positifs :*

- BHA
- BHT
- Vitamine E
- Vitamine C

zéro du spectrophotomètre : 12  $\mu$ L d'éthanol absolu

NB : chaque échantillon est testé en triplicata.

Figure 4 : Protocole de la méthode de détermination de l'activité anti-oxydante par la méthode du  $\beta$ -carotène

## 4) Analyses statistiques des données :

Les données obtenues à la suite de cette série de manipulations ont été traitées de façon statistique par des analyses de variances, à l'aide du logiciel « Statgraphics ». Cependant, les données étant des données biologiques, la normalité est ainsi vérifiée. De plus, les données provenant de quadrats réalisés au hasard, il existe une indépendance de ceux-ci et donc des données. Pour finir, la dernière condition d'utilisation de l'ANOVA est vérifiée en testant l'homogénéité des variances grâce au test de Cochran, Bartlett et Hartley. Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis est utilisé lorsque les conditions d'application du test précédent ne sont pas satisfaites, malgré une transformation arcsin ( $\sqrt{(X+1)}$ ) des données. Toutes les analyses sont réalisées au seuil de signification de 95%.

## 5) Abréviations utilisées :

Afin de faciliter la visibilité des figures, des abréviations ont été utilisées. La signification de ces dernières est présentée dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Signification des abréviations utilisées

Abréviations	Signification
T. cono ST 28	<i>Turbinaria conoides</i> Station 28
S.sp ST 3	<i>Sargassum sp.</i> Station 3
S.sp ST 28	<i>Sargassum sp.</i> Station 28
Cysto	<i>Cystoseira sp.</i>
T.cono A	<i>Turbinaria conoides</i> A
T.cono B	<i>Turbinaria conoides</i> B
T.orna	<i>Turbinaria ornata</i>
T.orna ST 11	<i>Turbinaria ornata</i> Station 11
S.poly FUGA	<i>Sargassum polycystum</i> Station FUGA
S.poly ST 14	<i>Sargassum polycystum</i> Station 14
S.poly ST 27	<i>Sargassum polycystum</i> Station 27
NC	Nouvelle Calédonie
Témoins +	Témoins positifs

## II - Résultats

### 1) Teneur en composés phénoliques

En ce qui concerne la teneur en composés phénoliques, trois effets ont pu être démontrés chez les Sargassaceae étudiées (figure 5).

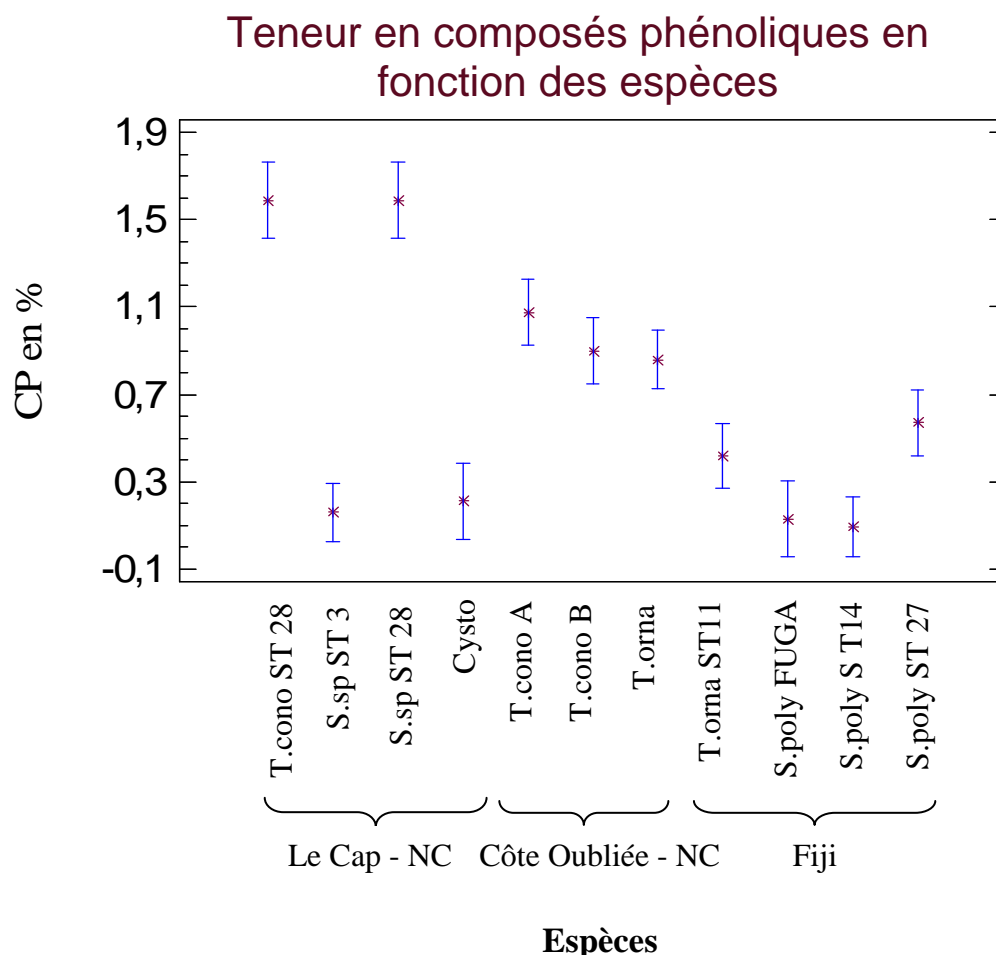


Figure 5 : Teneur en composés phénoliques en fonction des espèces et des stations.

#### a. Variations inter-génériques

Un effet « genre » est présent (test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,01$ ). En effet, la teneur en polyphénols est nettement supérieure chez le genre *Turbinaria* ( $0,91 \pm 0,09$  % de composés phénoliques par gramme de matière sèche) que chez *Sargassum* ( $0,40 \pm 0,10$  % de CP/g de MS) et que chez *Cystoseira* ( $0,15 \pm 0,26$  % de CP/g de MS). En effectuant un test des étendues multiples, nous remarquons qu'il existe bien une différence significative entre *Cystoseira* et *Turbinaria* et entre *Sargassum* et *Turbinaria*, mais aucune différence significative n'est visible entre *Cystoseira* et *Sargassum*.

## b. Variations inter-spécifiques

En plus de cet effet « genre », un effet « espèce » peut être montré dans le cas de *Turbinaria*. En effectuant une Anova à un facteur et en considérant la teneur en polyphénols chez *Turbinaria* en fonction de l'espèce, les différences en teneur sont significatives (Anova,  $p = 0,002$ ). La teneur moyenne en composés phénoliques est de  $1,10 \pm 0,08$  % de CP/g de MS pour *Turbinaria conoides* tandis qu'elle n'est que de  $0,67 \pm 0,09$  % de CP/g de MS pour *Turbinaria ornata*.

En revanche, en réalisant les mêmes tests dans la cas de *Sargassum*, les différences en teneurs ne sont pas significatives (Anova,  $p = 0,114$ ), avec pour *Sargassum sp* une teneur de  $0,63 \pm 0,18$  % de CP/g de MS et de  $0,25 \pm 0,15$  % de CP/g de MS pour *Sargassum polycystum*.

## c. Variations spatiales

Pour finir, nous avons testé l'effet « site » (test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,01$ ). Il apparaît nettement que les algues provenant de stations des Fiji ( $0,28 \pm 0,11$  % de CP/g de MS) ont une teneur en composés phénoliques plus faible que celles issues de Nouvelle-Calédonie. Néanmoins, Côte Oubliée ( $0,91 \pm 0,11$  % de CP/g de MS) et Le Cap ( $0,72 \pm 0,11$  % de CP/g de MS) forment un groupe homogène au sein de la Nouvelle-Calédonie. Ceci a pu être démontré grâce à un test des étendues multiples.

## 2) Activités anti-oxydante et anti-radicalaire des échantillons

### a. Activité anti-radicalaire déterminée par la méthode du DPPH

Rappelons que plus l'IC 50 est fort, plus l'activité anti-radicalaire est faible.

Au sein de ce graphe récapitulatif, nous pouvons distinguer des variations selon les genres, les espèces et les sites (figure 6).

## Activité anti-radicalaire (DPPH) en fonction de l'espèce et du site

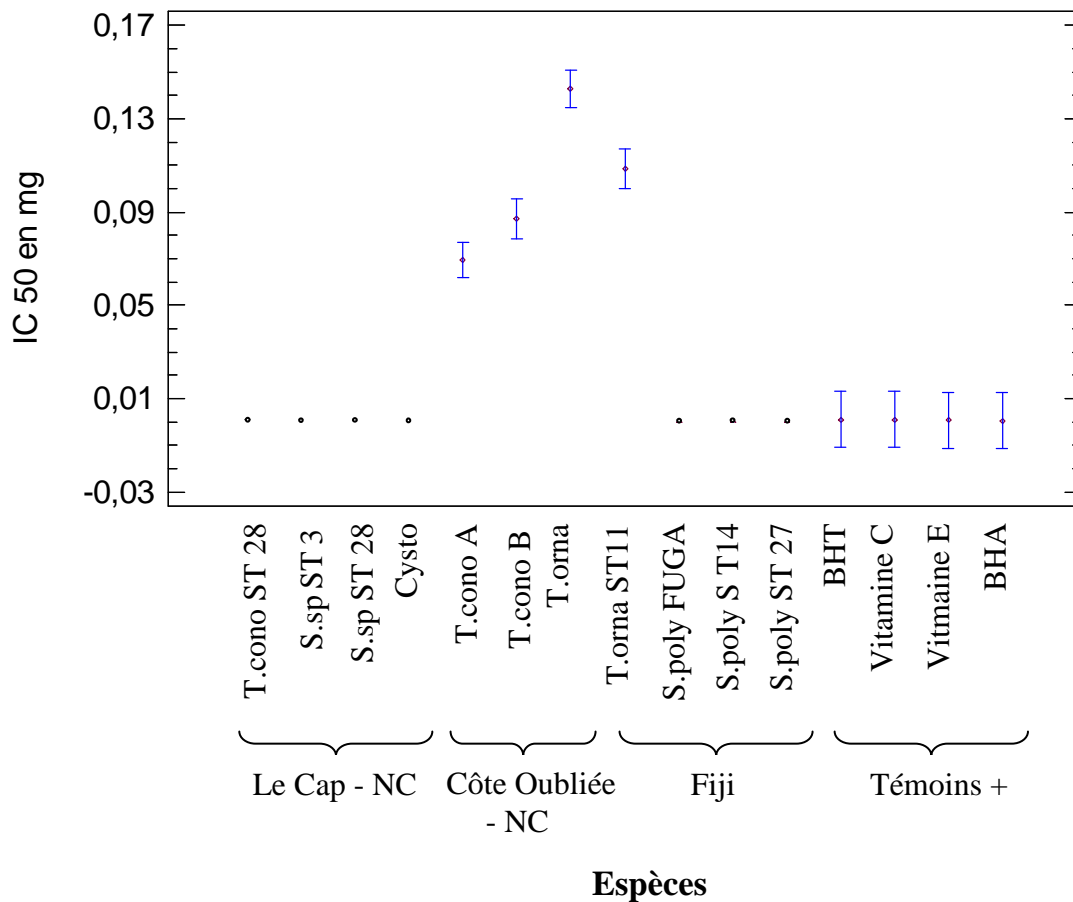


Figure 6 : Activité anti-oxydante déterminée par la méthode du DPPH en fonction des espèces et des sites

Les témoins positifs possèdent l'activité anti-radicalaire la plus forte ( $IC_{50} \leq 0,001$  mg).

Avec le test du DPPH, pour les genres *Sargassum* et *Cystoseira*, aucune activité anti-radicalaire n'a pu être détectée. Pour le genre *Turbinaria*, par comparaison aux témoins positifs, il apparaît que l'activité anti-radicalaire du genre *Turbinaria* reste faible. Le test des étendues multiples confirme l'existence d'une différence significative entre *Cystoseira* et *Turbinaria* et entre *Sargassum* et *Turbinaria*.

En considérant les variations interspécifiques chez *Turbinaria*, nous remarquons que les espèces *conoides* et *ornata* diffèrent de manière significative (Anova à un facteur,  $p < 0,001$ ) avec une activité anti-radicalaire inférieure pour *Turbinaria ornata* ( $0,127 \pm 0,007$  mg) par rapport à *Turbinaria conoides* ( $0,072 \pm 0,006$  mg).

Pour finir, nous pouvons constater que le site a une importance quant à l'activité anti-radicalaire (Anova à un facteur,  $p < 0,001$ ). En effet, nous remarquons que celle-ci est plus importante pour les Fiji ( $0,07 \pm 0,01$  mg) que pour les sites du Cap (0,00 mg) et de Côte Oubliée

( $0,10 \pm 0,01$  mg). Cependant, en effectuant un test des étendues multiples, il apparaît que Fiji et Côte Oubliée forment un groupe homogène, différent du Cap.

## b. Activité anti-oxydante déterminée par la méthode du $\beta$ -carotène

Comme précédemment, plus l'IC 700 sera fort, plus l'activité anti-oxydante sera faible.

Différents effets peuvent être tirés de la figure 7.

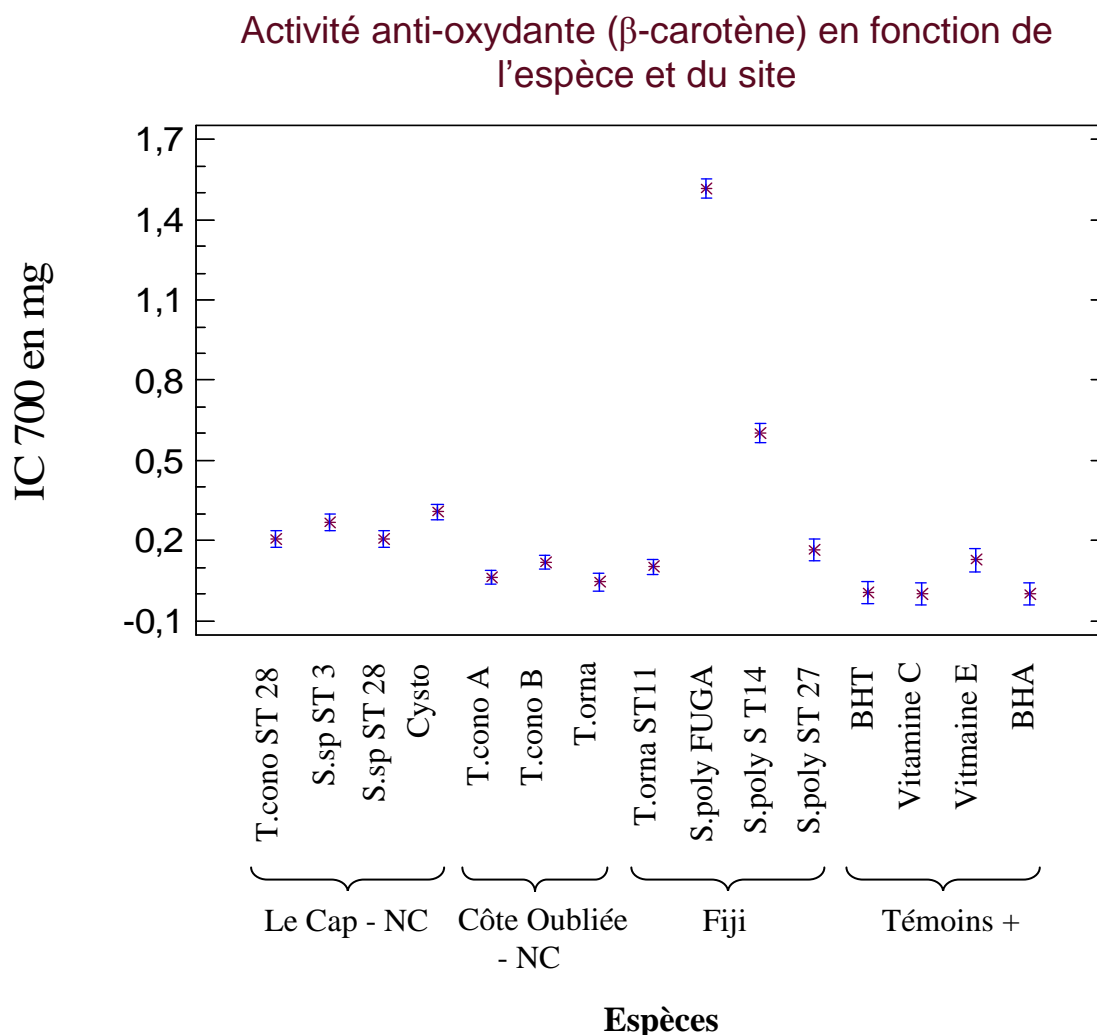


Figure 7 : Activité anti-oxydante ( $\beta$ -carotène) en fonction des espèces et des sites

Nous remarquons que les témoins positifs ont effectivement une activité anti-oxydante forte (IC 700 < 0,001 mg pour le BHT, le BHA et la vitamine C et IC 700 = 0,119 mg pour la vitamine E).

Selon les genres, l'activité anti-oxydante présente des différences significatives (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). La plus faible des activités est observée pour le genre *Sargassum* avec un IC 700 de  $0,552 \pm 0,062$  mg tandis que la plus forte se retrouve chez les algues du genre *Turbinaria*

(IC 700 =  $0,103 \pm 0,051$  mg), comparable à celle trouvée chez les témoins positifs (tests des étendues multiples). Le genre *Cystoseira*, quant à lui, présente une activité anti-oxydante intermédiaire (IC 700 =  $0,304 \pm 0,114$  mg). La réalisation du test des étendues multiples indique que des différences significatives sont visibles entre les genres *Sargassum* et *Turbinaria* ainsi qu'entre *Sargassum* et les témoins positifs.

En considérant les variations interspécifiques chez *Turbinaria*, nous remarquons que les espèces *conoides* et *ornata* diffèrent de manière significative (Kruskal-Wallis,  $p = 0,002$ ) avec une activité anti-oxydante supérieure pour *Turbinaria ornata* (IC 700 =  $0,077 \pm 0,012$  mg) par rapport à *Turbinaria conoides* ( $0,121 \pm 0,010$  mg). En outre, aucune différence significative n'est observée pour les genres *Sargassum* et *Cystoseira*. En ce qui concerne les espèces du genre *Sargassum*, nous pouvons nous rendre compte qu'une différence significative de l'activité anti-oxydante est observable (Kruskal-Wallis,  $p = 0,01$ ) en comparant les espèces. *Sargassum polycystum* possède l'activité anti-oxydante la plus faible (IC 700 =  $0,837 \pm 0,120$  mg). Néanmoins, il ne faut pas oublier que l'autre catégorie (IC 700 =  $0,244 \pm 0,125$  mg) regroupe des algues dont l'espèce n'a pu être identifiée.

Enfin, nous pouvons observer une différence significative dans l'activité anti-oxydante selon le site de prélèvement (Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). Les algues provenant de Côte Oubliée présentent les activités les plus élevées (IC 700 =  $0,080 \pm 0,062$  mg) et celles des Fiji les plus faibles (IC 700 =  $0,549 \pm 0,070$  mg). Le test des étendues multiples présente les sites de la Nouvelle-Calédonie comme un groupe homogène, différent de celui des Fiji.

### 3) Corrélation entre composés phénoliques et activités anti-radicalaire et anti-oxydante

Aucune corrélation significative entre polyphénols et activité anti-radicalaire n'a pu être démontrée. En ne considérant que le genre *Turbinaria*, seule une tendance est visible, mais aucune corrélation significative n'a pu être démontrée ( $r^2 = 0,42$ ).

De même, aucune relation n'a pu être établie entre composés phénoliques et activité anti-oxydante. Comme précédemment, seule une tendance apparaît et ceci en ne considérant que l'effet « site : Le Cap » ( $r^2 = 0,62$ ).

# III – Discussion

## 1) Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques des différentes espèces étudiées sont l'objet de trois effets : un effet « genre », un effet « espèce » et un effet « site ».

Les résultats obtenus pour *Turbinaria* et *Sargassum* sont en accord avec la littérature (Le Lann, 2006 ; Stiger et al., 2004). Le fait que la teneur en polyphénols est deux fois plus élevée chez le genre *Turbinaria* que chez le genre *Sargassum*, serait expliqué par le fait que les algues du genre *Sargassum* auraient tendance à coloniser des sites à l'hydrodynamisme important où les brouteurs y sont en quantités plus faibles, induisant des teneurs moindres en composés phénoliques, comme démontré sur des Sargassaceae de Polynésie française (Stiger et al. 2004). Dans notre étude, ceci ne peut être confirmé, car le courant reste inconnu pour certaines zones (annexe 2). Ces variations pourraient alors s'expliquer par la morphologie du thalle. La défense contre le broutage s'organiserait différemment selon le genre. Le thalle des *Sargassum* est constitué de nombreuses latérales flexibles, ce qui induirait une protection mécanique des juvéniles mais aussi une autoprotection contre le broutage, alors que *Turbinaria*, du fait de son port dressé, mettrait en place une défense chimique pour protéger les recrues et les juvéniles des herbivores (Stiger et al., 2004 ; Le Lann, 2006). Néanmoins, *Cystoseira* ne confirme pas cette hypothèse. En effet, les algues appartenant à ce genre ont un ou plusieurs axes dressés souples, mais leurs teneurs en polyphénols restent très faibles.

Entre les effets « espèce » et « site », une corrélation relativement forte semble exister. Il apparaît que *Turbinaria ornata* présente les plus faibles teneurs en composés phénoliques, ceci confirmant l'étude de Le Lann en 2006 pour des échantillons des îles Salomon. Les espèces étudiées ici n'ont, cependant, pas été prélevées dans des biotopes similaires. Les *Turbinaria* provenant de Côte Oubliée possèdent des valeurs similaires, quelque soit l'espèce étudiée. Néanmoins, il est important de noter que ces dernières ont alors été prélevées dans un même biotope (platier corallien frangeant avec une forte influence terrigène). Nous pouvons supposer que la moyenne pour *Turbinaria ornata* est diminuée par l'échantillon de la station 11 qui présente une faible teneur en composés phénoliques. Cette teneur peu importante peut être expliquée par la typologie de la station. En effet, la station 11 est située sur la pente externe d'un récif-barrière. Dans cette zone du récif, l'hydrodynamisme est très important, la pente est en contact avec l'océan ; ainsi les quantités de brouteurs pouvant être très faibles, la nécessité de composés de défense est moindre. En ce qui concerne les espèces du genre *Sargassum*, les teneurs en polyphénols apparaissent plus

faibles que celles observées dans la littérature et *Sargassum sp.* présente les plus fortes teneurs (annexe 3) (Steinberg, 1986 ; Van Alstyne et Paul, 1990). Cette différence pourrait être liée au biotope ou à un épiphytisme plus important chez *Sargassum sp.* Certains auteurs ont démontré que ces composés phénoliques étaient à mettre en relation avec une défense contre l'épiphytisme (Ragan et Glombitza, 1986). Mais cette hypothèse n'a pas pu être confirmée car les algues nous ont été envoyées lyophilisées.

Des variations intraspécifiques sont également visibles, en relation avec le site de prélèvement. Nous remarquons que pour une même espèce (*Sargassum polycystum*), provenant d'un même site (Le Cap), des différences de teneurs apparaissent. Des auteurs ont démontré, qu'au sein d'une région donnée, les variations des teneurs en composés phénoliques seraient en relation avec la salinité (Ragan et Glombitza, 1986) et/ou la disponibilité en nutriments et minéraux (Steinberg, 1990). Cette différence peut également s'expliquer par la profondeur du site d'échantillonnages et donc de la pénétration des radiations lumineuses. Stiger et al. (2004) ont effectivement prouvé que les polyphénols ont un rôle photoprotecteur. L'échantillon de la station 3 présente une teneur plus faible en phlorotannins que celui de la station 28. Or, la station 3 se caractérise par un tombant corallien sur le platier frangeant. Les algues y poussent dans 6 m d'eau maximum, alors qu'à la station 28, les Fucales étudiées croissent dans 1 à 2 m d'eau, et leur habitat est situé sur le platier corallien interne. Ainsi, la teneur en composés phénoliques, plus faible à la station 3, pourrait être expliquée par : (i) une plus faible pénétration des UV de par la profondeur, (ii) une plus faible teneur de l'eau de mer en minéraux essentiels à la biosynthèse des polyphénols (Steinberg et Paul, 1990) à l'extérieur du platier, (iii) une salinité plus faible à l'extérieur du platier. Cependant, seule la première hypothèse est applicable dans notre étude (annexe 2).

Pour finir, Côte Oubliée présente les plus fortes teneurs de composés phénoliques. Ceci peut être dû au fait que ces zones d'échantillonnage sont influencées par des apports terrigènes qui permettraient une meilleure croissance de l'algue ainsi qu'une plus grande quantité d'énergie allouée lors de la formation de ces composés. En effet, la production de polyphénols nécessiterait un coût énergétique, se traduisant par une augmentation du métabolisme et de la demande nutritive ainsi que d'une diminution du taux de croissance (Hay et Fenical, 1988 ; Steinberg, 1995). Ces apports seraient possibles à Côte Oubliée qui est, en effet, un platier corallien frangeant à forte influence terrigène.

## 2) Activités anti-radicalaire et anti-oxydante des échantillons

Lors de cette étude, des différences significatives ont pu être notées. Il apparaît clairement que seul le genre *Turbinaria* présente une activité anti-radicalaire. Néanmoins, cette activité reste faible en comparaison des témoins positifs. L'activité anti-oxydante est, quant à elle, présente chez toutes les algues étudiées mais avec des valeurs variables. Le genre *Turbinaria* possède également l'activité anti-oxydante la plus élevée. Les activités anti-oxydantes sont cependant faibles par rapport à celles observées chez les témoins positifs.

Il est cependant intéressant de constater que l'activité anti-radicalaire la plus élevée est présente chez *Turbinaria conoides*, alors que l'activité anti-oxydante la plus importante est visible chez *Turbinaria ornata*. Les teneurs en composés phénoliques de ces deux espèces sont néanmoins différentes (teneur supérieure pour *Turbinaria conoides*). Nous pourrions alors envisager que l'activité anti-radicalaire résulterait majoritairement des composés phénoliques.

Fujimoto et Kaneda (1984) et Pavia et al (1997) ont démontré l'existence d'une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-radicalaire. Cependant, dans cette étude, aucune corrélation significative n'a pu être démontrée. Une corrélation similaire entre composés phénoliques et activité anti-oxydante a également été montrée dans la littérature (Pavia et al., 1997). Comme précédemment, nous ne pouvons confirmer la littérature. La quantité de polyphénols ne semble donc pas déterminer ces activités comme nous l'avions supposé précédemment. Les différences d'activités seraient probablement le fruit de différences qualitatives dans la nature de ces composés phénoliques (Koleva et al., 2002). En effet, ces auteurs ont montré que l'activité anti-oxydante ferait majoritairement appel à des composés lipophiles (pigments apolaires, lipides neutres, acides gras, phospholipides...). Leur étude a prouvé que l'activité anti-oxydante dépend du substrat employé et que l'acide linoléique utilisé dans la méthode du  $\beta$ -carotène peut influencer le degré de dissociation des antioxydants acides. Ainsi, il apparaîtrait que les genres *Sargassum* et *Cystoseira* et l'espèce *Turbinaria ornata* possèderaient une activité anti-oxydante due à des composés lipophiles, confirmant les résultats obtenus par Le Lann en 2006.

Il a été démontré que la production de polyphénols polaires nécessiterait une demande énergétique moindre que celle de métabolites secondaires lipophiles. Or, les composés phénoliques apolaires sont majoritairement retrouvés chez les algues tropicales (Fox, 1981). En réalité, la majorité des théories établit un rapport entre la production des composés phénoliques et les facteurs environnementaux (nutriments, lumières). Steinberg et Paul (1990) ont proposé l'hypothèse selon laquelle la production de polyphénols polaires serait limitée par la disponibilité d'ions métaux

divalents, nécessaires à leur biosynthèse (Mayer et Harel, 1979). Ces métaux agiraient comme cofacteurs pour des enzymes telle que la polyphénol-oxydase ; ainsi, si les eaux tropicales sont déficientes en métaux traces, la production de composés phénoliques polaires pourrait être affectée. Ces explications pourraient expliquer le fait qu'une activité anti-radicalaire soit visible pour le genre *Turbinaria* sur le site de Côte Oubliée. En effet, il est important de rappeler que cette région subit des apports terrigènes pouvant apporter ces ions métaux.

De plus, l'effet antioxydant des composés lipophiles pourrait être l'action synergétique (Fujimoto et Kaneda, 1980). Les travaux de Le Tutour et al. (1998) confirment ceci en montrant que chez plusieurs espèces de Fucales tempérées, les composés lipophiles augmenteraient l'action anti-oxydante de la vitamine E.

Pour finir, il est possible, qu'en réalité, les activités anti-radicalaire et anti-oxydante soient présentes chez toutes les algues de cette étude, mais fournies par des composés autres que les polyphénols extraits. Ces activités pourraient également être apportées par des pigments tels que les caroténoïdes qui sont, grâce à leurs longues chaînes polyinsaturées, de bons piègeurs de radicaux libres (Krinsky, 1994). L'action anti-oxydante des caroténoïdes dépendrait également de la présence de vitamine E.

## IV - Conclusion

Grâce à cette étude, il apparaît que la teneur en composés phénoliques dépend de trois effets : un effet « genre », un effet « espèce » et un effet « site ». Le genre *Turbinaria* présente les quantités en polyphénols les plus importantes des trois genres étudiés ici. Les effets « genre » et « espèce » semblent fortement corrélés à l'effet « site ». En effet, les facteurs environnementaux affecteraient la production de polyphénols. Ces variations de teneurs résulteraient de :

- la chimie de l'eau due par exemple aux apports terrigènes ;
- l'hydrodynamisme plus ou moins important selon les sites ;
- les radiations lumineuses différentes selon la profondeur du site de prélèvement ;
- la présence ou l'absence de brouteurs ;
- les variations d'allocation d'énergie entre la reproduction, la croissance et la défense.

En ce qui concerne les activités anti-radicalaire et anti-oxydante, elles ne sont pas retrouvées chez toutes les algues de cette étude. Cependant, seules les activités résultant de composés phénoliques ont été ici étudiées. Le genre *Turbinaria* présente néanmoins les plus fortes activités avec des variations interspécifiques. Les genres *Sargassum* et *Cystoseira* ne possèdent quant à eux qu'une activité anti-oxydante qui pourraient être le fruit de composés lipophiles. Ces derniers augmenteraient l'activité anti-oxydante de la vitamine E.

Cependant, des travaux supplémentaires d'identification des composés lipophiles et hydrophiles des algues seraient nécessaires pour approfondir ce travail et vérifier les hypothèses établies quant à leur rôle dans les activités anti-radicalaire et anti-oxydante. Il serait également intéressant de mettre en évidence si des composés tels que des pigments seraient à l'origine d'activités anti-radicalaire et/ou anti-oxydante.

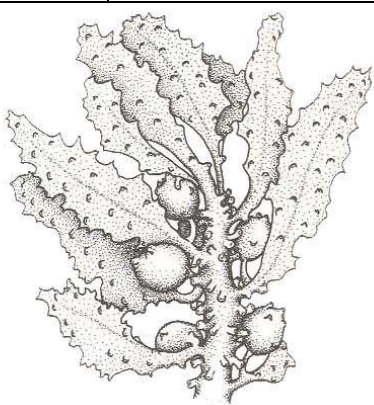
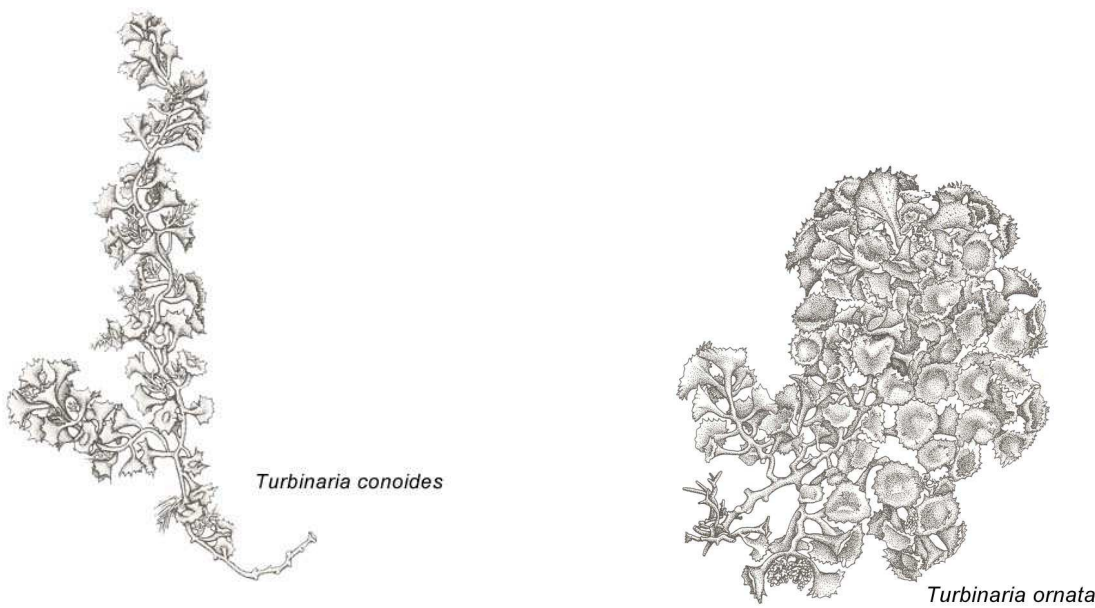
# V – Bibliographie

- CONNAN, S.** (2004) Etude de la diversité spécifique des macroalgues de la pointe de Bretagne et analyse des composés phénoliques des Phéophycées dominantes. *Thèse en vue de l'obtention du titre de Docteur de l'Université de Bretagne Occidentale, Spécialité Océanologie Biologique, Brest.* 280 pages.
- DE REVIERS, B.** (2003) Biologie et phylogénie des algues (tome 2). *Edition Belin Sup.*
- FOX, L.R.** (1981) Defense and dynamics in plant-herbivore systems. *Am. Zool.* 21. 853-864.
- FUJIMOTO K. & KANEDA T.** (1980) Screening test for antioxygenic compounds from marine algae and fractionation from *Eisenia bicyclis* and *Undaria pinnatifida*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 46 : 1125-1130
- HARRISON, P.G. & DURANCE, C.** (1989) Seasonal variation in phenolic content of eelgrass shoots. *Aquatic Botany, Vol. 35, No. 3-4, 409-413*
- KAUR, C. & KAPOOR, H.C.** (2002) Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology, Vol. 37, 153-161*
- HAY, M.E. & FENICAL, W.** (1988). Marine plant-herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Syst. Ecol.* 19: 111-145.
- KOLEVA, I.I.** (2002) Screening of Plant Extracts for Antioxidan Activity : a comparative study on three testing methods. *Phytochemical analysis* 13 : 8-17.
- KRINSKY, N.I.** (1994) The biological properties of carotenoids. *Pure & Appl. Chem., Vol. 66, No. 5, 1003-1010.*
- LE LANN, K.** (2006) Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différentes espèces de Sargassacées des Iles Salomon (Pacifique Sud). *Rapport de stage M2 Sciences de la Mer et du Littoral, mention Sciences Biologiques Marines, IUEM Brest.*
- LE LANN, K., KERVAREC N., PAYRI, C.E., DESLANDES, E., STIGER-POUVREAU, V.** (2008) Discrimination of allied species within the genus *Turbinaria* (Fucales, Phaeophyceae) using HRMAS NMR spectroscopy. *Talanta* 74: 1079-1083

- LE LANN, K., JEGOU, C., STIGER-POUVREAU, V.** (sous presse) Impact of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassaceae species: comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross . *Phycological Research*
- LE TUTOUR, B. BENSLIMANE, F., GOULEAU, M.P., GOUYGOU, J.P., SAADAN, B., & QUEMENEUR, F.** (1998) Antioxidant and prooxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata*, *Himanthalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. *J Appl Phycol* 10 :121-129.
- MARCO, J.G.** (1968) A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol. 45, No. 9, 594-598
- MAYER, A.M. & HAREL, E.** (1979). Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry* 18: 193-215.
- PAVIA, H., CERVIN G., LINGREN, A. & ABERG, P.** (1997) Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar Ecol Prog Ser* 157 : 139-146.
- RAGAN M.A. & GLOMBITZA K-W.** (1986) Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Physiological Research* 4 : 129-241.
- RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J. & PAGANGA, G.** (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Elsevier Science Ltd, Vol.2, N°4*
- STEINBERG, P.D.,** (1986) Chemical defenses and the susceptibility of tropical marine brown algae to herbivores. *Oecologia* 69 : 628-630.
- STEINBERG, P.D. & PAUL, V.J.** (1990) Fish feeding and chemical defenses of tropical brown algae in Western Australia. *Marine Ecology Progress Series* 58 : 253-259
- STEINBERG, P.D.** (1995) Seasonal variation in the relationship between growth rate and phlorotannin production in the kelp *Ecklonia radiata*. *Oecologia* 102: 169–173
- STIGER, V., DESLANDES, E. & PAYRI C.E.** (2004) Phenolic contents of two brown algae, *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia) : interspecific, ontogenic and spatio-temporal variations. *Botanica Marina* 47 : 402-409
- VAN ALSTYNE, K. L** (1995) Comparison of three methods for quantifying brown algal polyphenolic compounds. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 21, No 1, 45-58
- VAN ALSTYNE, K. L. & PAUL, V. J.** (1990) The biogeography of polyphenolic compounds in marine macroalgae : temperate brown algal defenses deter feeding by tropical herbivorous fishes. *Oecologia*,

# Annexes

Annexe 1 : Liste des Sargassaceae étudiées (source des schémas : NIO : National Institute of Oceanography)

Genre	Espèce	Station	Lieu de récolte	Date de récolte
<i>Cystoseira</i>	<i>sp</i>		Le Cap – Nouvelle Calédonie	Juin 2007
<i>Sargassum</i>	<i>polycystum</i>	FUGA	Fiji	Juin 2007
		ST14 = F14		
		ST 27		
	<i>sp</i>	ST 28	Le Cap – Nouvelle Calédonie	
		ST 3		
 <p><i>Sargassum polycystum</i></p>				
<i>Turbinaria</i>	<i>conoïdes</i>	ST 28	Le Cap – Nouvelle Calédonie	Juin 2007
			Côte Oubliée – Nouvelle Calédonie	Avril 2006
	<i>ornata</i>	ST 11	Fiji	Juin 2007
			Côte Oubliée – Nouvelle Calédonie	Avril 2006
 <p><i>Turbinaria conoïdes</i>                      <i>Turbinaria ornata</i></p>				

Annexe 2 : Caractéristiques des sites de prélèvements

Sit e	N° station	Latitude	Longitude	Date	Localité	Situation	Prof min i	Prof ma x	Commentaire	Distanc e parcour ue	Coura nt	Milieu	Typologi e 1	Typologi e 2
Fiji	ST 11	16°11.480	179°27.927	15/05/07	Vanua Levu	platier récifal de pente interner	2	3	platier corallien de dalle et sable grossier avec patch de madrépores	100	-	récif	récif barrière	pente externe
	FUGA			16/05/07		platier devant le village	0,5	1	platier de sable vaseux avec couverture de phanérogames et quelques zones de blocs coralliens détritiques portant de grandes Sargasses		nul	lagon	platier frangeant	herbier
	ST 14	16°08.181	179°39.624	17/05/07		platier intermédiaire	1	2	50	nul	lagon	platier interne	platier	
	ST 27	17°57.200	179°15.100	24/05/07	Ngau	platier côtier devant le village	0,5	1	bord de mangrove, platier envasé avec blocs détritiques, et bordure corallienne	100	nul	côtier	pente côtière	platier
Nouvelle Calédonie	NC	21°30'50''S	165°12'58''E	08/06/07	Le Cap Goulevin	platier côtier	1	2	herbier à phanérogames			lagon	platier interne	herbier
	ST 3	22°19'660S	165°52'118E	13/06/07	Prony			6	tombant du platier corallien frangeant			baie	pente côtière	platier
	ST 28	22°90'924S	166°53'336E	12/06/07			platier corallien frangeant							
	Côte Oubliée	21°59.398	166°44.991	26/03/06	Ouiné, Baie du Cap Tonnede		1	2	platier corallien frangeant, forte influence terrigène				platier interne	platier corallien

Annexe 3 : Teneurs moyennes en composés phénoliques d'espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* de différentes régions tropicales et subtropicales

Genres	Espèces	Composés phénoliques (% MS)	Références bibliographiques
<i>Sargassum</i>	<i>sp</i>	0,26 – 1,59 (GBR)	Steinberg (1986)
		1,59 ± 0,49 (T)	
		2,05 – 2,53	Steinberg <i>et al.</i> (1991)
		<b>0,63 ± 0,18 (NC – Le Cap)</b>	<b>cette étude</b>
	<i>polycystum</i> C.A Agardh	0,84 ± 0,23	Van Alstyne et Paul (1990)
	<b>0,25 ± 0,15 (Fiji)</b>	<b>cette étude</b>	
<i>Turbinaria</i>	<i>conoïdes</i> (J.Agardh) Kützing	1,57	Kesava Rao et Untawale (1990)
		1,68 ± 0,16 (Lau Lagoon, SI)	Le Lann (2006)
		1,27 ± 0,08 (Nggela NW, SI)	
		<b>1,10 ± 0,08 (NC – Côte Oubliée)</b>	<b>cette étude</b>
	<i>ornata</i> (Turner) J.Agardh	0,77 ± 0,14 (T)	Steinberg (1986)
		1,44 – 1,62 (G)	Van Alstyne et Paul (1990)
		0,93 – 0,97 (G)	Steinberg (1986)
		2,2 – 2,9 (Arue, T)	Zubia (2003)
		1,29 ± 0,012 (FR, Paea, T)	
		1,12 ± 0,012 (IBR, Punnauia, T)	Stiger <i>et al.</i> (2004)
		1,12 ± 0,004 (OBR, Punaauia, T)	
		1,41 ± 0,025 (Tahara'a, T)	Stiger <i>et al.</i> (non publié)
		1,58 ± 0,015 (Tarava, T)	
		0,26 ± 0,03 (AP. Island, SI)	
			<b>0,84 ± 0,04 (NC – Côte Oubliée)</b>
	<b>0,42 ± 0,04 (Fiji)</b>		

FR : récif frangeant (*Fringing Reef*) ; IBR : récif-barrière intérieur (*Inner Barrier Reef*) ;  
OBR : récif-barrière extérieure (*Outer Barrier Reef*) ; GBR : Grande Barrière de Corail  
(*Great Barrier Reef*), G : Gaum ; T : Tahiti ; SI : Iles Salomon (*Solomons Islands*) ; NC :  
Nouvelle-Calédonie

Source : STIGER *et al* (2004) et LE LANN (2006)

**Claire FERRET** : Rapport de stage de Master 1 Sciences de la Mer et du Littoral, mention Sciences Biologiques Marines, IUEM - 2008 :  
**Etude de la teneur en composés phénoliques et du potentiel antioxydant associé à ces composés, de plusieurs Sargassaceae du Pacifique Sud**

**Résumé** : Cette étude a eu pour but la détermination de la teneur en composés phénoliques (extraction méthanol 50 et dosage selon Folin-Ciocalteu) et des activités anti-radicalaire (méthode du DPPH) et anti-oxydante (méthode du  $\beta$ -carotène) chez des algues des genres *Turbinaria*, *Sargassum* et *Cystoseira*, récoltées dans le Pacifique Sud. La teneur en polyphénols dépend de trois effets : un effet « genre », un effet « espèce » et un effet « site » relativement marqué. L'activité anti-radicalaire n'est, quant à elle, retrouvée que chez le genre *Turbinaria*. Les composés lipophiles seraient à l'origine de l'activité anti-oxydante des algues des genres *Sargassum* et *Cystoseira*.

**Mots-clés** : composés phénoliques, activité anti-radicalaire, activité anti-oxydante, DPPH,  $\beta$ -carotène, *Turbinaria*, *Sargassum*, *Cystoseira*.



**Claire FERRET** : Work experience report of Masters degree 1 : “Sea and Coast Sciences speciality Marine Biology Sciences” IUEM - 2008 :  
**Study of the phenolic compounds content and antioxidant potential of these compounds, from several Sargassaceae from the South Pacific.**

**Abstract** : The aim of this study is to determine the phenolic content (extraction methanol 50 and measurement according to Folin-Ciocalteu) and the radical scavenging (using the DPPH method) and antioxidative (using the  $\beta$ -caroten method) activities among *Turbinaria*, *Sargassum* and *Cystoseira* seaweeds collected in the South Pacific. The content of polyphenols depends on three factors : a “genus” factor, a “species” factor and a reatively important “spatial” factor. Antiradical activity is present only within the genus *Turbinaria*. Lipophilic compounds would be at the origin of antioxidative activity for *Sargassum* and *Cystoseira* genera.

**Keywords** : phenolic compounds, radical scavenging activity, antioxidative activity, DPPH,  $\beta$ -caroten, *Turbinaria*, *Sargassum*, *Cystoseira*.