



E-ISSN: 2278-4136
P-ISSN: 2349-8234
JPP 2017; 6(5): 1510-1514
Received: 20-07-2017
Accepted: 21-08-2017

Ould Abdellahi Lella
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Kerrouri Saloua
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Bouabid Bahia
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

El Yahyaoui Ouafae
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Sammama Amal
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Ould Ahmed Beddih Mohamed Lemine
Agro physiologie biotechnologie
environnement et qualité, F.S de
l'université Ibn Tofail, Kenitra,
Maroc

Ould Habiboullah Habiboullah
Laboratoire Microbiologie, de
L'Institut Supérieur des Etudes
Technologiques de Rosso,
Mauritanie

M barek Idoumou
Agro physiologie biotechnologie
environnement et qualité, F.S de
l'université Ibn Tofail, Kenitra,
Maroc

Bengueddour Rachid
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Correspondence
Ould Abdellahi Lella
Laboratoire de Biochimie,
biotechnologie, environnement et
Santé, F.S de l'université Ibn
Tofail, Kenitra, Maroc

Phytochimic Screening and characterization of the substances present in the extracts of two marine algae: *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt, 1955 and *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson); Harvested from the bay of the star in Mauritania

Ould Abdellahi Lella, Kerrouri Saloua, Bouabid Bahia, El Yahyaoui Ouafae, Sammama Amal, Ould Ahmed Beddih Mohamed Lemine, Ould Habiboullah Habiboullah, M barek Idoumou And Bengueddour Rachid

Abstract

Algae are widely used products globally as medicinal products, cosmetic, and food condiment products. The natural substances derived have multiple interests. Among these compounds, secondary metabolites are to a large extent found. Phytochemical screening enabled us to demonstrate the presence of secondary metabolites in the plant tissues of our algae. The detection of these chemical compounds is based on tests of component solubility, precipitation and turbidity reactions, specific color change or ultraviolet light examination. In the present work, phytochemical characterizations of two macroalgae of the Mauritanian Atlantic coast (Baie de l'étoile) Have been carried out, to know; *Sargassum muticum*; *Cystoseira tamariscifolia*. The results obtained demonstrated the presence of several secondary metabolites which may be responsible for important biological properties.

Keywords: *Sargassum muticum*; *Cystoseira tamariscifolia*; Secondary metabolites; Bay of the star; Phytochemistry.

1. Introduction

Les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse [3]. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces [4]. Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques [16]. L'objectif de notre étude est porté sur une étude phytochimique de deux algues brunes *Sargassum muticum* et *Cystoseira tamariscifolia*, La recherche des groupes chimiques a été réalisée par des réactions en tubes. Le principe est soit basé sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur formation de complexes colorés en utilisant des réactions de colorations.

2. Matériels et méthodes

1) Préparation du matériel biologique

Une richesse importante en algues marines de différentes lignées ont été signalée, sur la côte Atlantique Mauritanienne au niveau de la Baie de l'étoile, Deux parmi les espèces recensées feront l'objet de notre étude à savoir, *Sargassum muticum* et *Cystoseira tamariscifolia* (Figure1).



Fig 1: (a) *Sargassum muticum* et (b) *Cystoseira tamariscifolia* (photo prise par l'auteur)

Les thalles de *Sargassum muticum* et *Cystoseira tamariscifolia*, ont été récoltés. Ces algues ont été rincées à l'eau de mer afin d'enlever leurs épiphytes et les débris adhérant à leurs thalles, puis placées dans des sacs en plastique. À leur arrivée au laboratoire, elles sont à nouveau rincées à l'eau distillée et séchées à l'air libre jusqu'à déshydratation complète, puis broyées pour obtenir une poudre fine qui servira pour la suite de notre étude.

2) Caractérisation des tanins

5ml de poudres obtenues ont été préparées sous forme d'infusion dans 100ml d'eau distillée bouillante. Après 15 min, l'infusé est filtré et rincé pour produire 100ml. Des tannins galliques hydrolysables sont accentués en ajoutant 15ml de réactif Stiasny à 30ml de l'infusé. Après 15 min de chauffage au bain marie à 90°C, le mélange est filtré et saturé par 5g d'acétate de sodium. Puis 1 ml d'une solution de FeCl₃ à 1% est ajouté. La présence de tanins galliques est indiquée par l'apparition d'une teinte bleu-noire. Les tannins non-hydrolysables de catéchol sont caractérisés par l'addition de 1ml de HCl concentré dans 5ml de l'infusé. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. La formation d'un précipité rouge insoluble dans l'alcool iso-amylque montre la présence de tanins catéchiques [17].

Caractérisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes est caractériser par la réaction à la cyanidine : Dans un tube à essai 5 ml de l'infusé préparé au préalable a été ajouté à 5 ml d'alcool chlorhydrique (HCl concentré à 50% dans l'éthanol) et à 1 ml d'alcool iso-amylque l'ajoute de quelques morceaux de magnésium. Produise une réaction de précipitation pendant plusieurs minutes. Une coloration rose-orange (flavones) ou rose violacée (flavonones) indique la présence de flavonoïdes libres et le rouge indique la présence des flavanones et des flavanonols. La même réaction à la cyanidine citée précédemment a été réalisée mais sans ajout de morceaux de magnésium La solution est chauffée pendant 15 minutes sur un bain marie, l'apparition d'une coloration rouge-cerise caractérise la présence des leucoanthocyanes alors qu'une coloration brun-rouge montre la présence des catéchols [8].

- **Les anthocyanes** ont été identifiées par l'ajout de 5 ml du même infusé à 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 10% et 5 ml d'ammoniaque (NH₄OH) à 50%. Si la coloration de l'infusé s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique on peut conclure la présence de l'anthocyanine [5] [14].

Identification des dérivés anthracéniques

Pour les mettre en évidence, on a préparé un extrait chloroformique et ceci en mélangeant 1 g de poudre dans 10 ml de chloroforme puis on chauffe le mélange prudemment au bain-marie pendant 3 min, en suite on filtre a chaud puis on complète a 10 ml si nécessaire. A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, on ajoute 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentrée. On maintient le tube à essai dans le bain marie bouillant pendant 15 min. Puis on le refroidit sous un courant d'eau et on le filtre. Ensuite on complète à 10 ml avec l'eau distillée.

- **Dérivés anthracéniques libres**

On introduit dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique et 1 ml de NH₄OH dilué, puis on agite, La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres [1].

- **Dérivés anthracéniques combinés**

O-Hétérosides

On prélève 5 ml d'hydrolysate et on agite avec 5 ml de chloroforme, puis on soutire la phase organique et l'introduire dans un tube a essai et on ajoute 1 ml de NH₄OH dilué. Après agitation, la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides a genine réduite. On prélève 5 ml d'hydrolysate et on ajoute 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 %, puis on chauffe pendant 5 min au bain-marie. Après refroidissement, on agite avec 5 ml de chloroforme. Ensuite on soutire la phase chloroformique et l'introduire dans un tube a essai, puis on ajoute 1 ml de NH₄OH dilué et on agite. En présence des produits d'oxydation des anthranols ou anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment [1].

C-hétérosides

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hétérosides par 10 ml d'eau distillée et on ajoute 1 ml de FeCl₃ a 10%. Puis maintenir le tube a essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 min, après refroidissement on agite avec 5 ml de chloroforme, puis on soutire la phase chloroformique dans un tube à essai. On ajoute 1 ml de NH₄OH dilué et on agite. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de genines de C-hétérosides [1].

Caractérisation des Stérols et Polyterpenes

1g du matériel végétal est nécessaire pour préparer un macéré dans 20ml de l'éther pendant 24 heures dans un flacon en verre fermé. Ce macéré sert à la fois pour caractériser les stérols et polyterpènes, les caroténoïdes et les coumarines [10], 1ml de CHCl₃ est ajouté au résidu de 10ml du macéré évaporé. La solution obtenue est partagée dans deux tubes à essai. 1 à 2ml de H₂SO₄ est ajouté au le 1^{er} tube, le deuxième servira de témoin. La présence des stérols et polyterpènes est révélés par la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet au niveau de la zone du contact des deux solutions [10].

Caractérisation des caroténoïdes

2 à 3 gouttes du trichlorure d'antimoine saturé dans le chloroforme sont ajoutées au résidu de 5ml du macéré évaporé à sec. Une coloration bleue devenant rouge indique la présence des caroténoïdes [10].

Caractérisation des coumarines

En utilisant un Méthode avec NH₄OH sous UV décrit par [10]. 5ml de l'extrait éthéré sont évaporés à sec. Les résidus sont repris dans 2ml d'eau chaude et 1ml de NH₄OH à 25%. L'observation sous UV à 366nm d'une fluorescence bleue intense indique la présence des coumarines.

Caractérisation des saponines par indice de mousse

1g du matériel végétal réduit en poudre dans 100ml d'eau distillée bouillante permet d'obtenir un décocté à 1%. Ce dernier est ensuite mis au bain marie pendant 15 min à une température d'ébullition. Le décocté est ensuite filtré et réparti dans 10 tubes à essai de 1 à 10ml d'une manière successive. Le volume de chaque tube est complété à 10 ml par l'eau distillée. Chaque tubes est agité verticalement pendant 15 sec. La hauteur de la mousse est ensuite mesurée après 15min de repos. L'indice de mousse est calculé au niveau des tubes où la hauteur de la mousse est supérieure ou égale à 1cm selon la relation suivante:

Im = 1000/N (N : numéro de tube dans lequel la mousse est de 1cm) [10].

Caractérisation des sucres réducteurs

2 g de broyat de chaque espèce sont macérées dans 15ml de méthanol pendant 48h dans un flacon en verre à hermétiquement fermer. 5ml du macéré filtré est ajouté à 5ml de la liqueur de Fehling (2,5ml de la solution A obtenue par l'ajout de 2g de SO₄Cu à 50ml d'eau distillée et 2,5 ml de la solution B obtenue en dissolvant 7,5g de NaOH dans 50ml d'eau distillée puis ajouter 10g du Tartrate Na/K) et disposée dans un tube à essai. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive [19].

Caractérisation des alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendorff. on ajoute 1 ml de chaque extrait dans des tubes à essai et on ajoute 5 gouttes de réactif de Dragendorff, l'apparition d'un précipité orange, révèle la présence d'alcaloïdes [2].

Caractérisation des quinones libres

2g du matériel végétal sont macérés dans 20ml d'éther de pétrole. Après quelques minutes d'agitation, le mélange est laissé au repos pendant 12h. Quelques gouttes de NaOH 1/10 sont ajoutées à l'extrait d'éther de pétrole évaporé à sec. La présence de quinones libres est révélée par un virage de la couleur des phases aqueuses au jaune, rouge ou violet [7].

Test de mucilage

1ml du décocté des échantillons à 10% est additionné à 5ml d'éthanol absolu. La formation d'un précipité mousseux indique la présence de mucilage [10].

Recherche des stupéfiants

Pour mettre en évidence la présence de stupéfiants, Peser 0.5 g de poudre et l'introduire dans un tube à essai. Ajouter 5 ml d'éther de pétrole et agiter pendant 15 mn. Décanter la phase éthero-pétrolique dans une capsule. Evaporer à sec au bain-marie. Ajouter 3 à 4 gouttes de KOH à 5 % dans l'alcool. La coloration violette indique une réaction de Beam et donc positive [1].

Caractérisation des protéines

Les protéines ont été mises en évidence dans nos algues par la réaction du Biuret. 1g de broyat a été ajouté à 2 ml de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, auxquels sont ajoutées 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO₄ à 2%. Une coloration violette, quelque fois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive [19].

Caractérisation des lipides

2g du matériel végétal ont été macérés dans 15 ml d'éther du pétrole pendant 30 minutes. Le filtrat ainsi obtenu est évaporé. 3 gouttes de H₂SO₄ ont été ajoutées aux résidus. L'apparition d'une forte coloration violette ou verte témoigne de la présence des lipides [11].

Caractérisation des huiles essentielles

10ml de l'extrait au dichlorométhane 1% ont été évaporés à sec. Le résidu est ensuite dissous dans 3 ml d'éthanol. La solution ainsi obtenue est à nouveau évaporée à sec. La

sensation d'une odeur parfumée indique la présence des huiles essentielles [15].

Identification des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les polyphénols, a 2 ml d'extrait nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols [13].

Identification des composés cyanogénétiques

Trois grammes de matériel végétal sont mouillés avec quelques gouttes de chloroforme (CHCl₃) dans un tube à essai, ou est insère une bandelette de papier filtre imprégnée de picrate de sodium. Le tube est alors placé au bain-marie à 35°C pendant 3 heures. Un virage au rouge de la bandelette indique la présence des composés cyanogénétiques [6].

3. Résultats et discussion

Les résultats du criblage phytochimique sont rapportés selon le degré de réactivité (**Tableau1**):

- réaction franchement positive : + + + +
- réaction positive : + + +
- réaction moyennement positive : + +
- Réaction louche : +.

Tableau 1: Résultat du criblage phytochimique des deux espèces de macro-algues marines

Algues	<i>Sargassum muticum</i>	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>
Tests phytochimiques		
Tanins	Simple	+++
	Catéchiques	+++
	Galliques	-
Flavonoïdes	Flavonoïde libre	++
	Flavones	+
	Flavanones	++
	Anthocyanes	-
	Leucoanthocyanes	+
Dérivés anthracéniques	Libres	-
	O -hétérosides	-
	O -hétérosides génines	-
	C -hétérosides	+
Test de mucilage	+++	+++
Stérols et polyterpènes	++	++
Sucres réducteurs	++++	++++
Alcaloïdes	+	+
Saponines	+++	+++
Quinones	-	-
Coumarines	++	++
Caroténoïdes	++	+
Stupéfiants	-	-
Les huiles essentielles	+	+
Les lipides	++	-
Les protéines	-	-
Polyphénols	++	++
Composés cyanogénétiques	+	++

La Recherche des saponines par indice de mousse et test de mucilage

Les réactions caractéristiques des Saponines (Test de mucilage) ont donné des résultats positifs pour les deux espèces.

Tableau 2: La teneur et indice de mousse pour *Sargassum muticum*

Algues	<i>Sargassum muticum</i>										
	Dilution	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Mesure des mousses	0,2	0,4	0,6	0,7	1	1,3	2	2	2,2	2,2	
Im	200										
Type de saponine	Steroïdique										

Tableau 3: La teneur et indice de mousse pour *Cystoseira tamariscifolia*

Algues	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>										
	Dilution	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Mesure des mousses	0,3	0,4	0,4	0,6	0,7	1,2	1,4	1,5	1,5	1,6	
Im	166,66										
Type de saponine	Steroïdique										

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé mentionnés montrent la présence: des Tanins, Sucres réducteurs et des Saponines, avec une intensité importante dans les deux espèces. La présence des Polyphénols, Stéroïls, caroténoïdes, Coumarines, et Flavonoïdes ; avec une intensité moyennement positive. Les lipoides; avec une intensité moyennement positive pour *S.muticum*. Les Composés cyanogénétiques, et les dérivés anthracéniques ; avec une intensité moyennement positive pour *C.tamariscifolia*. Ainsi que Les Alcaloïdes, et Les huiles ont été présentés dans les deux espèces mais à une faible intensité. De même (Kornprobst 2005) ^[9]. Chez les algues brunes, les études ont surtout porté sur le genre *Cystoseira*., Ainsi, selon la synthèse effectuée par (Valls et Piovetti 1995) ^[18], dans leur étude ont mis en évidence la présence de ces composés. Ces groupes de molécules pourraient être à la base de l'effet antifongique. En effet, les polyphénols par exemple sont reconnus comme des molécules antibactériennes et antifongiques.

On remarque aussi l'absence des Quinones, Stupéfiants, et Les protéines, dans les deux espèces algales. Ces absences dans les deux espèces algales. Peut être due à la méthode d'extraction ainsi que la composition chimique des extraits préparés et la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire ^[12].

4. Conclusion

D'après les résultats obtenus d'une caractérisation qualitative des *Sargassum muticum*, et *Cystoseira tamariscifolia* ; les deux espèces ont montré une diversité très importante en métabolites secondaires (la présence de tanins, de flavonoïdes, de dérivés anthracéniques, de quinones, de plusieurs autres métabolites secondaires...) qui peuvent être à l'origine de propriétés thérapeutiques importantes et une utilisation répondue dans les domaines médicaux et cosmétiques ; par exemple : Les tests positifs de tannins et saponines dans les deux espèces présentant respectivement des propriétés anti diarrhéiques et antibiotiques ; La détection des terpènes des stéroïdes et des flavonoïdes dans les deux espèces qui sont des anti-inflammatoires, des antiseptiques et vitaminiques ; et la présence des alcaloïdes dans les deux espèces agissant sur le système nerveux central, les nerfs,... ceci pourrait être à la base de l'utilisation de ces deux espèces dans la médecine pour lutter contre les troubles du système nerveux central.

5. References

- Amadou D. Etude de la Phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium Guineense* Willd. (*Myrtaceae*). Thèse, de docteur en pharmacie, 2005.
- Azzi R. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre

dans l'ouest algérien : enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*ficus carica*) et de coloquinte (*citrullus colocynthis*) chez le rat WISTAR, thèse de doctorat, Tlemcen, 2012, 75.

- Belloum Z. Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes cas de l'espèce *Inula crithmoides* L. Mémoire de Magister. Université Mentouri. Constantine. Algérie, 2007 ; 169.
- Cuendet M. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: *Fagraea blumei* (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, 1999, 24.
- Debray M, Jacquemin H, Razafindrambo R. Travaux et documents de l'Orstom, 1971, 8.
- Dohou N. approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymelaeae lythroïdes, thèse de doctorat, Maroc, 2005, 59.
- Hanen N, Sami Z, Ingrid A, Jacques A, Emna A, Mohamed N. Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. Acta Bot. Gallica. 2011; 158(1):111-123.
- Harborne JB. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB), 1998.
- Kornprobst J-M. Substances naturelles d'origine marine : Chimiodiversité - Pharmacodiversité - Biotechnologie. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 2005, 1830.
- Mamadou B. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de NAUCLEA LATIFOLIA smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat, Mali, 2012, 92.
- Matenga M. Screening phytochimique de *Achillea Millefolium* l et *Bridelia Brideliifolia* et tests d'activité biologique sur *Escherichia Coli*, *Salmonella Polyvalente* et *Shigella Flexneri* par la méthode de tests antibiogrammes. Institut supérieur pédagogique de Bukavu - Licence en pédagogie appliquée, 1996.
- Michel T, Destandau E, Le Floch G, Lucchesi ME, Elfakir C. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. Food Chemistry. 2012 ; 131(3):754-760.
- N guessan K, Kadja B, Guede N Zirih, Traore D, Ake-assi L. screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays krobou (agboville, cote-d'Ivoire), Sciences & Nature. 2009; 6(1):1-15.
- Paris R, Moysse H. Précis de matière médicinale. Paris:

- Masson, 1969.
15. S Ilboudo, M Ouedraogo, N Some, M Ouedraogo, M Ouedraogo, PI Guissou. J. sci. Pharm. biol. 2009; 10:6-13.
 16. Thomas OP. Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Univesité Nice Sophia Antipolis, 2009.
 17. Trease E, Evans WC. Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). Journal of Medicine and scintific. Nigeria. ISSN 1682-4474. 1987; 4(3):179-182.
 18. Valls R, Piovetti L. The chemistry of the Cystoseiraceae (Fucales: Pheophyceae): Chemotaxonomic Relationships. Biochemical systematics and ecology. 1995; 23:723-745.
 19. Yves-Alain B, Janat A, Mamyrbekova B, Boua BB, Fézan H, Tra Bi *et al.* Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend, et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences et Nature. 2007; 4(2):217-225.