

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie des Produits Naturels

THEME

**Etude phytochimique et Evaluation de l'activité antioxydante
et anti radicalaire de l'algue marine brune *Dictyota dichotoma*
d'ouest de la cote marine algérienne**

Présenté par :

M. Bousalah Mohamed nadir

M. Lagraa Khaled

Devant le jury :

Président :	M. GHERMAOUI Mohamed	Maitre Assistant Classe B	Université de Laghouat
Rapporteur :	M. GOUZI Hicham	Maitre de Conférences Classe A	Université de Laghouat
Co-rapporteur	M. LEBOUKH Mourad	Maitre Assistant Classe A	Université de Laghouat
Examineur :	M. BENACEUR Farouk	Maitre Assistant Classe A	Université de Laghouat

Mai 2017

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour l'éducation et le soutien durant tout mon étude.

*À tous les membres de la famille bousalah
À mon binôme Khaled pour sa patience avec moi et à sa famille.*

À tous mes amis

À mes collègues de la promotion de biochimie 2017

À tous qui me connaisse de près et de loin.

Nadir

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour l'éducation et le soutien durant tout mon étude.

*À tous les membres de la famille Lagraa
À mon binôme Nadir pour sa patience avec moi et à sa famille.*

À tous mes amis

À mes collègues de la promotion de biochimie 2017

À tous qui me connaisse de près et de loin.

Khaled

REMERCIEMENTS

*Avant toute chose, nous remercions **DIEU**, tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*Tout d'abord nous tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur **Mr. Gouzi Hicham**, Maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également notre Co-promoteur **Mr. Laboukh Mourad**, pour toute l'aide qu'il nous a apporté et ses précieux conseils.*

*Nous tenons également à exprimer nos remerciements à monsieur le président **Mr. Ghermaoui Mohamed**, et monsieur le jury **Mr. Benaceur Farouk**, désignés parmi les enseignants du département de Biologie, université de Laghouat, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous remercions encore tous les enseignants qui nous accompagnent durant notre cycle d'étude et les travailleurs de la bibliothèque, et aussi les ingénieurs de laboratoire, pour son patience et son l'aide.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير ثلاث محاليل عضوية على النشاط المضاد للأوكسدة بالنسبة للطحلب البني *dictyota dichotoma* بالساحل الغربي الجزائري.

النتائج تظهر بأن مستخلص الميثانول يقدم المردود الأعلى بالنسبة لمستخلص الميثانول ب (15,75 %)

تبين الاختبارات الكيميائية النباتية أن المركبات الفينولية و المركبات التربينية و مركب السكر المرجع تمثل النسبة الأكبر في مسخلصات الطحلب الثلاثة، و الاختبار الكمي للمركبات الفينولية و المركبات الكاروتينية أن مستخلص الاسيتون يظهر الكمية الأعلى من المركبات الفينولية و المركبات الكاروتينية ب . $37,261 \pm 1,178$ mg EAG/gRS, 3867,87449 mg/L

يبين النشاط المضاد للأوكسدة باختبار محاصرة الجذر الحر DPPH بأن مسخلص الأسيتون يظهر أعلى نشاط مضاد للجذور الحرة بقيمة

$$EC_{50} = 3,30 \text{ mg/ml}$$

الكلمات المفتاحية *dictyota dichotoma* ؛ محلول الإستخراج ؛ القدرة المضادة للأوكسدة؛ التحاليل الكيميائية النباتية.

Résumé

Le présent travail a pour le but d'étudier l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydant de l'espèce d'algue brune *Dictyota dichotoma*, d'ouest de côté algérienne.

Les résultats trouvés indiquent que le méthanol donne un meilleur rendement d'extraction (15,75%).

Les tests qualitatifs phytochimiques montrent que les polyphénols, les composés réducteurs et les triterpènes sont les plus abondantes au niveau des trois extraits algaux. L'extrait acétonique est le plus riches en polyphénol totaux et en caroténoïdes avec les teneurs de 37,26 mg EAG/gRS, et 3867,87 mg/L, respectivement.

L'activité antioxydante mesurée la méthode de piégeage du radical DPPH indique que l'extrait acétonique a le pouvoir antioxydant le plus élevée avec une EC de 3,30 mg/ml.

L'algue marine *Dictyota dichotoma* est donc une source naturelle d'antioxydants capables d'être utilisés comme conservateurs alimentaires.

Les mots clés : *Dictyota dichotoma*, solvant d'extraction, .activité antioxydante, étude phytochimique.

Abstract

The present work aims to study the extraction solvents on the antioxidant activity of *dictyota dichotoma* brown algae of the Algerian west coast.

The yield results indicate that the methanol extract shows the highest with (15,75 %).

The qualitative phytochemical tests shows the abundance in the three solvents extract of phenolic compounds and reducing compounds and the triterpens. The acetone extract indicate the highest content of total phenolic and carotenoid content with $37,26 \pm 1,178$ mg EAG/g dw, 3867, 87mg/L, respectably.

The antioxidant activity measured by the trapping the DPPH free radical results indicates that the acetone extract has the highest antioxidant activity with $EC_{50} = 3,30$ mg/ml.

Keywords: *Dictyota dichotoma*, extract solvent, antioxidant activity, phytochemical study.

	Page
Tableau01 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues	04
Tableau02 : Analyse globale moyenne des algues en générale	09
Tableau03 : Les principales classes de composés phénoliques	25
Tableau04 : Résultats de l'effet du solvant sur le rendement d'extraction de l'algue marine brune <i>D. dichotoma</i> .	36
Tableau05 : Résultats des tests phytochimiques sur les 3 différents extraits algaux (<i>dictyota dichotoma</i>)	37
Tableau06 : Résultats de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur de l'extrait d'algue <i>D. dichotoma</i> en phénols et en caroténoïdes.	38
Tableau07 : Les valeurs d'EC ₅₀ de l'activité antioxydante des extraits d'algue brune et de l'acide ascorbique déterminé par la méthode DPPH.	41

	Page
Figure01 : algues verte <i>Ulva linza</i>	05
Figure02 : Algue brune (<i>phéophycées</i>)	05
Figure03 : Algue rouge (<i>rhodophycées</i>)	06
Figure04 : Algue bleu (<i>cyanophycées</i>)	07
Figure05 : Schéma d'un cycle de vie Mono génétique, exemple de la <i>cystoseire</i>	08
Figure06 : schéma d'un cycle de vie di-génétique d' <i>ulve</i>	08
Figure07 : schéma de cycle de vie tri-génétique, exemple de <i>Polysiphonia</i>	09
Figure08 : phlorotannins	10
Figure09 : Les polysaccharides sulfatés ont dérivé des algues marines : fucoidan, carraghénane et ulvan	12
Figure10 : des dérivés des caroténoïdes d'algues marines	12
Figure11 : Structure du fucosterol	13
Figure12 : structure des deux dérivés de phenylethylamine (a) PEA (b) N-ACPEA	14
Figure13 : thalle de <i>Dictyota dichotoma</i>	16
Figure14 : zonation benthique des algues.	16
Figure15 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.	20
Figure16 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	21
Figure17 : Réaction d'intervention du Glutathion peroxydase	23
Figure18 : Structure de l'acide ascorbique	24
Figure19 : La structure de base des tocophérols et tocotriénols	24
Figure20 : Structures de quelques antioxydants synthétiques	26
Figure21 : L'algue marine brune <i>Dictyota dichotoma</i> .	28
Figure22 : les étapes de l'extraction (macération, filtration, évaporation à sec)	29
Figure23 : les résultats de test de révélation des phénols (tannins catechique) (A) Extrait méthanol (B) extrait acétonique (C) extrait dichlorométhanique.	30
Figure24 : les résultats de test de révélation des stérols (A) extrait dichlorométhanique (B) extrait acétonique (C) extrait méthanolique	31
Figure25 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	32
Figure26 : Structure du radical DPPH	33
Figure27 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	34
Figure28 : résultats de dosages des phénols et des caroténoïdes Résultats de l'activité antioxydant mesurée par le test DPPH des extraits méthanolique (A), dichlorométhanique (B) et acétonique (C) de l'algue marine brune.	40
Figure29 : la proportionnalité de 1/EC50 vis-à-vis le teneur en caroténoïdes.	42
Figure30 : la proportionnalité de 1/EC50 vis-à-vis le teneur en polyphénols.	42

°C: Degrés Celsius.

µL : microlitre

AA : Acide ascorbique

AAR : Activité antiradicalaire

ADN : Acide nucléaire disoxyribose

BHA : l'hydroxyanisole butylé

BHT: l'hydroxytoluène butylé

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'acides gallique

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% d'une activité

ERO : espèce réactive d'oxygène

GSH-Px: Glutathion peroxydase

mg: milligramme

mL : millilitre

nm : nanomètre

PG: gallate de propyle

RLO : Radical libre oxygéné

RS : Résidu sec

SOD: Super oxyde dismutase

SPS : polysaccharides sulfatés

TBHQ: l'hydroxyquinone butylé tertiaire

UV: ultra-violet

MS : mass sèche

Sommaire

	Page
Dédicace	I
Remerciements	III
Résumé	IV
Liste des tableaux	V
Liste des figures	VI
Liste des abréviations	VII
1- Introduction	01
2- Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur les algues marines	03
I.1. Classification des algues	03
I.1.1. Les algues vertes (<i>Chlorophycées</i>)	04
I.1.2. Les algues brunes (<i>phéophycées</i>)	05
I.1.3. Les algues rouges (<i>rhodophycées</i>)	06
I.1.4. Les algues bleues (<i>cyanophycées</i>)	07
I.2. La reproduction des algues	07
I.3. Compositions bioactifs des algues marines	09
I.3.1. Les polyphénols	10
I.3.1.1. Les phlorotannins	10
I.3.1.2. Les tannins	10
I.3.1.2.1. Les tannins condensés	11
I.3.1.2.2. Les tannins hydrolysables	11
I.3.1.3. Les flavonoïdes	11
I.3.2. Les polysaccharides sulfatés (SPS)	11
I.3.3. Les caroténoïdes	12
I.3.4. Les stérols	13
I.3.5. Les éléments minéraux	13
I.3.6. Les alcaloïdes	13
I.3.7. Les vitamines	14
I.3.8. Les lipides	14
I.3.9. Les protéines	14
I.4. L'utilisation des algues	15
I.5. Présentation de l'espèce étudiée	15
I.5.1. Genre <i>Dictyota</i>	15
I.5.2. Systématique	16
I.5.3. Description de l'espèce	16
I.5.4. Zonation de l'espèce	17
I.5.5. Métabolites secondaires des dictyotacées	17
II. Généralité sur les radicaux libres, les antioxydants et le stress oxydatif	18
II.1. Les radicaux libres	18
II.1.2. Principaux radicaux libres et leur origine	19
II.1.2.1. Ion superoxyde $O_2^{\bullet-}$	19
II.1.2.2. Radical hydroxyle $OH^{\bullet}$	19
II.1.2.3. oxygène singulet $O_2^{\bullet}$	19
II.1.2.4. Source exogène des radicaux libres	19
II.1.2.5. Source endogène des radicaux libres	19
II.1.3. Rôle physiologique des radicaux libres	20
II.2. Les antioxydants	21
II.2.1. Les antioxydants naturels	22

Sommaire

II.2.1.1 Les antioxydants enzymatiques	22
II.2.1.2 Les antioxydants non enzymatiques	23
II.2.2 Les antioxydants synthétiques	25
II.3 Les stress oxydatif	26
3- Matériel et méthodes	
I. Matériel	28
I.1 Matériel biologique	28
I.2. Produits chimiques	28
II. Méthodes	28
II.1 Préparation de l'extrait algal	28
II.2 Calcul du rendement d'extraction	29
II.3 Tests phytochimiques	29
II.3.1 Les composés réducteurs	29
II.3.2 Les acides aminés	29
II.3.3 Les phénols	30
II.3.4 Les flavonoïdes	30
II.3.5 Les stérols et les triterpènes	30
II.3.6 Les saponosides	31
II.3.7 Les alcaloïdes	31
II.4. Dosage des phénols totaux	31
II.4.1 Principe de dosage	32
II.4.2 Protocole expérimentale	32
II.5. Dosage des caroténoïdes	33
II.6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH	33
II.6.1 Le principe	33
II.6.2 Protocole expérimentale	34
II.6.3 Détermination de la valeur IC ₅₀	35
II.7 Analyses des données	35
4- Résultats et discussion	
I. Rendement d'extraction	36
II. Les tests phytochimiques	37
III. Teneur en polyphénols et en caroténoïdes	38
IV. Etude de l'activité antioxydante (piégeage de DPPH)	39
5- Conclusion	43
6- Références bibliographique	44



Introduction

La biodiversité des macroalgues, rouges (rhodophycées), brunes (phéophycées) et vertes (chlorophycées) offre la possibilité de trouver diverses variétés de composés naturels ayant des propriétés biologiques intéressantes **(Andrade et al., 2013)**.

Dans quelques études chimiques indiquent que les algues marines produisent centaine de métabolites secondaires à propriété antioxydantes dont la capacité de piégeage des radicaux libres. Ces métabolites secondaires sont fréquemment trouvés dans les algues brunes et rouges **(Renato C, et al., 2000, Ahmed. A, 2008)**.

Dans le corps humain, les produits chimiques exogènes et les processus métaboliques pourraient produire fortement des radicaux libres, particulièrement l'espèce réactive d'oxygène (ERO), capable d'oxyder les biomolécules, ayant pour résultat la mort des cellules et la destruction des tissus **(Halliwell et Gutteridge, 2003)**. D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqués dans le début de beaucoup de maladies telles que le cancer, arthrite rhumatoïde et athérosclérose aussi bien que dans les processus dégénératives liés au vieillissement **(Halliwell et Gutteridge, 1984)**. Pour cela, les antioxydants naturels représentent des outils prometteurs pour se protéger contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres **(Roy et al., 2011)**.

La cellule possède un système de défense appelé système antioxydatif. Ce réseau d'antioxydants, enzymatiques ou non, permet à notre corps de se défendre contre les substances réactives oxygénées **(Koen, 2004)**.

Par conséquent, le présent travail a pour objectif d'étudier l'activité antioxydante de l'algue marine brune *Dictyota dichotoma* récoltée de la côte marine de Salamandre de la Wilaya de Mostaganem.

Pour cela, nous avons étudié l'effet du solvant d'extraction sur le rendement et sur le pouvoir antioxydant de l'extrait algal. Nous avons également réalisé des tests phytochimiques pour connaître les principaux constituants qui pourraient être responsables de l'activité antioxydante.

La présentation de cette étude a été organisée en trois grandes parties. La première partie concerne un rappel bibliographique sur les radicaux libres, le stress oxydatif, les antioxydants et les algues marines. Le matériel et les méthodes utilisées lors de cette étude seront décrits dans la deuxième partie. Enfin, la troisième présente les résultats obtenus et leur interprétation.



Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les algues marines

Les organismes marins sont des sources potentiellement prolifiques des métabolites secondaires hautement réactives qui pourraient représenter des pistes utiles dans le domaine pharmaceutique **(Ali, 2010)**. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, ont élaboré des défenses chimiques **(Paul, 1987)**.

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans nos plans d'eau, elles sont capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse **(Rivard-Sirois, 2005)** sont classées dans le groupe de « thallophytes » (Hervé, 2012) de plus les algues ou les « *phycophytes* » sont des thallophytes chlorophylliens donc ils sont autotrophes **(Roland, 2008)**.

Les algues sont un groupe hétérogène de plantes aquatiques. Deux types majeurs d'algues peuvent être identifiés, les (macro-algues) algues occupent la zone littorale, qui comprend les algues vertes, les algues brunes, les algues rouges, et les (micro-algues) sont trouvées dans les habitats benthiques et Littoraux **(Ali, 2010)**.

Il y a des algues pratiquement par toute notre planète. Très peu exigeantes, il leur suffit d'un brin de lumière et d'un soupçon d'eau pour se développer. Les plus part des algues vivent en effet dans les océans, elles y représentent plus de 90 % des végétaux. Les grands algues vivent plutôt le long des cotés rocheuses, depuis la zone balayée par les marées jusqu'à 150 voire 200 mètre de profondeur **(Le clerc, 2010)**.

I.1. Classification des algues

Les Algues ont des couleurs variées dues à la présence de pigments masquant plus ou moins la chlorophylle. Ce caractère conduit à subdiviser le groupe en trois grandes lignées qui s'opposent par un ensemble de caractères biochimiques, structuraux et fonctionnels **(Roland, 2008)**.

L'ensemble des algues a été classé selon leurs pigmentations en :

- Chlorophytes (Algues vertes)
- Rodophytes (Algues rouges)
- Phéophytes ou Chromophytes (Algues brunes)
- Cyanophytes (Algues bleues).

Tableau 1 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (**Géraldine et Céline, 2009**).

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments	Habitat
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500 d'espèces	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotènes	Eau douce, saumâtre, salée et terrestre
Phéophytes (Plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a,c) Xanthophylles Carotènes	Eau salée et saumâtre
Rhodophytes (Plantes)	Algues rouges	390 d'espèces	Chlorophylle (a rarement d) Xanthophylles, Carotènes, Zéaxanthine, Phycocyanine Phycoérythrine	Eau douce, saumâtre et salée
Cyanophytes (Procaryotes)	Cyanobactéries algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a), Allophycocyanines, Phycocyanine, Phycoérythrine, Phycoérythrocyanine	Eau riche en minéraux

I.1.1. Les algues vertes (*Chlorophycées*)

Jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux. Elles sont de formes très variées, uni- ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés carotènes et xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures. (**Perez, 1997**). Les algues vertes ont également une taille réduite, la plupart des algues vertes vivent dans les eaux douces. Seulement 10 % environ des algues vertes vivent dans l'eau salée. Les algues vertes. Marines vivent surtout dans les eaux les moins profondes. (**Raven et al., 2007**) Elles sont le plus souvent présentes dans des aquariums où l'éclairage est excessif. Cependant, leur présence peut aussi être le signe d'un déséquilibre biologique à cause d'une montée de nitrates (NO₃). Ceux-ci se forment après décomposition de la matière organique par les bactéries. (**Cavalla, 2000**).



Figure01 : algues verte *Ulva linza* (Benguedda-Rahal, 2011).

I.1.2. Les algues brunes (*phéophycées*)

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardiere, 2004**) et Ces sont des algues annuelles dont on dénombre 1500 espèces. Ce sont des algues qui peuvent atteindre 50 mètres de long et dont les plus connues sont les algues wakamé, kombu, aramé ou spaghetti de mer (**Géraldine et al., 2009**).



Figure 02: Algue brune (Bengueda-Rahal, 2011)

I.1.3. Les algues rouges (*rhodophycées*)

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent

leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes: celui des bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon-Lardiere, 2004**). Les algues rouges sont d'ordinaire de plus petite taille, leur longueur allant d'habitude de quelque centimètres à environ un mètre; toutefois les algues rouges ne le sont pas toujours; leur couleur est parfois pourpre, même rouge brun, mais les botanistes les classent néanmoins parmi les Rhodophycées en raison de leurs autres caractéristiques (**Cadore, 2009**).

La plupart des algues rouges sont pluricellulaires, avec des thalles pouvant mesurer jusqu'à 30 cm de longueur. Les différentes espèces ont un mode de vie libre (parfois épiphyte) ou parasite.

Les parois d'algues rouges possèdent une charpente cellulosique, mais elles sont essentiellement constituées de mucilage contenant des agars et des carragénanes, tous polymères de galactose qui sont utilisés comme épaississants alimentaires. De nombreuses algues rouges forment en outre des dépôts de carbonate de calcium dans leurs parois. Ces algues appartiennent au groupe des *Corallinacées* (**Nabors, 2009**).



Figure 03: Algue rouge (**Splingart, 2013**)

I.1.4. Les algues bleues (*cyanophycées*)

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrines) qui masquent la chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse (**Garon-Lardiere, 2004**). On en dénombre environ 15000 espèces mais leur durée de vie n'est que de quelques semaines, Lorsque les conditions sont favorables (eau riche en minéraux, surtout le phosphore) elles se développent massivement. Malgré leur taille microscopique, elles forment alors de véritables colonies qui colorent l'eau, Certaines algues bleues produisent des toxines qui peuvent provoquer plusieurs types de maux au niveau de la peau, des voies respiratoires et digestives (**Géraldine et al., 2009, Cavalla, 2000**).

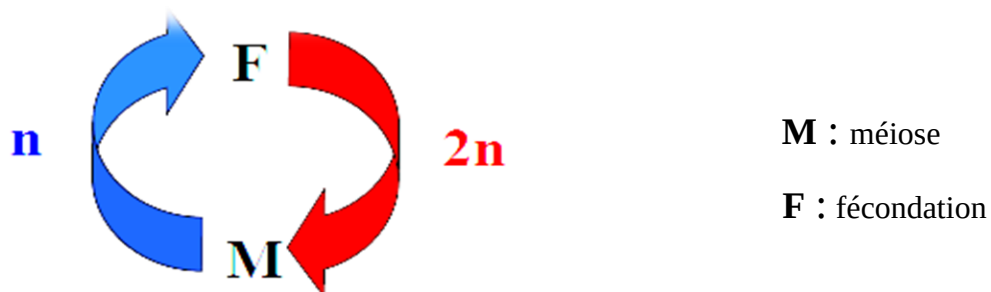


Figure 04: Algue bleu (**Géraldine et al., 2009**)

I.2. La reproduction des algues

Dans de très nombreux cas, la reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication sexuée qui consiste en la division d'une cellule isolée (Cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées: les spores. Les algues eucaryotes réalisent en plus une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux cellules reproductrices, ou gamètes, produit un œuf, ou zygote.

La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes), et de phases de reproduction sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes) (**Garon-Lardiere, 2004**).



Les macros algues germent à partir d'une cellule se fixant obligatoirement sur un substrat solide. Cette cellule se divise pour former un thalle. (**Lauret et al., 2011**).

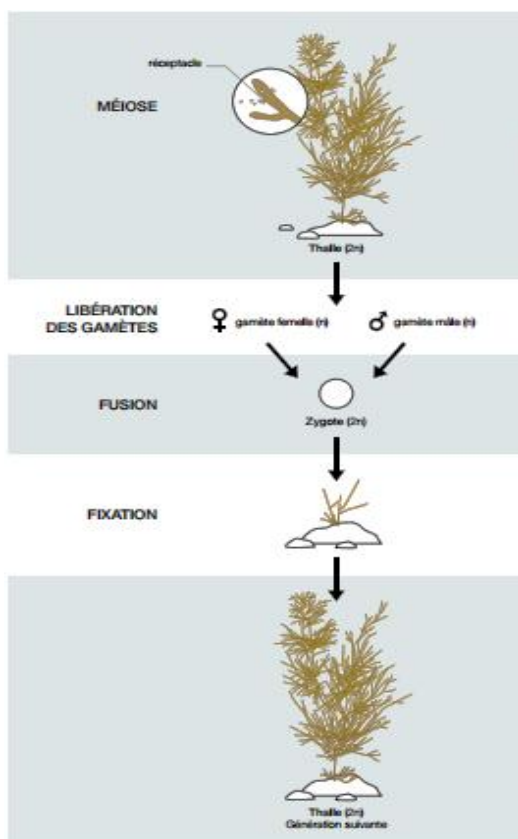


Figure 05: Schéma d'un cycle de vie Mono génétique, exemple de la *cystoseire* (**Lauret et al., 2013**)

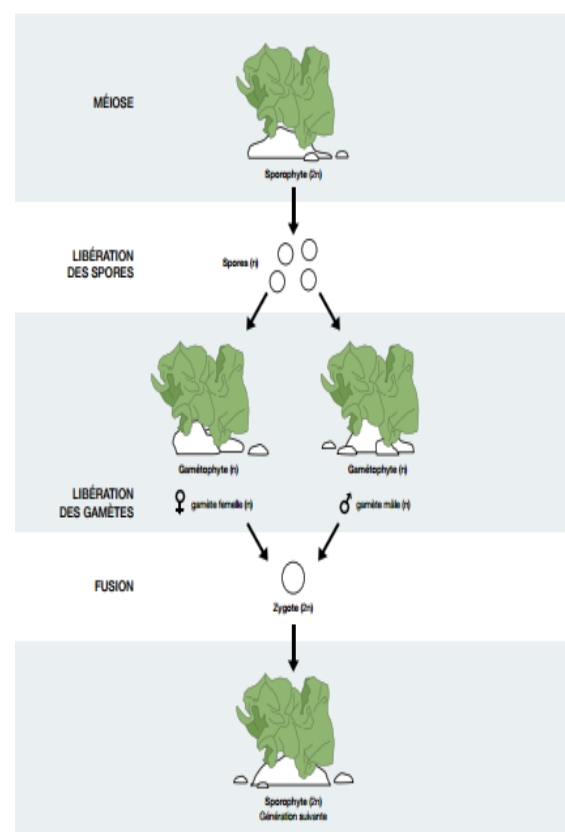


Figure 06 : schéma d'un cycle de vie di-génétique d'*ulve* (**Lauret et al., 2013**)

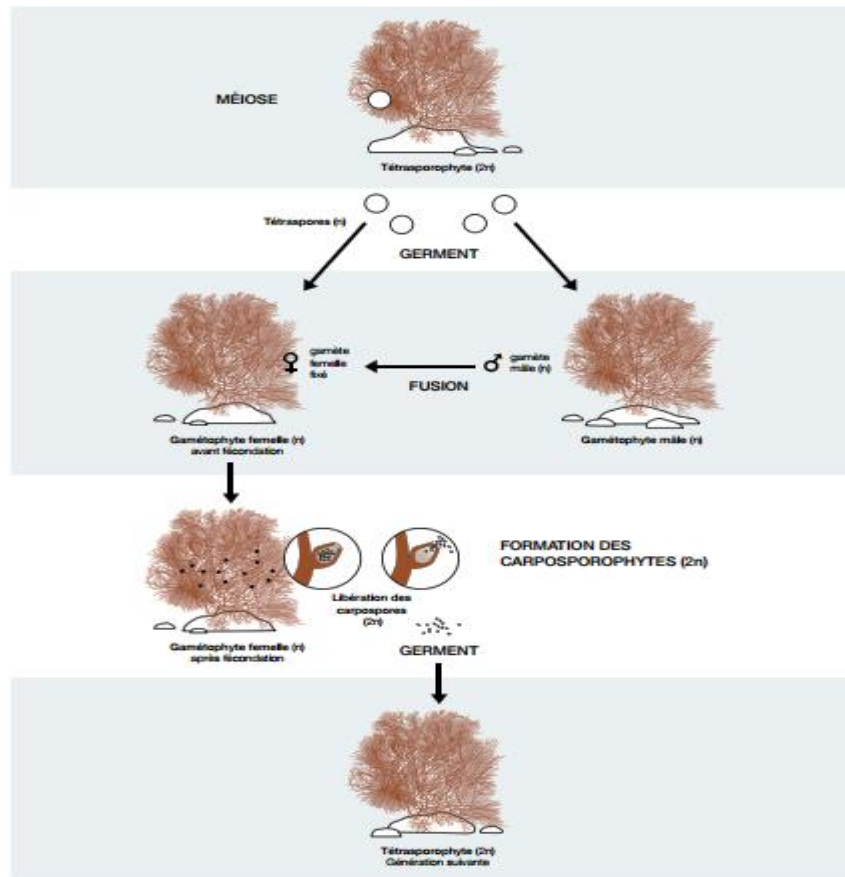


Figure07 : schéma de cycle de vie tri-génétique, exemple de *Polysiphonia* (Lauret et al., 2013)

I.3. Compositions bioactifs des algues marines

La composition biochimique des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance, stress...etc. (Julie, 2010). Elles se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage de glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes (Tableau 2).

Tableau 2 : Analyse globale moyenne des algues en générale (Donadieu, 1985).

Analyse globale moyenne

Eau	80%
Matières sèches.....	20%
Matières organiques.....	15%
Matières minérales.....	5%

I.3.1. Les polyphénols

I.3.1.1. Les phlorotannins

La plupart des algues marines contient des polyphénols algaux aussi appelé (phlorotannins). Les phlorotannins sont des constituant très hétérogène de molécules (structure et degré de polymérisation, les teneurs les plus élevées sont retrouvée dans les algues brunes qui contiennent 5-15% du poids sec Phlorotannins sont les composants fortement hydrophiles avec une large gamme de taille moléculaire entre 126 et 650 kDa .l'activité de l'extrait de polyphénols d'algues brunes et rouge été mise en évidence in vitro, les phlorotannins présentent autre action bénéfique sur la santé (antiprolifératif, anti-inflammatoire ,inhibe H_2O_2 , contre l'hypertension (**Chuikhi, 2013, Sathya et al., 2013**)

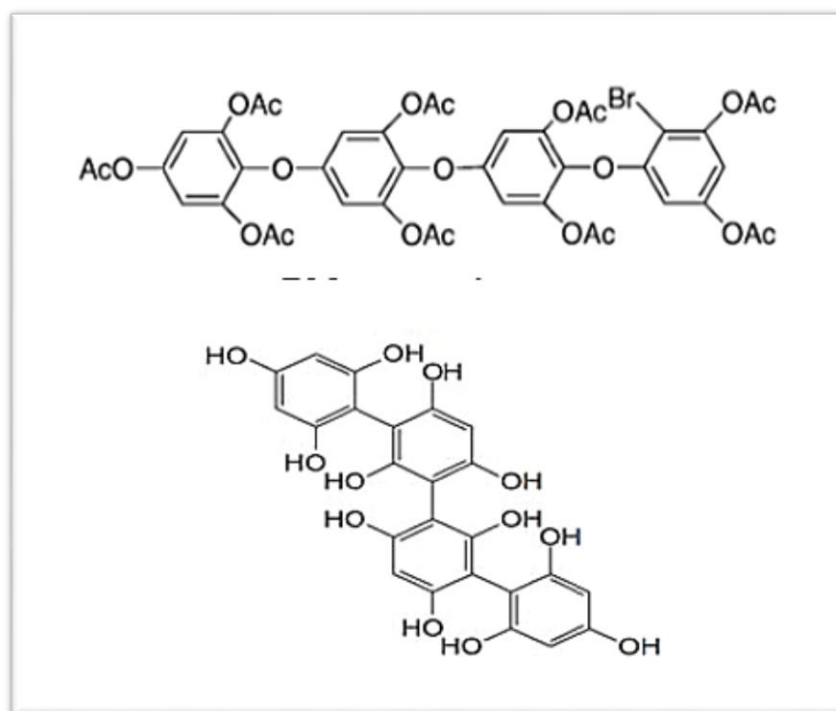


Figure 08 : Les phlorotannins (**Chuikhi, 2013**).

I.3.1.2. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (**Paris et Hurabielle, 1981**). On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

I.3.1.2.1 Les tannins condensés

Nommés également proanthocyanidines, les tannins Condensés sont des oligomères et des polymères de flavonoïdes. Les plus connus sont les Procyanidines qui sont des chaînes de catéchine et/ou d'épicatéchine liées par des liaisons carbone-carbone en 4-6 ou 4-8. En général, les tanins condensés ont des poids moléculaires plus élevés que ceux des tannins hydrolysables.

I.3.1.2.2 Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des oligo ou polyesters d'un sucre, en général le glucose, et de molécules d'acide-phénol. Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol: les tannins galliques possèdent un acide gallique, alors que les tannins éllagiques ont un acide hexahydroxyphénique. Le terme tannins hydrolysables indique leur sensibilité à l'hydrolyse acide. Ils sont notamment hydrolysés dans le tractus digestif des ruminants et leurs produits de dégradation sont absorbés. Ils peuvent être responsables d'intoxications, lors d'ingestion trop massive, et provoquent des lésions hépatiques et rénales. (Zitouni, 2015).

I.3.1.3. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiol, flavanols, flavondiol, aurones, chalcones, anthocyanines (Effendi et al, 2008).

I.3.2. Les polysaccharides sulfatés (SPS)

Les polysaccharides sont présentés par les alginates, les agars et les carraghénanes, les ulvanes et les fucoïdiens, qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et également d'autres branches de l'industrie. En outre les polysaccharides sont devenus une source importante de composés naturels bioactifs responsable de plusieurs effets physiologiques possibles (Chuikhi, 2013).

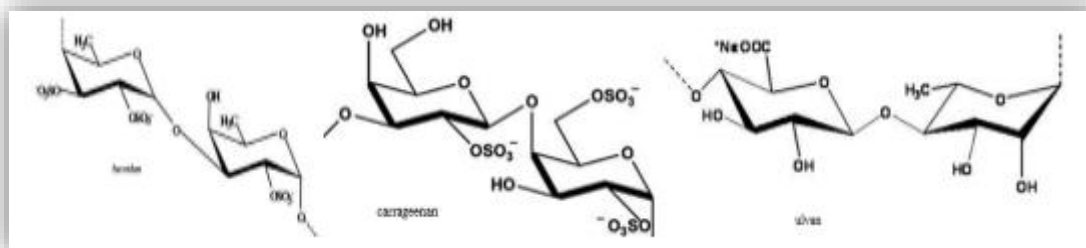


Figure 09 : Les polysaccharides sulfatés ont dérivé des algues marines : fucoidan, carraghénane et ulvan (Li et Kim, 2011).

I.3.3. Les caroténoïdes

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

La fucoxanthine : c'est un excellent antioxydant peut être utilisé comme médicament, il inhibe les cellules cancéreuse du colon, anti-mélanogènes, anti-inflammatoire.

Xanthophylles : sont des pigments de couleur jaune, orange, ayant une importance dans la prévention de cancer

β -carotène : est le pigment le plus important commercialement, utilise comme colorant jaune et comme source de rétinol (vit. A) dans le cadre de santé alimentaire (Chuikhi, 2013).

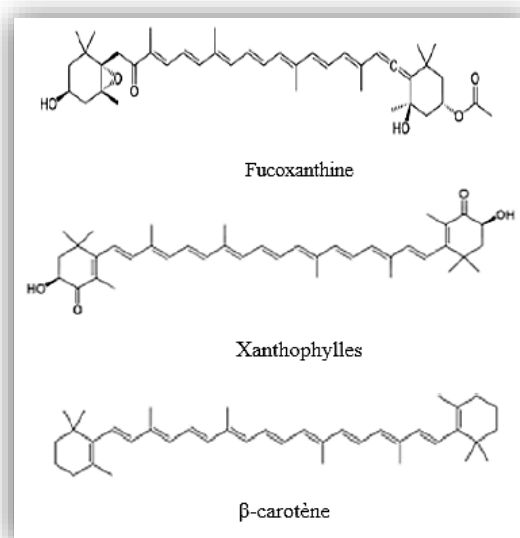


Figure10 : des dérivés des caroténoïdes d'algues marines (Chuikhi, 2013).

I.3.4. Les stérols

Le stérol le plus dominante est le fucostérol, bien reconnu pour plusieurs activités biologiques bénéfiques pour la santé, tels que, réduction du cholestérol, et des activités antidiabétiques. En outre, le fucostérol augmente l'activité de piégeage des radicaux libres par les enzymes, tels que le superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. En plus, le saringosterol, un dérivé du fucostérol, découvert en plusieurs algues brunes (Phéophyceae), tels que les *sonianigrescens* et *Sargassum ringgoldianum*, a montré un pouvoir inhibiteur de croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (Li et Kim, 2011). Les stérols des algues marines sont non-toxiques et ont la capacité de réduire le niveau de cholestérol dans le sang (Chuikhi, 2013).

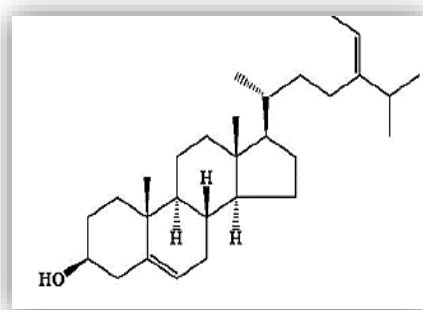


Figure 11 : Structure du fucosterol (Li et Kim, 2011).

I.3.5. Les éléments minéraux

Les algues puisent dans la mer une richesse incorporable d'éléments minéraux la fraction minérale peut présenter jusqu'à 36% de la masse séchée. La diversité des éléments représentés est énorme, calcium, sodium, magnésium, potassium, phosphore, iode, fer, zinc, sélénium etc. et un rapport élevée de calcium, potassium, magnésium et de sodium est associée à la pression systolique moyenne inférieure et moins de risque d'hypertension.

Tous les algues offrent un niveau extraordinaire de potassium qui similaire au niveau de plasma humain (Chuikhi, 2013).

I.3.6. Les alcaloïdes

Les composés azotés trouvés dans les algues marines sont relativement rares et peuvent être divisés en trois groupes: Phényléthylamine alcaloïdes, indoles et alcaloïdes indoliques halogénés et autres alcaloïdes. Structuellement, les alcaloïdes isolés des algues marines pour la plupart appartiennent à des groupes de la Phényléthylamine et de l'indole. (Gross et al., 2006). La recherche a été essentiellement axée sur la recherche des médicaments pour traitement de cancer (Chuikhi, 2013). La phényléthylamine et indole sont les alcaloïdes les plus isolés des algues marines.

Les activités des produits halogénés et non halogénés ont été signalées comme des composés bioactifs et comme sondes biologiques pour les études physiologiques, des activités biologiques ont été signalées dans des produits halogénés et non halogénés et rapportées comme composés bioactifs. (Alghazeer et al., 2013).

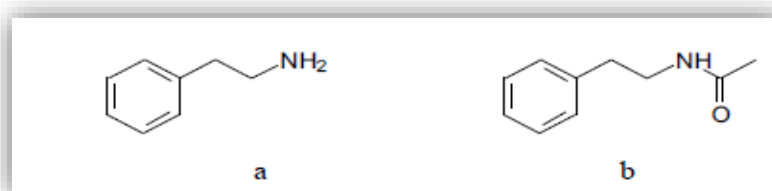


Figure12 : structure des deux dérivés de phenylethylamine (a) PEA (b) N-ACPEA (Kasim et.al., 2010).

I.3.7. Les vitamines :

La composition vitaminique des algues est intéressante, malgré de grandes variations saisonnières. L'ensemble des vitamines est bien représenté. L'intérêt principal réside dans la vitamine B12 dont les teneurs sont assez importantes dans les algues contrairement aux plantes terrestres qui en sont totalement dépourvues. Dans les algues où la forme active de la vitamine B12 est présente (et non l'analogue structural), cette vitamine B12 est bien assimilée (études in vivo chez le rat) (Marfaing, 2007).

I.3.8. Les lipides

Les lipides dans les algues peuvent être divisés en stérols tri .di ou mono-acylglycérol et phospholipides, la teneur lipidique est très faible de 1 à 5 % de matière sèche cependant d'une point de vue quantitatif, les lipides algaux présentent une propriété en acide gras essentiel important qui sont les acides gras ω -3 polyinsaturé (acide α - linoléique, acide eicosapentaénoïque(EPA)) et les acides ω -3 tel que 18 :4n-3 qui sont absents chez autre organisme. Ces acides gras protègent de la maladie cardiovasculaire et cérébo-vasculaire, et sont actif contre les œdèmes et contre l'inflammation, les érythèmes et le flux sanguin (Chuikhi, 2013).

I.3.9. Les protéines

La teneur en protéines des algues marines est variable. Une micro algue comme la spiruline en contient jusqu'à 70 % de la matière sèche Chez les macro-algues, certaines espèces d'algues rouges possèdent une fraction protéique (30–40 % de la matière sèche) comparable, du point de vue quantitatif, à celle des légumineuses (Marfaing, 2007).

I.4.L'utilisation des algues

Les algues ont été utilisées depuis longtemps : au début dans l'alimentation des populations des rivages asiatiques, ou comme engrais en Europe ou encore pour le bétail. Depuis le XVIIIème siècle, l'iode est extrait industriellement des algues au Japon. Les algues ont été et sont encore utilisées à de nombreuses fins (**Ainane, 2011**).

-Agro-alimentaire : Gélose et alginates utilisées comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants, gélifiants (additifs de E400 à E408), excipients (**Hillier, 2008**)

- Agriculture : utilisées comme engrais

-Industries chimiques : les frustules (enveloppes externes des diatomées) siliceux, sont utilisés comme abrasifs, ou isolants phoniques ou thermiques. Les colles, peintures, résines, caoutchoucs, savons utilisent des produits d'algues (**Kornprobst, 2005**).

- Médecine : en thalassothérapie, on utilise les bains d'algue (algorithérapie) pour traiter les rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur, en chirurgie ou en gynécologie,

- Pharmacie : on utilise les propriétés laxatives ou vermifuges (*Hypnea Carragheen*), anticoagulantes (*Phyllophora*) (**Falshaw et al., 2005**).

- dans le traitement des eaux usées :

Brièvement, deux grands champs d'études se dégagent concernant l'application des Algues dans le traitement des eaux usées. Le premier concerne le traitement des eaux domestiques et de l'agriculture afin de diminuer la teneur totale en azote et en phosphore. Le deuxième champ relève de la capacité de certaines espèces d'algue à détoxifier des eaux industrielles via la biosorption de métaux lourds (**Guillaume, 2011**).

I.5. Présentation de l'espèce étudiée

I.5.1 Genre *Dictyota*

Le genre de *dictyota* fait tribu des dictyotacae qui celle compte le plus grand nombre d'espèces parmi les dictyotacae. Plus précisément 76 espèces réparties dans l'ensemble des mers et des océans. En mer méditerranée, seul six espèces sont recensée : *D. dichotoma*, *D.fasciola*, *D. linearis*, *D. ciliolata*, *D. mediterranea* et *D. spilrais*

I.5.2 Systématique

- **Règne** : *Chromista*
- **Embranchement** : *Ochrophyta*
- **Classe** : *Pheophyceae*
- **Ordre** : *Dictyotales*
- **Famille** : *Dictyotaceae*
- **Genre** : *Dictyota* (**espèce** : *Dictyota dichotoma*)

I.5.3. Description de l'espèce

Le genre *dictyota* présente une grande diversité morphologique entre elles. Le thalle de *dictyota dichotoma* est aplati ruban ramifié (fig.14). La forme de l'extrémité du thalle est arrondie qui mesure 5-10 mm de large, ce thalle est environ 5cm de longueur en fonction du genre et de son stade de vie (Katsaros, 2007).

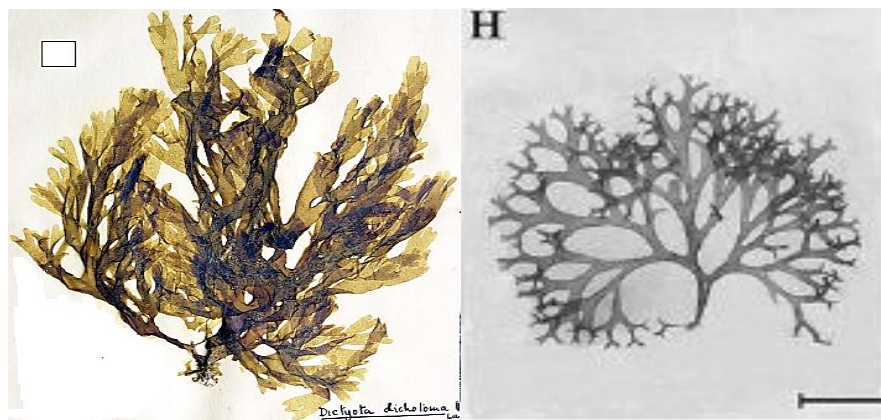


Figure 13 : thalle de *Dictyota dichotoma* (Hwang, et al., 2005)

I.5.4. Zonation de l'espèce

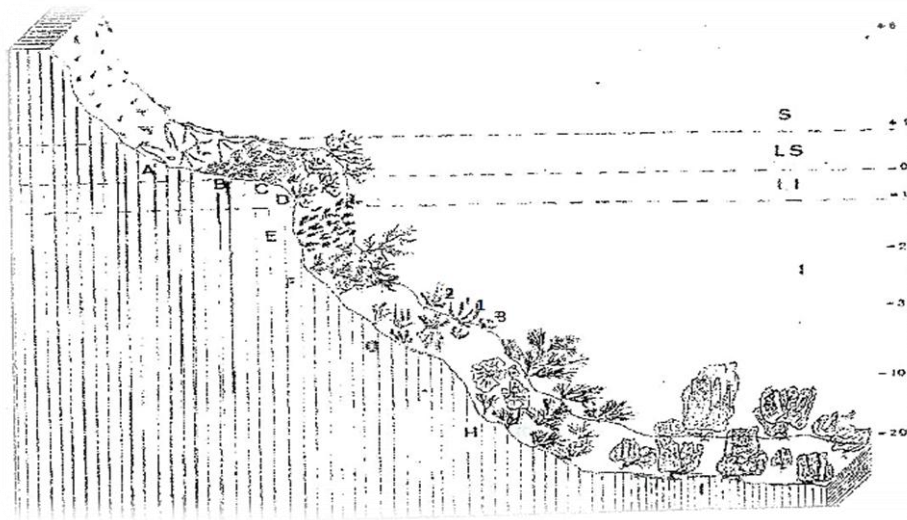


Figure 14 : zonation benthique des algues. (Riadi, 1998)

S : étage supra-littoral **LS** : étage médiolittoral supérieur **LI** : étage médiolittoral inférieur

I : infralittoral **1** : *asparagopsis armata* **2** : *Dictyota dichotoma* **3** : *Halopteris filicina*

I.5.5. métabolites secondaires des dictyotacae

Les algues brunes présentent une faible teneur en lipides et teneur élevée en polysaccharides, naturellement riche en minéraux, acides gras polyinsaturés et les phénols plus spécifiquement les phlorotannins les terpènes. (Mayalen et al., 2009)

D'un point de vue chimique, au sein des algues brunes les espèces issues de la famille des dictyotacae se distinguent par une production riche en métabolites secondaires, avec plus de 500 molécules qui sont majoritairement des terpènes (Marinlit, 2013). L'ordre Dictyotales a été identifié comme source exceptionnellement riche en terpénoides. Avec des études phytochimiques sur la famille de dictyotacae déclare qu'il y a plus de 300 diterpénoides issus de 35 espèces (Seif-Eldin et al., 2010).

II. Généralités sur Les radicaux libre, les antioxydants et le stress oxydatif

Le terme oxydation a d'abord désigne l'action des l'oxygène sur les éléments et le composés chimique(Le Coarer 2003). L'oxydation est essentielle à la production de l'énergie pour alimenter les processus biologiques (Elmastas *et al.*, 2007).L'état d'oxydoréduction, dont dépend la formation de « radicaux libres ». Du fait d'une implication majeure dans l'homéostasie énergétique, mais aussi dans l'organisation des mécanismes de défense et de signalisation cellulaire en général (Leverve, 2009).

Cependant, la production incontrôlée Des radicaux libres dérivés de l'oxygène Est impliquée dans le Apparition de nombreuses maladies telles que le cancer, la polyarthrite rhumatoïde, la cirrhose et l'artériosclérose Ainsi que dans les processus dégénératifs associés au vieillissement (Visioli *et al.*, 2000).

Presque tous les organismes Sont bien protégés contre les dommages causés par les radicaux libres, Par les enzymes oxydantes tell que superoxide dismutase SOD et la catalase CAT, ou des composés chimiques tels que a-tocophérol, Acide Ascorbique, caroténoïde, les polyphénols et Glutathion (Niki *et al.*, 1994).

Lorsque le mécanisme de protection antioxydant devient déséquilibré Par des facteurs tels que le vieillissement, une détérioration des fonctions physiologiques peut se produire, Entraînant des maladies et un vieillissement accéléré. Cependant, les Suppléments antioxydants ou des Aliments contenant des antioxydants Peut être utilisé pour aider le corps humain Pour réduire les dommages oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2003, Mau *et al.* 2001; Gulçin *et al.*, 2002a, b)

II.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie :

Radicaux primaires : dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO^{\bullet}$.

Radicaux secondaires : se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

II.1.2 Principaux radicaux libres et leur origine

II.1.2.1 Ion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'Energie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde : $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^{\bullet-}$. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions (Hadi, 2004).

II.1.2.2 Radical hydroxyle $\text{OH}^\bullet$

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (Hadi, 2004) .

II.1.2.3 Oxygène singulet $\text{O}_2^\bullet$

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité. (Hadi, 2004) .

II.1.2.4 Source exogène des radicaux libres

Les sources exogènes sont multiples : l'oxygène et l'oxygène hyperbare, les radiations (UV, rayons gamma) et certains toxiques comme la bléomycine, le benzopyrène et les polluants atmosphériques (Thiebault et Sprumont, 1997).

II.1.2.5 Source endogène des radicaux libres

Les sources métaboliques produisant les RLO sont nombreuses : chaîne respiratoire mitochondriale, cytochromes P-450, activité de la NADPH oxydase, myéloperoxydase, NO synthase, xanthine oxydase. (Afonso *et al.*, 2007).

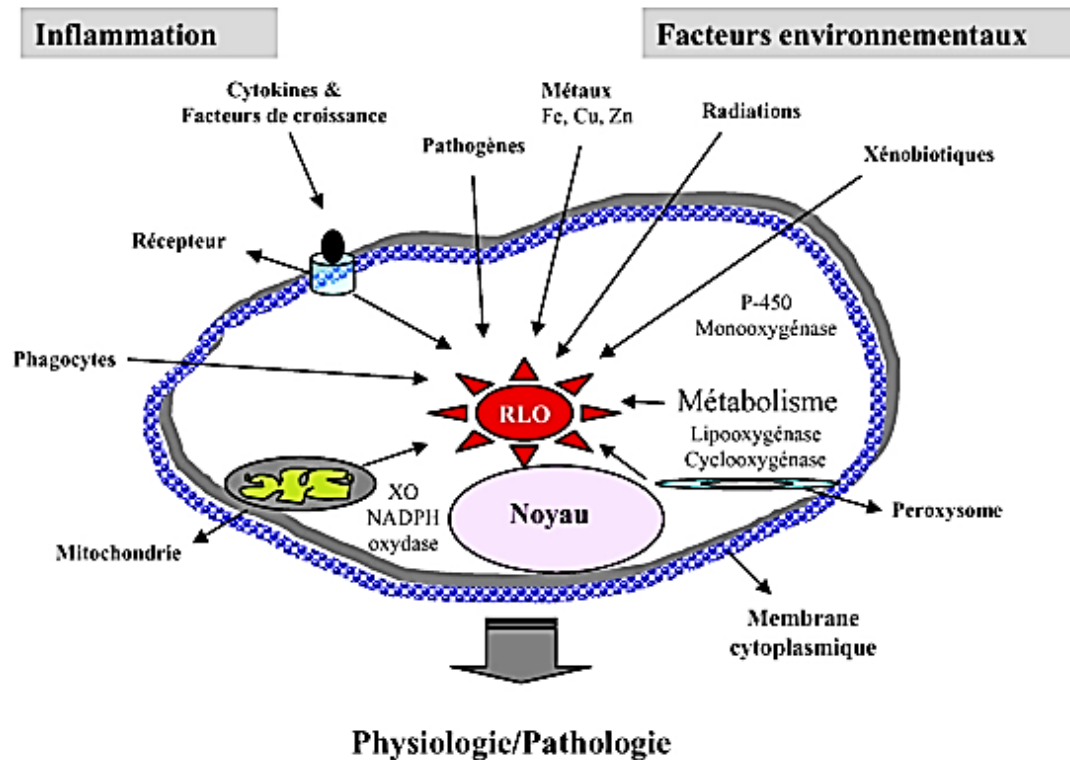


Figure15: Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène. (Afonso *et al.*, 2007).

II.1.3 Rôle physiologique des radicaux libres

Certains RLO sont utilisés par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions cellulaires comme la prolifération et la mort cellulaire programmée (apoptose), impliquant des modifications des voies de signalisation intracellulaires associées à une modulation de l'expression génique. En revanche, certains radicaux libres comme les peroxydes ($\text{ROO}^{\bullet}$) ou le $\text{HO}^{\bullet}$ sont extrêmement agressifs ; ils sont capables de fragmenter l'ADN, les structures lipidiques ainsi que les composantes matricielles. Ils sont aussi impliqués dans les modifications oxydatives des protéines qui peuvent mener à leur fragmentation chimique, ou à leur susceptibilité accrue à l'attaque protéolytique. (Haddad JJ. 2002).

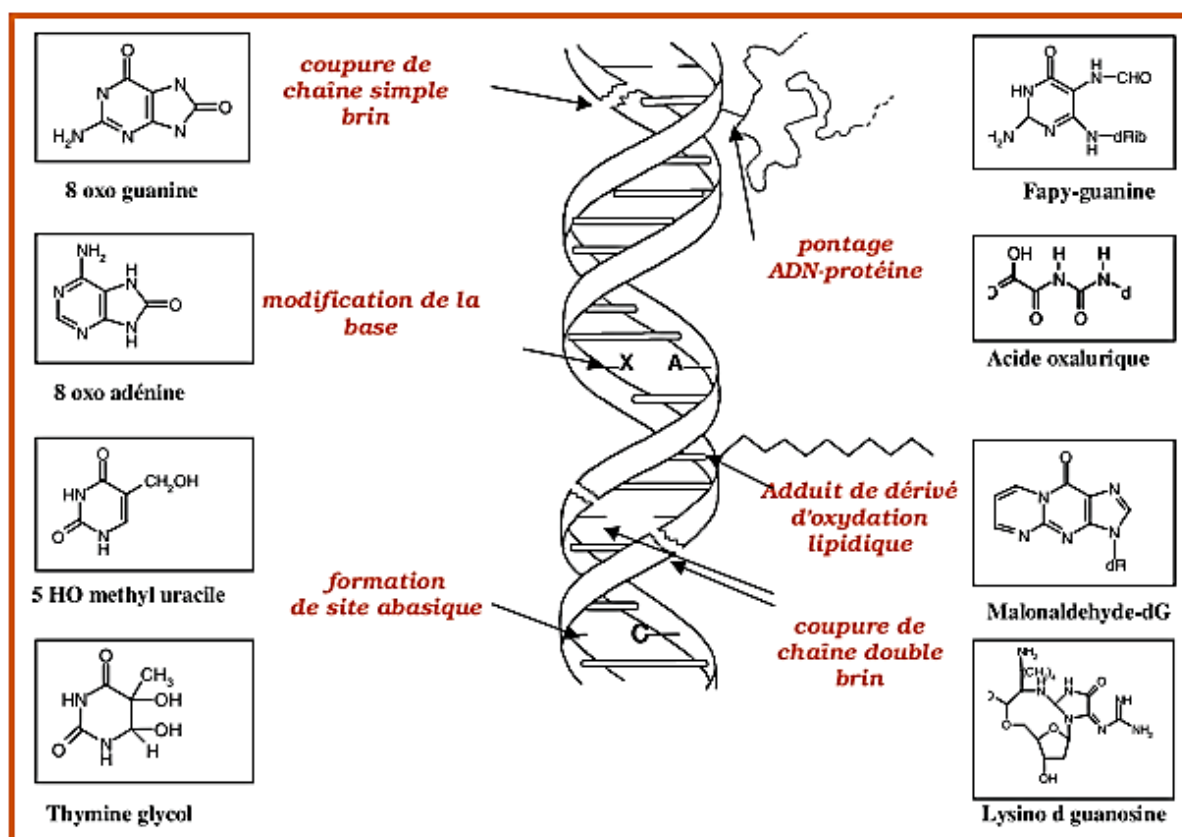


Figure16 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (**Favier, 2003**)

II.2 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui neutralisent les radicaux libres ou leur action. (**Sies, 1996**). Un antioxydant est n'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat de manière significative en donnant un électron et/ou un atome d'hydrogène. Les antioxydants peuvent agir de différentes manières: par chélation des métaux (empêchant la formation des radicaux libres), piégeage des radicaux libres, agissant comme une chaîne de rupture (arrêtant la propagation des radicaux libres), faisant partie du réseau antioxydant redox, et/ou de régulation de l'expression du gène (**Celep et al., 2012 ; Surh et Packer, 2005**).

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire. (**Tanguy et al., 2009**).

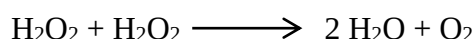
Les antioxydants sont classés comme suit (Vijay et Vimukta 2014, et Birben et al., 2012):

- Les antioxydants naturels ;
 - Antioxydants enzymatiques ;
 - Antioxydants non enzymatiques ;
- Les antioxydants synthétiques.

II.2.1 Les antioxydants naturels

II.2.1.1 Antioxydants enzymatiques

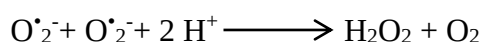
La catalase : C'est une enzyme présente dans les cellules des plantes, des animaux et des bactéries aérobies. La catalase est située dans une organelle cellulaire appelée le peroxysome. Elle favorise très efficacement la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire, une molécule de catalase peut convertir environ 6 millions molécules du peroxyde d'hydrogène chaque minute (Valko et al., 2006) selon la formule suivante :



Superoxyde dismutase SOD : Une autre famille enzymatique joue un rôle décisif dans l'élimination des radicaux libres, il s'agit des SOD qui transforment l'ion superoxyde (O_2^-), radical libre potentiellement très dangereux, en peroxyde d'hydrogène, ou eau oxygénée (H_2O_2), beaucoup moins dangereux.

Il existe deux SOD, l'une cytoplasmique (Cu^{++} , Zn^{++}) et l'autre mitochondriale (Mn^{++}). (Leverve, 2009)

La SOD catalyse la dismutation de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la réaction :



La glutathion peroxydase (GSH-Px) : Les GSHPx, enzymes antioxydants, constituent l'une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène. Les glutathions peroxydases sont chimiquement différentes mais partagent le même rôle de détoxifiant des espèces réactives de l'oxygène (peroxyde d'hydrogène et hydroperoxydes organiques). Leur activité enzymatique est directement proportionnelle à l'apport en sélénium et il existe donc un lien étroit entre la carence en sélénium et le stress oxydatif. (Ducros et Favier., 2004). Les GSHPx réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG). (Goudable et al., 1997).

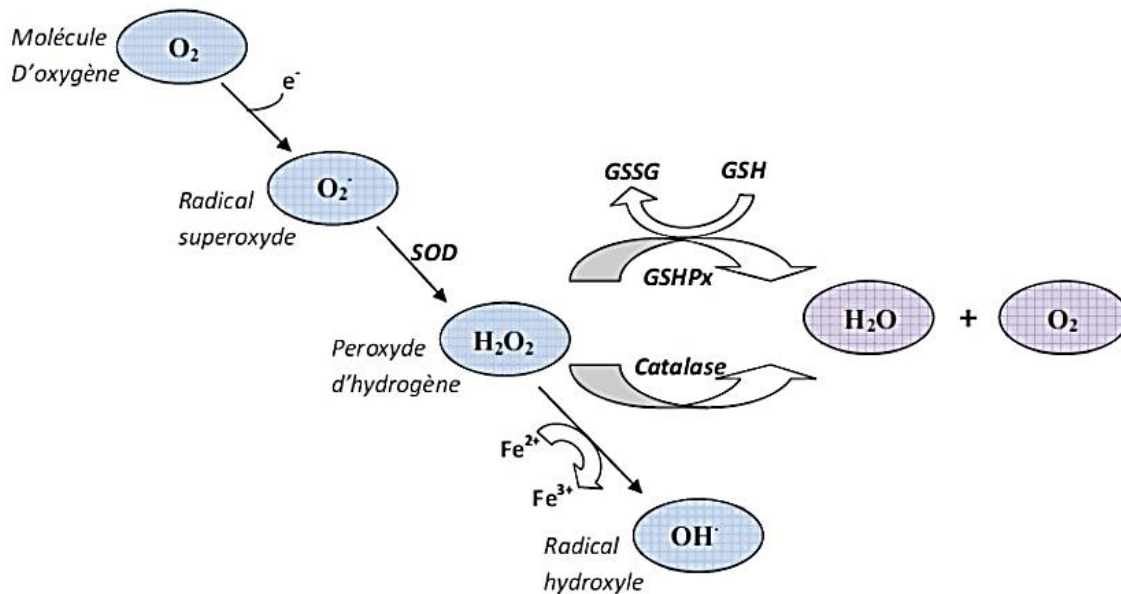


Figure17 : Réaction d'intervention du Glutathion peroxydase (Goudable *et al.*,1997).

II.2.1.2 Antioxydants non enzymatiques

Les caroténoïdes : Les caroténoïdes sont des pigments qui sont trouvés dans les plantes et les micro-organismes. Il y a plus de 600 caroténoïdes produits dans la nature (Valko *et al.*, 2006). L'activité antioxydante des caroténoïdes provient principalement du fait de la capacité de la structure à double liaison conjuguée à délocaliser les électrons non appariés. Cela est principalement responsable de la capacité excellente de β -carotène pour protéger physiquement l'oxygène singulet sans dégradation, et pour la réactivité chimique de β -carotène avec les radicaux libres, tels que $ROO^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$ et $O_2^{\cdot-}$. À des concentrations suffisamment élevées, les caroténoïdes peuvent protéger les lipides contre les dommages de peroxydation. Généralement, trois mécanismes sont proposés pour la réaction de radicaux libres avec les caroténoïdes : l'addition radicalaire, l'abstraction d'hydrogène du caroténoïde et la réaction de transfert des électrons (Valko *et al.*, 2006).

La vitamine C : La vitamine C (l'acide ascorbique ou, l'ascorbate) est un composé organique hydrosoluble exigé pour la synthèse des globules rouges et du collagène, elle est obtenue principalement par l'alimentation (Vélez-Alavez *et al.*, 2014). La vitamine C a des propriétés antioxydantes et des fonctions métaboliques importantes (Bourgeois, 2003) et agit comme un élément terminal dans la protection contre le dommage du tissu provoqué par les radicaux libres. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. (Bossokpi, 2002).

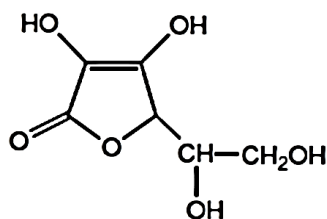


Figure18 : Structure de l'acide ascorbique (Diallo, 2005)

Vitamine E : La vitamine E naturelle est constituée d'une série de composés appelés tocophérols et tocotriénolsse représente sous forme de (α -, β -, γ -, δ -). C'est dans la stéréochimie du RRR- α -tocophérol, que la vitamine E présente l'activité biologique la plus élevée (Bourgeois, 2003). L' α -tocophérol, la forme principale de la vitamine E, est un antioxydant liposoluble, et il fonctionne comme un antioxydant de rupture de chaînes pour la peroxydation de lipide (LP) dans les membranes cellulaires et également comme un piègeur des ERO tel que l'oxygène singulet (**Barros et al., 2008**). La vitamine E est impliquée dans la réponse immunitaire et peut-être un de ses fonctions physiologiques principales pour protéger les membranes contre le dommage oxydatif (peroxydation de lipide) en réduisant les peroxydes lipidiques en alcool (**Vélez-Alavez et al., 2014 ; Bourgeois, 2003**).

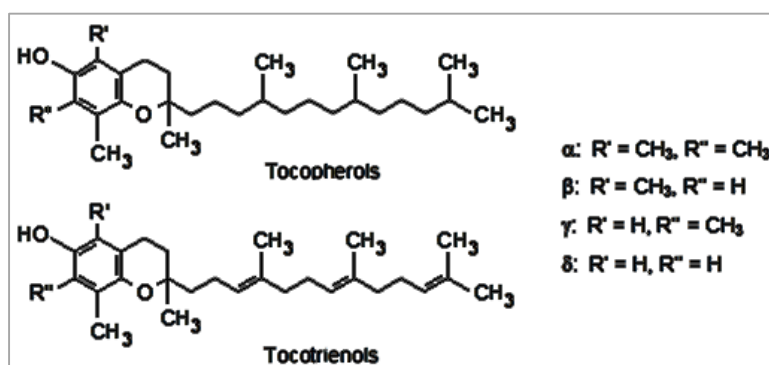


Figure19 : La structure de base des tocophérols et tocotriénols (**Lampi, 2011**).

Les polyphénols : Ce sont des composés aromatiques hydroxylés, possédant un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupements hydroxyle (**Palacios et al, 2011**). En nature, les composés phénoliques sont habituellement trouvés conjugués aux sucres et des acides organiques (**Matthews et al., 1997**).

Les polyphénols sont des antioxydants complexes avec une importance croissante de la santé publique, en particulier dans les domaines de la nutrition, et de l'épidémiologie.

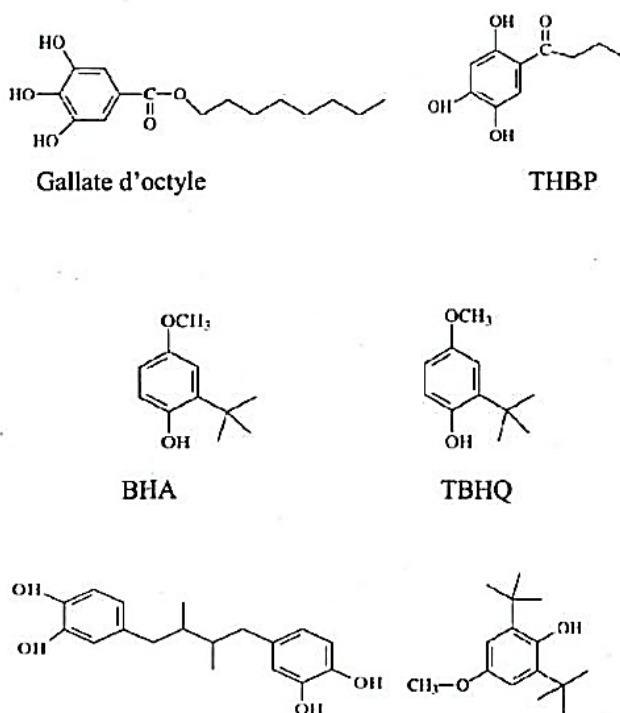
En fonction de leur structure et les caractéristiques physico-chimiques, leurs effets bénéfiques (par exemple, antioxydant, anti-inflammatoire et anti-tumoraux) peuvent varier (**Bruneton., 1993**).

Tableau 03 : Les principales classes de composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epice, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Napthoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₃	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	Flavanols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légume, fleurs
	Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, Raisin
	Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

II.2.2 Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des composés phénoliques synthétisés au laboratoire et ont été employés dans la stabilisation des aliments. Les plus largement utilisés sont l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyquinone butylé tertiaire (TBHQ), et le gallate de propyle (PG) qui sont souvent ajoutés aux aliments pour préserver les graisses contre la détérioration oxydative. Pendant les dernières décennies, il y a un intérêt croissant pour le remplacement des antioxydants synthétiques par des alternatives naturelles, à cause de leurs problèmes de sécurité et de toxicité (**Cheung et al, 2003 ; Shalaby et al., 2013 ; Zhang et al., 2007**).



Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) Di-tertbutyl-4-hydroxymethylphenol (IONOX-100)

Figure20: Structures de quelques antioxydants synthétiques (Bouabdallah, 2014).

II.3 Le stress oxydatif

En vie aérobie, les RLO sont formés dans le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène moléculaire. Malgré les défenses antioxydants, ces RLO cause des dommages constants aux molécules oxydables, qui sont Réparés où remplacés dans un équilibre dynamique. Le stress oxydatif provient soit de la surproduction des RLO, ou de l'insuffisance des mécanismes antioxydants de défense ou de Mécanismes de réparation et entraîne une lésion tissulaire réversible ou irréversible. (Dreher, 1996).

La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation française.

Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant, soit couplant la défense à l'énergie (comme la G6PD), soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux.

Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme. **(Favier, 2003).**

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53. **(Favier, 2003).**



Matériel et méthode

I. Matériel

I.1 Matériel biologique

L'algue marine brune *Dictyota dichotoma* utilisée dans cette étude a été récoltée au niveau de la cote marine de Salamandre (Mostaganem 09°02'50'' longitude Ouest et 32°44 '22'') en mois de Mars 2015. Après séchage à l'ombre à température ambiante les algues sont broyées à l'aide d'un mixeur en fine poudre qui sera stockée dans des flacons en verre pour son utilisation ultérieure.



Figure21 : L'algue marine brune *Dictyota dichotoma* (Hwang, et al., 2005).

I.2. Produits chimiques

Les principaux réactifs chimiques utilisés dans ce travail sont : le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH), le Folin-Ciocalteu (FC), le carbonate de sodium (Na_2CO_3), le chlorure ferrique hexahydraté ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sont fournis par Sigma-Aldrich-Aldrich Inc. (St Louis, Missouri, Etats-Unis). L'acide L-ascorbique (AA), l'acide gallique (AG), le méthanol, l'acétone, le dichlorométhane ont été fournis par Fluka (Deisenhofen, Suisse). Tous les autres produits chimiques sont d'un grade analytique.

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait algal

10 g de poudre des algues marines sont introduites dans un flacon en verre contenant 100 ml de méthanol (acétone ou dichlorométhane) absolu pour une macération de 24 heures à température ambiante. Le macéra obtenu est ensuite filtré sur papier filtre. Le filtrat récupéré est conservé et le matériel végétal est macéré une deuxième fois. Les filtrats sont regroupés puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse) à 45°C.

L'extrait sec est dissout dans un faible volume de méthanol pur à une concentration appropriée (150-250 mg/ml) puis stocké au réfrigérateur à + 4 °C dans des tubes en verre pour une utilisation ultérieure.



Figure 22 : les étapes de l'extraction (macération, filtration, évaporation à sec)

II.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Le rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait après évaporation du solvant}}{\text{masse de la poudre d'algue utilisée pour l'extraction}} \times 100$$

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 100 grammes de la matière sèche.

II.3. Tests phytochimiques

Des tests phytochimiques ont été effectués sur l'extrait d'algue brune *Dictyota dichotoma* pour détecter l'existence des différents composés selon le changement de coloration et la réaction de précipitation. Ces tests sont basés sur l'essai de la solubilité, des réactions de coloration ou de précipitation qui permet de détecter la présence des composés ou famille des composés physiologiquement actifs.

II.3.1 Les composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait (50µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) avec 2 de liqueur de Fehling (1ml de solution A+1ml de solution B), puis chauffer dans le bain marie. Un test positif est révélé par la formation de précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

II.3.2 Les acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec le réactif ninhydrine. 50µl d'extrait (50µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) 1ml de ninhydrine (1%) préparer dans l'éthanol.

Le mélange est chauffé dans le bain marie. La présence des acides aminés est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (**Harbone, 1998**).

II.3.3 Les phénols

On ajoute quelque goutte du chlorure ferrique (5%) à l'extrait diluée, en présence de tannins gallique on observe une coloration bleu noire, alors qu'en présence de tannins catechique cette coloration est brune verdâtre (**Rizk, 1982**).

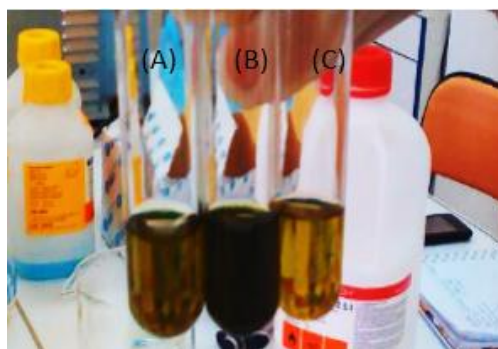


Figure 23: les résultats de test de révélation des phénols (tannins catechique)

(A) Extrait méthanol (B) extrait acétonique (C) extrait dichlorométhanique.

II.3.4 Les flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 50 µl d'extrait dilué par 1.950ml de méthanol avec 1 ml d'HCl (1%) et 100 µl de NaOH. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une coloration jaune (**Palaniselvam et al, 2014**).

II.3.5 Les stérols et les triterpènes

La révélation des stérols et les triterpènes ont été mis en évidence par la méthode de Liebermann. 1 ml de l'extrait brut a été évaporé à sec, le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique nous avons ajouté 0.5 ml de l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄).

L'apparition d'un anneau rouge ou violet à l'interphase, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

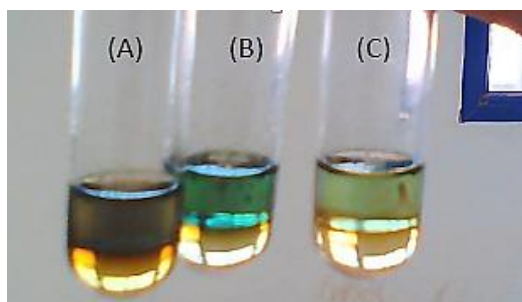


Figure 24 : les résultats de test de révélation des stérols

(A) extrait dichlorométhanique (B) extrait acétonique (C) extrait méthanolique.

II.3.6 Les saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml d'extrait diluée, puis la solution est fortement agitée. Ensuite le mélange est abandonné pendant 20 min.

La teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**).

II.3.7 Les alcaloïdes

Deux réactifs ont été préparés : 100µl de réactif de Mayer et 200µl de réactif de Wagner qui sont préparés : Réactif de Mayer : 0.5g de KI et 0.135 de HgCl_2 solubilisé dans 10 ml d'eau distillée. Réactif de Wagner : 0.28g de KI et 0.127g d' I_2 solubilisée dans 10 ml d'eau distillée. L'apparition d'un précipité confirme à la présence des alcaloïdes (**bruneton, 1999**).

II.4. Dosage des phénols totaux

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire. Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (Singleton et Rossi). Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines les plus diverses (**Biozot.N 2006**).

II.4.1 Principe de dosage

La teneur en polyphénols totaux des extraits des plantes qui font l'objet d'analyser a été déterminée par la méthode de Singleton et Rossi (1965). Son principe repose sur le fait que les ions phénolates formés par addition de carbonate de sodium à la solution d'extrait sont oxydés

par le réactif de Folin-Ciocalteu (Kuda et al, 2005). Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation par les groupements hydroxyles des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, et comme résultat l'apparition d'une couleur bleuâtre, dont l'intensité reflète la concentration en polyphénols totaux dans les extraits (Ribéreau-Gayon, 1972 ; Vermerris et Nicholson, 2006).

II.4.2 Protocole expérimentale

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par Waterhouse (2001). Un volume de 40 μl de l'échantillon convenablement dilué ou de solution de standard, est introduit dans un tube à essai contenant initialement 3.16 ml d'eau distillée et 40 μl de méthanol pur. On ajoute ensuite 200 μl du réactif de Folin-Ciocalteu et on l'agite. Après 3 minutes, une solution de Na_2CO_3 d'une concentration de 200g/l (600 μl) est ajoutée tout en agitant. Après une incubation de 30 min à 40° C, l'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, contre un blanc (le même mélange excepté l'échantillon qui est remplacé par le MeOH). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par g du poids du résidu sec de l'algue (mg EAG/g) (Figure 22). Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

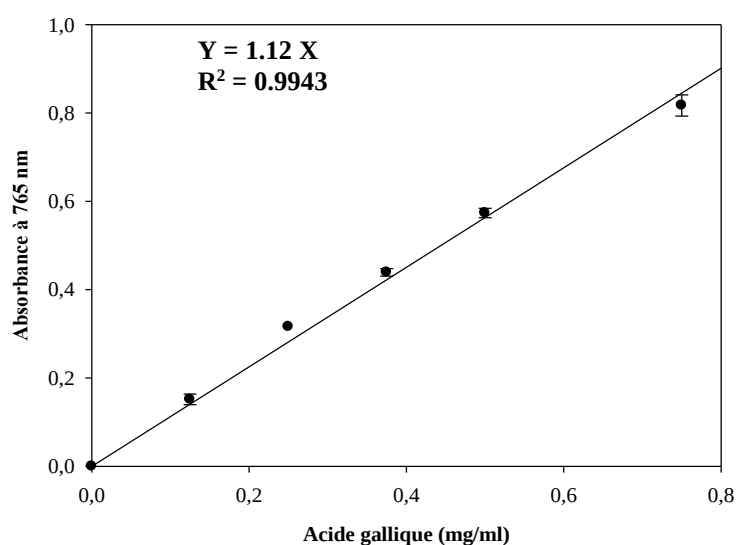


Figure 25. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

II.5. Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes a été déterminée selon la méthode de **(Lichtenthaler et al, 1985)**. L'absorbance des extraits convenablement dilués dans le méthanol est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à différentes longueurs d'ondes 470, à 653 et à 666 nm. Les concentrations des chlorophylles a et b étaient déterminées par les équations suivantes :

$$\text{Chlorophylle a (mg/ml)} = 15,65 A_{666} - 7,340 A_{653}.$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/ml)} = 27,05 A_{653} - 11,21 A_{666}.$$

$$\text{Caroténoïde totaux (mg/ml)} = 1000 A_{470} - 2,860 C_a - 129,2 C_b/245$$

II.6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), ABTS (2,2-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonate) et DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires **(Georgieva et al., 2010)**.

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques **(Blois, 1958; Brand-William et al., 1995)**. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Fig. 15) **(Popovici et al. 2009)**.

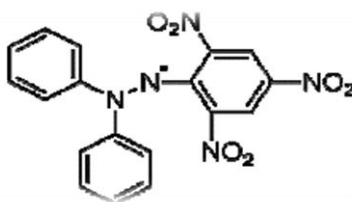


Figure 26 : Structure du radical DPPH[•] **(Popovici et al, 2009)**.

II.6.1 Principe : Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire (Fig), entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur

est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). La réaction primaire est :

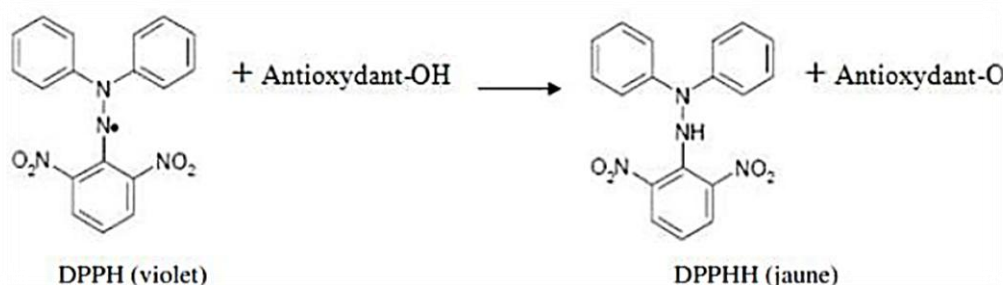


Figure27 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Congo, 2012).

II.6.2 Protocole expérimentale

L'activité de piégeage de DPPH d'extrait algal a été testée pour trois solvant extracteurs différent (extrait méthanolique, acétonique et dichlorométhanique) selon le protocole suivant :

Un volume de 100 μl d'extrait à différentes concentrations est ajouté à 2,9 ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée. Avec un contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 100 μl du méthanol avec 2,9 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Brand et al, 1995). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité antiradicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

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

I % : Pourcentage de l'activité antioxydant (AAO%)

AC : absorbance du contrôle négatif

AT : absorbance du test effectué

II.6.3 Détermination de la valeur IC₅₀

La valeur IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH•. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testée).

II.7 Analyses des données

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne $\pm$ écart type (n=2). Les courbes d'étalonnages et des activités antioxydante et antiradicalaire des différents extraits d'algue marine et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) sont effectuées à l'aide du logiciel SigmaPlot (SigmaPlot for Windows Version 11.0, Copyright 2008 Systat Software, Inc.).



Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur activités biologiques diverses en particulier leur propriétés antioxydants et antimicrobiennes. Beaucoup d'études ont montré l'influence des différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction des composés phénoliques d'origine végétale, tels que le temps et la température d'extraction, le pH, la composition chimique des échantillons et la polarité du solvant (**Lopez et al., 2011**) qui sont la plus souvent alcoolique (**Spigno et al., 2007**).

Nous avons préparée trois extraits algales de (*D. dichotoma*) extrait méthanolique, extrait dichlorométhanique et extrait acétonique afin de déterminer l'effet de ces solvants sur le rendement d'extraction et l'activité antioxydant. Les résultats de rendement d'extraction sont illustres dans le Tableau (04).

Tableau 04 : Résultats de l'effet du solvant sur le rendement d'extraction de l'algue marine brune *D. dichotoma*.

<i>Solvant</i>	<i>Rendement d'extraction (% MS)</i>
Méthanol	15,75 ± 1,20
Acétone	4,85 ± 0,92
Dichlorométhane	3,50 ± 0,42

D'après les résultats obtenus, les rendements d'extraction varie entre 3.5% et 15.75%. Le rendement le plus élevée a été obtenu par l'extrait de méthanol (15.75%). Le dichlorométhane donne le rendement d'extraction le plus faible.

Selon **Zeng et al. (2012)**, le méthanol est un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques et des polyphénols relativement polaires d'origine végétale qui permet d'extraire le maximum de familles de composés via ça polarité et puis l'acétone qui plus faible polarité par rapport le méthanol et l'extrait dichlorométhanique qui présent la plus faible polarité et le plus faible rendement.

II. Les tests phytochimiques

Dans le but de vérifier quelques composés chimiques dans les extraits préparés, une analyse phytochimiques a été réalisée en utilisant des réactifs spécifiques sur les différents extraits bruts algaux (extrait méthanolique, cétonique et dichlorométhanique). Les résultats dans le Tableau (05).

Tableau (05) : Résultats des tests phytochimiques sur les 3 différents extraits algaux (*dictyota dichotoma*)

Constituant phytochimique	méthanol	Acétone	dichlorométhane
Les composés réducteurs	++	+++	++++
Les acides aminés	-	-	-
Les phénols :			
- Tannin catechique	+++	+++	++
- Tannin gallique	-	-	-
Les flavonoïdes	+++	++	++
Les stérols et triterpènes	++	+++	++++
Les saponosides	-	-	-
Les alcaloïdes	-	-	-

- : Test négatif ; + : Test faiblement positif ; ++ : Test moyennement positif ; +++ : Test positif. ++++ Test très fortement positif.

Nous avons pu déceler différentes familles de composés chimiques par de simples réactions de coloration et de précipitation.

D'après le Tableau (05), nous avons observé l'absence totale des acides aminés, des saponosides et des alcaloïdes au niveau des trois extraits organique de l'algue brune. Par contre, on note la présence des composés réducteurs, des phénols (tannins et flavonoïdes), des stérols et et des triterpènes. Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés par **Melissa et al. (2013)**.

Les algues brunes en générale ont une faible teneur lipidique tandis que la teneur en polysaccharides est élevée avec composition en acide gras insaturé comme elles sont riches en composés bioactifs phénolique (**Zubia et al., 2009**).

D'après **Seif-Eldin et al. (2010)** les *dictyotacae* produisent de nombreux métabolites secondaires tels que les diterpène et les sesquiterpènes.

III. Teneurs en polyphénols et en caroténoïdes

Les valeurs de la teneur des trois extraits en composés phénoliques et en caroténoïdes sont indiquées dans le Tableau (6).

Tableau (06) : Résultats de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur de l'extrait d'algue *D. dichotoma* en phénols et en caroténoïdes.

<i>Solvant</i>	<i>Polyphénols totaux (mg EAG/g</i> <i>Résidu sec)</i>	<i>Caroténoïdes (mg/L)</i>
Méthanol	9,80 ± 1,61	2221,03
Acétone	37,26 ± 1,17	3867,87
Dichlorométhane	19,84 ± 2,22	3437,86

On constate que l'extrait cétonique est plus riche en composés phénoliques et en caroténoïdes par rapport aux autres extraits organiques. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Soo-Jin et al. (2005)**. Ces auteurs ont trouvé que la teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique de *D. dichotoma* est de 7.51±0.74 mg EAG/g RS. La teneur en phénols peut être influencée par plusieurs facteurs comme le procédé d'extraction et la période de la récolte (**Maria, 2009**).

Les algues brunes sont riches en acides ascorbique, tocophérol, et en caroténoïdes (**Zubia et al 2009**). De plus l'ordre Dictyotales c'est source riche en terpénoïdes (**William, 1981**).

Les caroténoïdes sont des composés phytochimiques naturels, liposolubles, trouvés dans les plantes, légumes, fruits de différentes couleurs (pigmentation) responsable à plusieurs activités biologique dans le corps humaine desquelles la prévention du stress oxydatif par la protection et la réparation des biomolécules (ADN, protéine, lipides) du ROS. Les algues brunes sont des phytoplanctons riches en caroténoïdes qui leur donne la pigmentation brune (fucoxanthine) et pour cela nous avons déterminé la teneur en caroténoïdes de l'espèce *D.dichotoma* dans différents solvants.

IV. Etude de l'activité antioxydante (piégeage de DPPH)

L'activité antiradicalaire de trois extraits de différents solvants d' *Dictyota dichotoma* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune

Le DPPH a été largement employé comme un radical libre pour évaluer la réduction des substances et il est un réactif utile pour étudier les activités antiradicalaires des composés (Sathya *et.al* 2013). Les résultats du pouvoir antiradicalaire, des différents extraits organique de l'algue brune étudiée, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la Figure (28).

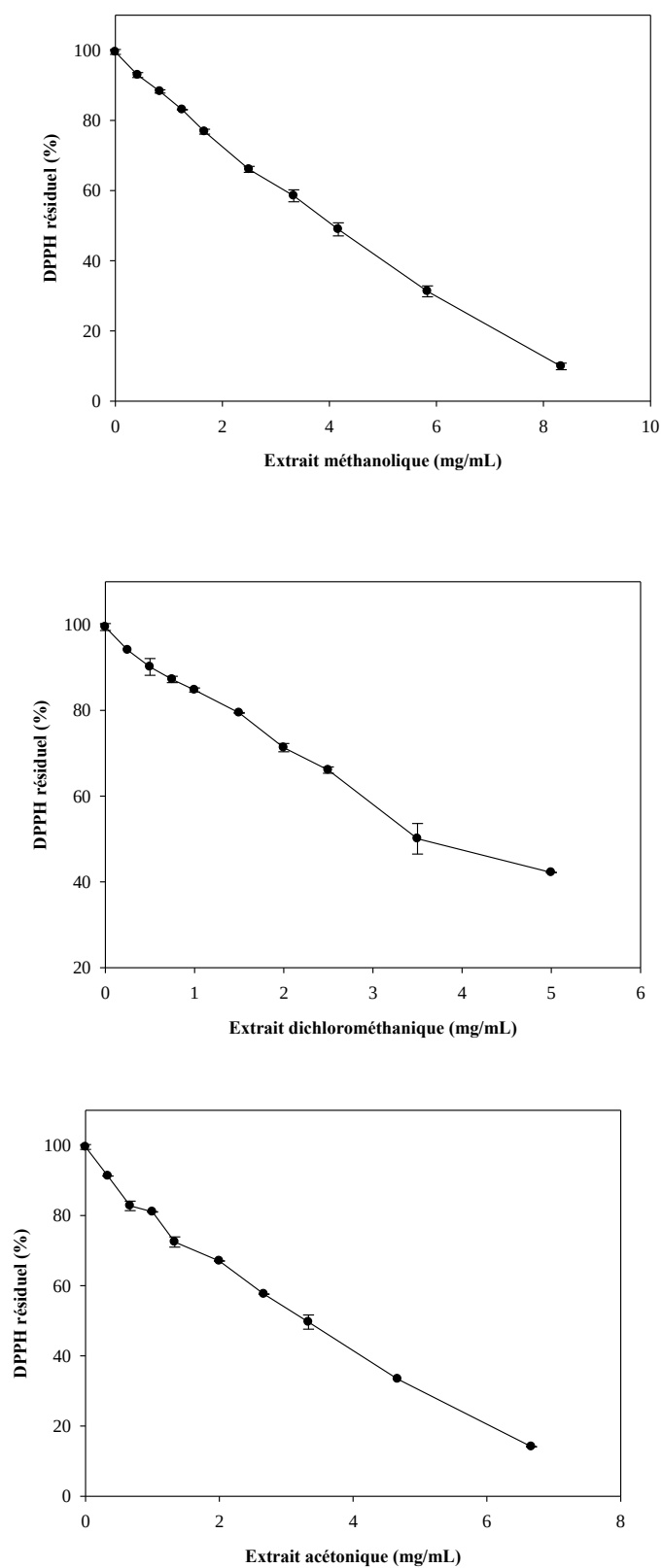


Figure 28: Résultats de l'activité antioxydant mesurée par le test DPPH des extraits méthanolique (A), dichlorométhanique (B) et acétonique (C) de l'algue marine brune.

Les différents extraits de l'espèce *Dictyota dichotoma* indique que cette espèce a un pouvoir important de piégeage de radical libre DPPH.

Ambreen et al. (2012) signalent que les algues brunes ont une activité antioxydant et l'espèce *D. dichotoma*. L'activité antioxydante de cette espèce est due à la présence du β carotène, de l'acide linoléique, des composés phénolique et des caroténoïdes (**Zubia .M, et al 2009**).

D'après la figure 28 on remarque que le pourcentage de réduction du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

D'après le tableau (07) on constate que l'EC₅₀ de cette algue est varié entre 3.30 et 4,01 mg/mL.

Tableau : 07 Les valeurs d'EC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits d'algue brune et de l'acide ascorbique déterminé par la méthode DPPH.

Solvant	EC ₅₀ (mg/mL)	1/EC ₅₀
Méthanol	4,01±0,09	0,249
Acétone	3.30±0.07	0,303
Dichlorométhane	3.69±0.11	0.271
AA	0.12±0.00	8.33

AA : Acide ascorbique

EC₅₀: la concentration effective pour laquelle l'activité antioxydant est 50%; l'absorbance est 0.5 pour le pouvoir réducteur; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). La valeur EC₅₀ est obtenue par extrapolation à partir de l'analyse de la régression linéaire.

Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ erreur standard (n = 2).

On constate que l'extrait acétonique de *Dictyota dichotoma* réduit plus fortement le radical libre DPPH par rapport autres solvants et ceci est confirmé par sa plus faible valeur EC₅₀.

Nos résultats sont relativement similaires avec ceux trouvés par **Zubia et al (2009)**. Ces derniers **ont observé que** l'extait méthanolique de l'algue brune *D. dichotoma* exerce une activité antioxydante sur le radical DPPH avec une EC₅₀ de 4.73 mg/m.

Cette activité antioxydante élevée est expliquée par sa teneur en phénols et en caroténoïdes les plus élevées pr rapport aux autres extraits.

Des autres espèces d'algues brunes comme *Cystoseira tamariscifolia* et *Halidrys siliquosa* donne une forte activité antioxydant avec une valeur d'EC50 (0.49 mg/ml) et (0.21 mg/ml) respectivement, tandis que l'espèce *Asperococcus bullosus* présent une faible activité antioxydant avec (EC50 20.23 mg/ml) (Zubia .M, et al 2009).

D'après les figures 29 et la figure 30 on remarque qu'il y a une bonne corrélation entre la capacité antioxydante de l'espèce *Dictyota dichotoma* et sa teneur en polyphénols et en caroténoïdes. Pa conséquent ces deux métabolites participent d'une façon synergique dans le piégeage du radical DPPH.

A partir des résultats précédents on peu dire que l'activité antioxydante de l'espèce *Dictyota dichotoma* testé par le piégeage de radical libre DPPH est référé à la teneur des polyphénols et des caroténoïdes, qui existent en quantité élevée au niveau de l'extrait acétonique.

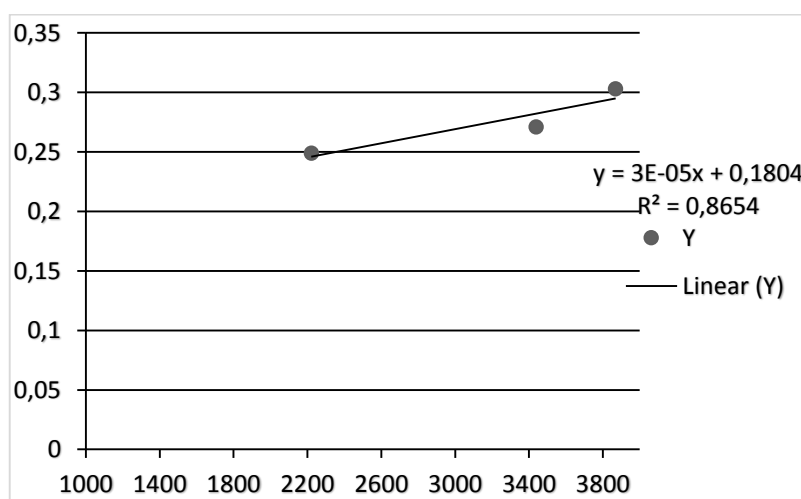


Figure 29 : la proportionnalité de 1/EC50 vis-à-vis le teneur en caroténoïdes.

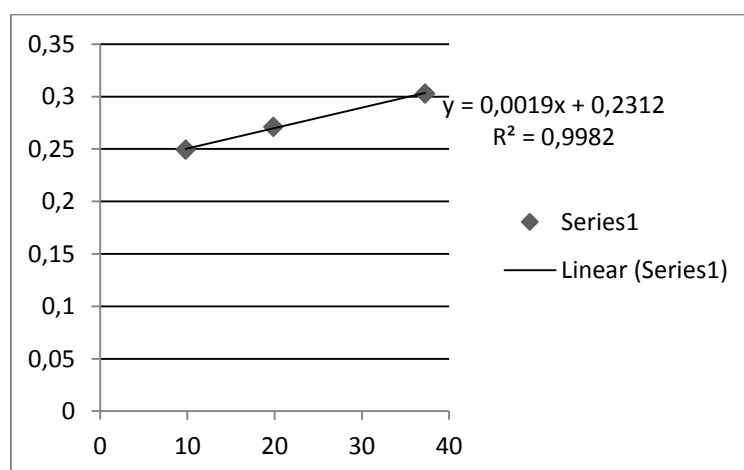


Figure 30 : la proportionnalité de 1/EC50 vis-à-vis le teneur en polyphénols.



conclusion

Les algues marines ont des propriétés antioxydantes et par conséquent jouent un rôle bénéfique pour la santé en protégeant l'organisme contre le vieillissement, les risques de cancers et les maladies cardio-vasculaires...etc.

Le but de notre travail c'est d'étudier l'effet de solvant d'extraction sur l'activité antioxydante d'une espèce d'algues marine brune *Dictyota dichotoma* récoltée de la cote marine de l'ouest Algérien. Nos résultats montrent que le rendement d'extraction est influencé par la nature du solvant d'extraction et que le méthanol donne un meilleur rendement.

Le criblage phytochimique qualitatif montre la présence de différentes familles de métabolites secondaires. L'extrait acétonique est plus riche en polyphénols et en caroténoïdes par rapport aux autres extraits.

Les résultats du test DPPH montre que les extraits sont capables de réduire ce radical et que leur pouvoir réducteur dépend de la nature du solvant d'extraction. L'extrait acétonique possède l'activité antioxydante et antiradicalaire la plus élevée qui est en corrélation avec sa richesse en polyphénol et en caroténoïdes.

Afin de compléter cette étude il serait envisageable tout d'abord de purifier et d'identifier les composés chimiques responsables de l'activité antioxydante d'algue marine étudiée *Dictyota dichotoma*. Il serait aussi plus intéressant d'étudier d'autres activités biologiques de cette algue, comme les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antiparasitaires.



Références bibliographiques

- Afonso. V., Champy., R. Mitrovic., D. Collin, P. Lomri., A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* 74. 636–643.
- Ainane. T. (2011).** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. *Thèse de Doctorat en chimie Analytique*, Université Hassan II- Casablanca, Maroc.
- Ali A. El Gamal. (2010),** Biological importance of marine algae; review,. Dept. of Pharmacognosy, College of Pharmacy, 11451.
- Arockiaraj, J., Easwaran, S., Vanaraja, P., Singh, A., Goudable, J., Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol.*; 115-20.
- Ambreen, hira., K. amna tariq., rusqia., viqar sultan. andjehan (2012)** evaluation of biochemical compounds and antimicrobial activity of some seaweeds occurring of Karachi coast Biotechnology and Drug Development Laboratory, Department of Biochemistry, University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan.
- Alaa Ahmed Fathy, (2008),** influence of drifting amino acid profiles, minerals, phenolic content and antioxidant activity of three marine brown algae, Department of Botany, Faculty of Science, Muharram Beck, Alexandria University, Vol. 9, 1110-8649.
- Barros, L; Venturini, BA; Baptista, P; Estevinho, LM; Ferreira, IC. F. R. (2008).** Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Food Chemistry*. 56:3856–3862.
- Benguedda-Rahal W., (2011),** Contribution à l'étude de la bioaccumulation métallique dans les sédiments et différents maillons de la chaîne trophique du littoral extrême ouest algérien, Thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen.
- Birben, E; Sahiner, UM; Sackesen, C ; Erzurum, S ; Kalayci, O. (2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*. 5: 9–19.
- Bossokpi I P L., (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.
- Bouabdallah., A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea sylvestris*). Mémoire de Master de l'université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.
- Bourgeois, C F. (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Lavoisier. 3^{ème} édition. p: 37-81-111.
- Brand W., Cuvelier W., et Berset C. (1995).** Use of the free radical method to Bruneton, J. 1993 pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales, (3eme ed). Paris: Edition
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et Phytochimie. Plantes médicinales, Tec et Doc. 278-279.
- Bruneton, J. (1999).** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. édition TEC et DOC, 3^{ème} Ed.
- Cadenas, E and Packer L. (1996)** Hand Book of Antioxidants. Plenum Publishers, New York.
- Cadoret J. (2009).** Energie renouvelable marines, Etude prospective à l'horizon 2030.
- Cavalla M., (2000),** LES MICROALGUES, http://mcavalla.free.fr/rsr/Algues_operon.pdf.
- Celep, E; Aydın, A; Yesilada, E. (2012).** A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*. 50: 3329–3335.
- Cheung, L.M; Cheung, Peter C.K; Vincent E.C. Ooi. (2003).** Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*. 81: 249–255.
- Chouikhi.** Les applications potentielles des macro-algues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites .2013.

- Chr. Katsaros, B. Galatis (2007);** Ultrastructural studies on thallus Development in *Dictyota dichotoma* (Phaeophyta, Dictyotales) Institute of General Botany, University of Athens, GR-157 01.
- Congo M., (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.
- Cristina Popovici , Ilonka Saykova , Bartek Tylkowski ., (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*.(4) :8p.
- D. Dreher and A.F. Junod. (1996).** Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development. Respiratory Division, Geneva University Hospital, Geneva, Switzerland.
- Diallo A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* WILLD(MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 13-14.
- Donadieu, Y; Basire, J. (1985).** Les algues : thérapeutiques naturelles. Edition Maloine. Pp. 36-40.
- Ducros V., Favier A. (2004).** Métabolisme du sélénium, EMC-Endocrinologie 1. ; 19–28. Ed Masson. Paris: 102-103-104-107
- Do clerck, O., Ieliaert, F., verbruggen, H., lane,C.E., de paula, J.C., payo, D.A., coppijans, E. (2006).** A revised classification of the dictyotale (dictyotales, pheophyceae) based on *rbc* and 26s Ribosomal DNA sequences analyses, *journal of phycology*, 42(6) : 1271-1288.
- Effendi L, Vajun Y. (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia cou*. *Metab. Eng* .vol. 8, p.172-181.
- Elmastas, M; Isildak, O; Turkecul, I; Temur, N. (2007).** Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis* 20 337–345.
- Fabienne goulard.** l'utilisation des algues 2005; université de lille 1 ;
- Falkowski P et Raven J.,(2007).** Aquatic photosynthesis 2nd ,p .484.
- Falshaw, R., Furneaux, R.H. (2005).** Structural analysis of carrageenans from the red alga, *Callophyllis hombroniana* Mont. Kütz (Kallymeniaceae, Rhodophyta), Carbohydrate Research, Ed. Stevenson,34:1149-1158.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. L'actualité chimique. p: 109-113.
- Garon-Lardiere, S., (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
- Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., (2010).** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*. (5):124-132.
- Géraldine ; Céline, L. (2009).** Les algues le trésor de la mer. Heds, Haute école de santé Genève, 1-6.
- Guillaume Pierre, (2011),** Caractérisation biochimique d'exo polymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion, Université de La Rochelle.
- Gulçin, I., Buyukokuroglu, M.E., Oktay, M., Kufrevioglu, O.I ., 2002a.** On the in vitro antioxidant properties of melatonin. *Journal of Pineal Research* 33, 167–171.
- Gulçin, I., Oktay, M., Kufrevioglu, O.I., Aslan, A., 2002b.** Determination of

- antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. Journal of Ethnopharmacology 79 (3), 325–329.
- Marfaing H., Lerat Y.. (2007)**, Les algues ont-elles une place en nutrition ?. Centre d'étude et de valorisation des algues (CEVA) . 22610.
- Haddad JJ. (2002)**. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors. Cell Signal 2002; 14:879–97.
- Hadi, M. (2004)**. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libres ; études et application thérapeutiques. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur. P 155.
- Halliwell B and Aruoma OI. (1996)**. DNA and Free Radicals, Boca Raton Press.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (2003)**. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Harbone, J. (1998)**. Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis. Ed Chapman et Hall, 3ème Edition.
- Hervé B., (2012)**. Ulves Valorisation Nutrition Santé, Gen2Bio LORIENT, p. 1-38.
- Hillier, K., Rakkar, M.(2008)**. Alginic Acid, xPharmacy:TheComprehensive Pharmacology Reference.p1-3.
- Hind Z.** Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien Chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires2015. Pages 13-14.
- Jean-Claude Roland.Hayat El Maarouf-Bouteau.François Bouteau.(2008)**. Atlas biologie végétale 7^e Edition. P. 11.
- Julie, P ; Danielle, L ; Daniel, M. (2010)**. Algues, filières du futur Livre Turquoise. adebioihec: 163 pages.
- Kasım Cemal Güven , Aline Percot and Ekrem Sezik .(2010)**, Alkaloids in Marine Algae, 1660-3397.
- KI HWANG., Hyung-Seop., Kim Wook., Jae Lee (2005)**, Polymorphism in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales,Phaeophyceae) from Korea 147: 999–1015
- Koen D., (2004)**. Nutri- et phytothérapie. Développements récents-4. Ed. Garant : 41-42.
- Kornprobst, J.M.(2005)**. Substances naturelles d'origine marine: chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie, Ed. Lavoisier Librairie, p1800.
- Kuda, T;Tsunekawa, M ;Goto, H ; Araki ,Y. (2005)**. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition and Analysis. 18: 625–633.
- Lampi, A-M. (2011)**. Analysis of tocopherols and tocotrienols and by HPLC. *Selected Topics in the Analysis of Lipids*.
- Le clerc, V. (2010)** .les secrets des algues. 1^{ère} Edition. Quae, p 13.
- Le coarer J (2003)**, chimie le minimum à savoir. Page 73.
- Leverve, X. (2009)**. Stress oxydant et antioxydants ? .Cahiers de nutrition et de diététique 44, 219—224
- Li,Y.X; Kim, S.K. (2011)**. Utilization of Seaweed Derived Ingredients as Potential Antioxidants and Functional Ingredients in the Food Industry: An Overview. Food Sci. Biotechnol. 20: 1461-1466.
- Lichtenthaler, H. (1985)**. Differences in morphology and chemical composition of leaves grown at different light intensities and quality. – In: Baker, N.C., Davice, W.J., Ong, C.K. (ed): Control of Leaf Growth. Pp. 201-221. Cambridge – London –New Rochelle– Melbourne- Sydney.
- Macheix, J-J ; Fleuriet, A ; Jay-allemmand,C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. p: 1-43.

- MarinLit, (2013).** MariLit database, version 17.3, department of chemistry, university of Canterbury, christchurch, NEWZEALND.
- Mau, J.L., Chao, G.R., Wu, K.T., (2001).** Antioxidant properties of methanolic extracts from several mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5461–5467.
- Mayalen Zubia, Marie Sophie Fabre, Véronique Kerjean, Klervi Le Lann, Valérie Stiger-Pouvreau, Marilyne Fauchon, Eric Deslandes(2009).** Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts.(Plateforme BIODIMAR, Université de Bretagne Occidentale, 305 rue Claude Shannon, 29280 Plouzané, France).
- Melissa Rabanal, Nora M.A. Ponce, Diego A. Navarro, Ricardo M. Gómez,Carlos A. Stortz(2013).** The system of fucoidans from thebrownseaweed *D.dichotoma*: Chemical analysis and antiviral activity
- Michel Lauret, Jocelyne Oheix , Valérie Derolez , Thierry Laugier** guide des macrophytes .des lagunes du Languedoc-Roussillon(2013). pages.18-19
- Nabors, M. (2009).**Biologie végétale structure, fonctionnement et biotechnologies .nouveaux nabors.614pages.
- Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. p, 79. INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, , BP 20619 Ardon .
- Niki, E., Shimaski, H., Mino, M., (1994).** Antioxidantism-Free Radical and Biological Defence. Gakkai Syuppan Center, Tokyo.
- Palacios, I ; Lozano, M ; Moro, C ; D'Arrigo, M ; Rostagno, M.A ; Martínez , J.A; García-Lafuente, A ; Guillamón, E ; Villares, A.(2011).**Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry*.128: 674–678.
- Palaniselvam, K ; Mashitah, M ; Yusoff, Narasimha R ; Natanamurugaraj, G. (2014).** Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Paris, M., Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome
- Pérez.R.(1997).**Ces algues qui nous entourent. Ed. Ifremer, France, Plouzané, p272.
- Rabia Alghazeer.,Fauzi Whida., Entesar Abduehrhman., Fatiem Gammoudi and Mahboba Naili(2013);** In vitro antibacterial activity of alkaloid extracts from green, red and brown macroalgae from western coast of Libya 12(51), pp. 7086-7091.
- Renato C. Pereira., Diana N. Cavalcanti., Valéria L. Teixeira (2000).** Effects of secondary metabolites from the tropical Brazilian brown alga *Dictyota menstrualis* on the amphipod *Parhyale hawaiensis*, Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense (UFF) CP 100.644.
- Riadi. Hassan (1998),** étude nationale sur la biodiversité des algues marines, observation national de l'environnement du Maroc. p.11.
- Ribéreau-Gayon, J ;Peynaud ., M ;Ribéreau-Gayon. P ;Sudraud, P. (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, pp 671.
- Rivard-Sirois C., (2005).** Les algues sont –elles des nuisances. 2005.
- RIZK A.M., (1982)-** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, Elsevier B.V. Amsterdam 52 (2) : 35-42.
- Rolland,Y.(2004).** Antioxydants naturels végétaux.*OCL*.11 :419-424.
- Sathya, R ; Kanaga, N ; Sankar, P ; Jeeva, S. (2013).** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsska° l) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry*.1-7.

- Seif-Eldin N. Ayyad , Mohamed S. Makki , Nazeeha S. Al-kayal , Salim A. Basaif Kalid El-Foty O., Abdullah M. Asiri , Walied M. Alarif , Farid A. Badria(2010)**
- Seyoum A, Asres K, El-Fiky F., (2006).** Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids, *Phytochemistry* .vol. 67, p. 2058-2070.
- Shalaby, Emad. A; Shanab, Sanaa M. M. (2013).**Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(10): 528-539.
- Sies, H. (1996)** Antioxidants in Disease, Mechanisms and Therapy, Academic Press, New York,
- Splingart D., (2013),** le règne végétal, [csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les algues Niveau1](http://csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les%20algues%20niveau1).
- Surh, Y-J; Packer, L. (2005).** Oxidative stress, inflammation, and health. Taylor & Francis Group. P: 2-3.
- Soo-Jin Heo, Sun-Heui Cha, Ki-Wan Lee, Somi K. Cho1, You-Jin Jeon(2005),** Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island Faculty of Biotechnology, Cheju National University, Jeju 690-756.
- TANGUY M., (2009).** Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation. Médecine. Vol 5 (6):256-260.
- TF. Valeriote, FA., Gerwick WH. (2006).** Lophocladines, bioactive alkaloids from The red alga *Lophocladia* sp. *Journal of Natural Products*, 69 (4): 640-644.
- Thiebault, C., Sprumont, P. (1997).** L 'Enfant et le sport : Introduction a un traité de médecine du sport chez l'enfant. Edition De Boeck supérieur. 1^{er} Ed. P 145
- Trease, E ; Evans, W. (1987).** Pharmacognosy Billiaire. Editions Tindall London 13, 61-62.
- Taviano M.F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Guvenc A., De-Pasquale R., Miceli N., (2013),** *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. "berries" from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities, *Food and Chemical Toxicology*, 58: 22-29.
- Valerie J. Paull and William Fenical.** Natural Products Chemistry and Chemical Defense in Tropical Marine Algae of the Phylum Chlorophyta. *Bioorganic Marine Chemistry*, Volume I. 1987.
- Valko, M., Rhodes, C.J.; Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1–40.
- Vélez-Alavez, M; Méndez-Rodríguez, LC; De Anda Montañez, JA; Mejía, C.H; Galván-Magaña, F; Zenteno-Savín, T. (2014).** Vitamins C and E concentrations in muscle of elasmobranch and teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A. 170: 26–30.
- Vermerris, W ; Nicholson, R. (2006).** Phenolic compounds biochemistry. Springer Science. Netherlands. pp276.
- Vijay, P., Vimukta, S. (2014).** The Role of Natural Antioxidants in Oxidative Stress Induced Diabetes Mellitus. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences*. 3(4):1-6.
- Visioli, F., Borsani, L., Galli, C., (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardovascular Research* 47, 419–425.
- William gerwick , wiliam finical (1981)** phenolic lipids from related marine algae of the order Dictyotales (Institute of Marine Resources, Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, CA 92093, U.S.A.
- Yan, X ; Chuda, Y ; Suzuki, M. (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biolechnol Biochem*, 63: 605-7.

- Zeng, X; Suwandi, J; Fuller, J; Doronila, A; Ng, K. (2012).** Antioxidant capacity and mineral contents of edible wild Australian mushrooms. *Food Science and Technology International*. 18: 367–379.
- Zhang, W-W ; Duan, X-J ; Huang, H-L ; Zhang, Y ; Wang, B-G. (2007).** Evaluation of 28 marine algae.