

## Fatty acid profile of *Cystoseira* C. Agardh (Phaeophyceae, Fucales) species from the Tunisian coast: Taxonomic and nutritional assessments

### Perfil de ácidos grasos de especies de *Cystoseira* C. Agardh (Phaeophyceae, Fucales) de la costa tunecina: Evaluaciones taxonómicas y nutricionales

Cyrine Bouafif<sup>1\*</sup>, Chokri Messaoud<sup>2</sup>, Mohamed Boussaid<sup>2</sup>, Habib Langar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Tunis El Manar, Faculté des Sciences de Tunis, Département de Biologie, 2092, Tunis, Tunisia.

<sup>2</sup> University of Carthage, National Institute of Applied Science and Technology, Department of Biology, Centre Urbain Nord, BP 676, 1080, Tunis, Tunisia.

\* Corresponding author. E-mail: bouafif.cyrine@gmail.com

**ABSTRACT.** A screening of the total lipids and fatty acids (FAs) of 11 brown algae species of the genus *Cystoseira* (Phaeophyceae, Fucales) from the Tunisian coast is presented and discussed. *Cystoseira* species showed low total lipid content, ranging from 19.8 to 68.2 mg·g<sup>-1</sup> dry weight. Fourteen major FAs were detected in the lipid extract of *Cystoseira*. The FA profile of lipid extracts was characterized by high amounts of saturated FAs (SFAs) ranging from 40.51% to 57.91% of total FAs, with predominance of the lipid fraction of palmitic acid (>30% of total FAs). The arachidonic acid (C20:4n-6) levels were found to be significantly high, ranging from 8% to 16% of total FAs. Multivariate analyses of FA composition showed low geographic differentiation, providing further evidence of intraspecific diversity. *Cystoseira crinita*, *Cystoseira schiffneri*, *Cystoseira amentacea* var. *stricta*, and *Cystoseira sedoides* stood out for their low polyunsaturated fatty acid (PUFA)/SFA ratios, low n-6/n-3 PUFA ratios, high unsaturation, and low atherogenicity and thrombogenicity indices, suggesting high nutritional value.

**Key words:** marine algae, *Cystoseira*, fatty acids, polyunsaturated fatty acids, Tunisia.

**RESUMEN.** Aquí se presenta y discute un análisis de los lípidos totales y ácidos grasos (AG) de 11 especies de algas pardas del género *Cystoseira* (Phaeophyceae, Fucales) de la costa de Túnez. Las especies de *Cystoseira* mostraron un contenido lipídico total bajo que osciló entre 19.8 y 68.2 mg·g<sup>-1</sup> de peso seco. Se detectaron 14 AG mayoritarios en el extracto lipídico de *Cystoseira*. El perfil de AG de los extractos de lípidos estuvo caracterizado por altas cantidades de AG saturados (AGS) que variaron de 40.51% a 57.91% del total de AG, con predominio de la fracción lipídica del ácido palmítico (>30% del total de AG). Los niveles de ácido araquidónico (20:4n-6) fueron significativamente altos, y variaron entre el 8% y el 16% del total de los AG. Los análisis multivariados de la composición de AG mostraron baja diferenciación geográfica, lo que aporta más evidencia de diversidad intraespecífica. *Cystoseira crinita*, *Cystoseira schiffneri*, *Cystoseira amentacea* var. *stricta* y *Cystoseira sedoides* destacaron por presentar bajas relaciones de ácidos grasos polinsaturados (PUFA)/AGS y PUFA n-6/n-3, alta insaturación y bajos índices de aterogenicidad y trombogenicidad, lo que sugiere un alto valor nutricional.

**Palabras clave:** algas marinas, *Cystoseira*, ácidos grasos, ácidos grasos polinsaturados, Túnez.

## INTRODUCTION

In brown algae, fatty acids (FA) are known to have important properties. They constitute a source for pheromone biosynthesis and have antimicrobial (Rosell and Srivastava 1987), anti-inflammatory (Calder 2006, Kumari et al. 2010), and antioxidant (Kumar et al. 2011) properties. These metabolites are also known for their ability to prevent heart disease and inhibit tumor progression (Pereira et al. 2012). *In situ*, brown algae use FA-derived compounds as a chemical defense (Pohnert and Boland 2002, Barre et al. 2004), i.e., to deter herbivores (Schnitzler et al. 2001). Fatty acids (FAs) and lipid components have scarcely been studied for their chemotaxonomic implications in macroalgae (Khotimchenko et al. 2002, Galloway et al. 2012, Kumari et al. 2013).

Among brown algae, *Cystoseira* (Ochrophyta, Phaeophyceae) is one of the most widely distributed genera of the

## INTRODUCCIÓN

Se sabe que los ácidos grasos (AG) de las algas pardas tienen propiedades importantes. Son una fuente para la biosíntesis de feromonas y tienen propiedades antimicrobianas (Rosell y Srivastava 1987), antiinflamatorias (Calder 2006, Kumari et al. 2010) y antioxidantes (Kumar et al. 2011). También se reconoce la capacidad de estos metabolitos para prevenir cardiopatías e inhibir la progresión de tumores (Pereira et al. 2012). *In situ*, las algas pardas usan compuestos derivados de los AG como defensa química (Pohnert y Boland 2002, Barre et al. 2004), i.e., para desalentar a los herbívoros (Schnitzler et al. 2001). Existen escasos estudios sobre las implicaciones quimotaxonómicas de los componentes lipídicos y los AG en las macroalgas (Khotimchenko et al. 2002, Galloway et al. 2012, Kumari et al. 2013).

De las algas pardas, *Cystoseira* (Ochrophyta, Phaeophyceae) es uno de los géneros del orden Fucales con mayor

Fucales order in the Mediterranean (Amico 1995, Pellegrini et al. 1997). In the Mediterranean Sea, the *Cystoseira* are canopy-forming algae that dominate the rocky infralittoral zone. This genus comprises 42 species distributed mainly in the Mediterranean Sea and the adjacent Atlantic Ocean (Guiry and Guiry 2016).

A great diversity of *Cystoseira* is present along the Tunisian coast. According to Bouafif et al. (2014, 2016), 31 species are present on the Tunisian littoral, but little information about the chemical composition of the algae from this region has been published (Frikha et al. 2011). Moreover, it is hard to distinguish species and varieties of the genus *Cystoseira* due mainly to the high morphological plasticity of the taxa and to the active process of speciation of the genus (Ercegović 1952, Amico 1995). Classification of this genus based on chemical compounds, such as sterols and terpenes, started in the 1990s (Piattelli 1990, Amico 1995). Metabolites isolated from the *Cystoseira* species have been used as chemotaxonomic markers (Amico 1995, Pellegrini et al. 1997). Total lipid and FA profiles vary significantly among *Cystoseira* species (Vizetto-Duarte et al. 2015) and might be useful for taxonomic purposes (Galloway et al. 2012). Moreover, the nutritional value of *Cystoseira* FAs has never been studied in Tunisia. However, some works have been done on the nutritional quality of FAs of some *Cystoseira* species in the Mediterranean (Ragonese et al. 2014), the Atlantic (Vizetto-Duarte et al. 2015), and the Indian Ocean (Kumari et al. 2010, Kumari et al. 2013).

The aim of this paper is to assess the composition of FAs extracted from 11 *Cystoseira* species (Fig. 1) growing along the Tunisian coast (i) to evaluate the efficiency of *Cystoseira* FAs as chemotaxonomic markers associated with criteria performed on the morphological diversity of Tunisian *Cystoseira* taxa (Bouafif et al. 2014, 2016) and (ii) to estimate the nutritional characteristics of one of the most abundantly available brown macroalgae in the Mediterranean. To the best of our knowledge, this is the first report on the FA profile of some endemic Mediterranean species of *Cystoseira*.

## MATERIALS AND METHODS

### Fieldwork and algal samples

Eleven species and infraspecific taxa of the genus *Cystoseira* were collected in the upper intertidal zone between 0.5 and 2.0 m depth in October 2014: *Cystoseira amentacea* var. *stricta*, *Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Cystoseira crinita*, *Cystoseira elegans*, *Cystoseira foeniculacea*, *Cystoseira foeniculacea* f. *latiramosa*, *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* (from 2 localities), *Cystoseira schiffneri*, *Cystoseira sauvageauana*, and *Cystoseira sedoides* (Figs. 1, 2). Specimens were transported to the laboratory

distribución en el Mediterráneo (Amico 1995, Pellegrini et al. 1997). En el mar Mediterráneo, las algas del género *Cystoseira* son formadoras de dosel que dominan la zona infralitoral rocosa. Este género está constituido por 42 especies que se distribuyen principalmente en el mar Mediterráneo y en el océano Atlántico adyacente (Guiry y Guiry 2016).

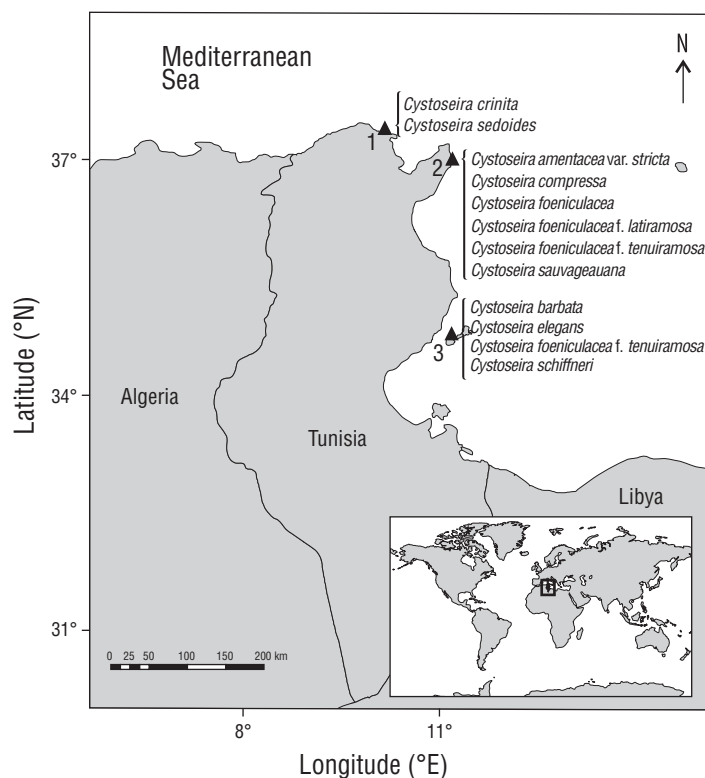
Una gran diversidad de *Cystoseira* está presente en la costa de Túnez. De acuerdo con Bouafif et al. (2014, 2016), hay 31 especies sobre el litoral de Túnez, pero existe poca información publicada sobre la composición química de las algas de esta región (Frikha et al. 2011). Además, es difícil distinguir entre las especies y variedades de *Cystoseira* debido, principalmente, a la alta plasticidad morfológica de los taxones y al proceso activo de especiación del género (Ercegović 1952, Amico 1995). La clasificación de este género basada en componentes químicos, como los esteroides y los terpenos, inició en la década de los noventa (Piattelli 1990, Amico 1995). Los metabolitos aislados de las especies de *Cystoseira* han sido utilizados como marcadores quimiotaxonómicos (Amico 1995, Pellegrini et al. 1997). Los perfiles de lípidos totales y AG varían significativamente entre las especies de *Cystoseira* (Vizetto-Duarte et al. 2015) y podrían ser útiles para propósitos taxonómicos (Galloway et al. 2012). Por otra parte, el valor nutricional de los AG del género *Cystoseira* no se ha estudiado en Túnez. No obstante, existen algunas investigaciones de los AG de algunas especies de *Cystoseira* en el mar Mediterráneo (Ragonese et al. 2014), el océano Atlántico (Vizetto-Duarte et al. 2015) y el océano Índico (Kumari et al. 2010, Kumari et al. 2013).

El propósito de este trabajo es determinar la composición de los AG extraídos de 11 especies del género *Cystoseira* (Fig. 1) que crecen a lo largo de la costa de Túnez para (i) evaluar la eficacia de los AG de *Cystoseira* como marcadores quimiotaxonómicos asociados a criterios aplicados a la diversidad morfológica de los taxones de *Cystoseira* de Túnez (Bouafif et al. 2014, 2016) y (ii) estimar las características nutricionales de una de las algas pardas que más abunda en el mar Mediterráneo. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio del perfil de los AG de algunas especies de *Cystoseira* endémicas del mar Mediterráneo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Trabajo de campo y muestras de algas

Se recolectaron 11 especies taxones infraespecíficos del género *Cystoseira* en la parte superior de la zona intermareal, entre 0.5 y 2.0 m de profundidad, en octubre de 2014: *Cystoseira amentacea* var. *stricta*, *Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Cystoseira crinita*, *Cystoseira elegans*, *Cystoseira foeniculacea*, *Cystoseira foeniculacea* f. *latiramosa*, *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* (de 2 sitios), *Cystoseira schiffneri*, *Cystoseira sauvageauana* y *Cystoseira sedoides* (Figs. 1, 2). Los especímenes se transportaron al laboratorio en una nevera portátil. Después de limpiar los especímenes cuidadosamente



**Figure 1.** Location of sampling sites and list of species collected at each site: 1, Cap Zebib (37°16'9.15"N, 10°3'59.18"E); 2, Kelibia (36°50'26.66"N; 11°7'18.31"E); and 3, Kerkennah Archipelago (34°39'25.94"N, 10°58'20.87"E).

**Figura 1.** Localización de los sitios de muestreo y lista de las especies recolectadas en cada sitio: 1, Cap Zebib (37°16'9.15"N, 10°3'59.18"E); 2, Kélibia (36°50'26.66"N, 11°7'18.31"E); y 3, archipiélago de Kerkennah (34°39'25.94"N, 10°58'20.87"E).

in an icebox. Species were identified by morphological examination according to specialized literature on the genus *Cystoseira* (Hamel 1931–1939, Ercegovič 1952, Gómez-Garreta et al. 2001) after careful cleaning that removed epiphytes and sand. A representative specimen of each species was deposited in the Herbarium of the Faculty of Sciences of Tunis (Tunisia) in the Department of Biology. Samples of each freshly collected and identified species were rinsed with distilled water, dried in an oven at 30 °C for 72 h, then stored in darkness and kept in the dry at room temperature until further use. Each sample consisted of a mixture of 2 to 4 infertile adult thalli. The same stage of development of thalli was considered to pass up unpredictability linked to the physiological state of individuals, and entire algal thalli were considered when determining total lipids and FAs to avoid any intrathallus variation among the species (Connan et al. 2007, Abdala-Díaz et al. 2014).

#### Extraction and estimation of total lipids

Five grams of each sample were pulverized in liquid nitrogen with a mortar and pestle. Extraction was done by the chloroform–methanol method according to Nomura et al. (2013). The obtained organic phase was

para remover las epifitas y la arena, las especies fueron identificadas mediante la examinación morfológica de acuerdo con la literatura especializada sobre el género *Cystoseira* (Hamel 1931–1939, Ercegovič 1952, Gómez-Garreta et al. 2001). Un espécimen representativo de cada especie fue depositado en el Herbario de la Facultad de Ciencias de Túnez (Túnez) en el Departamento de Biología. Las muestras de cada especie recién recolectadas e identificadas fueron enjuagadas con agua destilada, secadas en un horno a 30 °C por 72 h y conservadas en la oscuridad, en seco y a temperatura ambiente hasta su uso. Cada muestra consistió en una mezcla de 2–4 talos adultos infértiles. Se consideró la misma etapa de desarrollo en los talos para eliminar la incertidumbre relacionada con el estado fisiológico de los individuos, y los talos algales enteros se consideraron en la determinación de los lípidos totales y los AG para evitar variaciones intratalo entre las especies (Connan et al. 2007, Abdala-Díaz et al. 2014).

#### Extracción y estimación de los lípidos totales

Se pulverizaron 5 g de cada muestra en un mortero con nitrógeno líquido. Para la extracción, se usó el método con cloroformo y metanol de acuerdo con Nomura et al. (2013). La fase orgánica obtenida fue sometida a un análisis de lípidos totales y ésteres metílicos de AG (EMAG). El contenido de

subjected to total lipid and FA methyl esters (FAME) analysis. Total lipid content was determined gravimetrically and expressed as milligrams per gram of dry weight (DW) after evaporation of the solvent on a rotary vacuum evaporator at 30°C. All analyses were performed in triplicate.

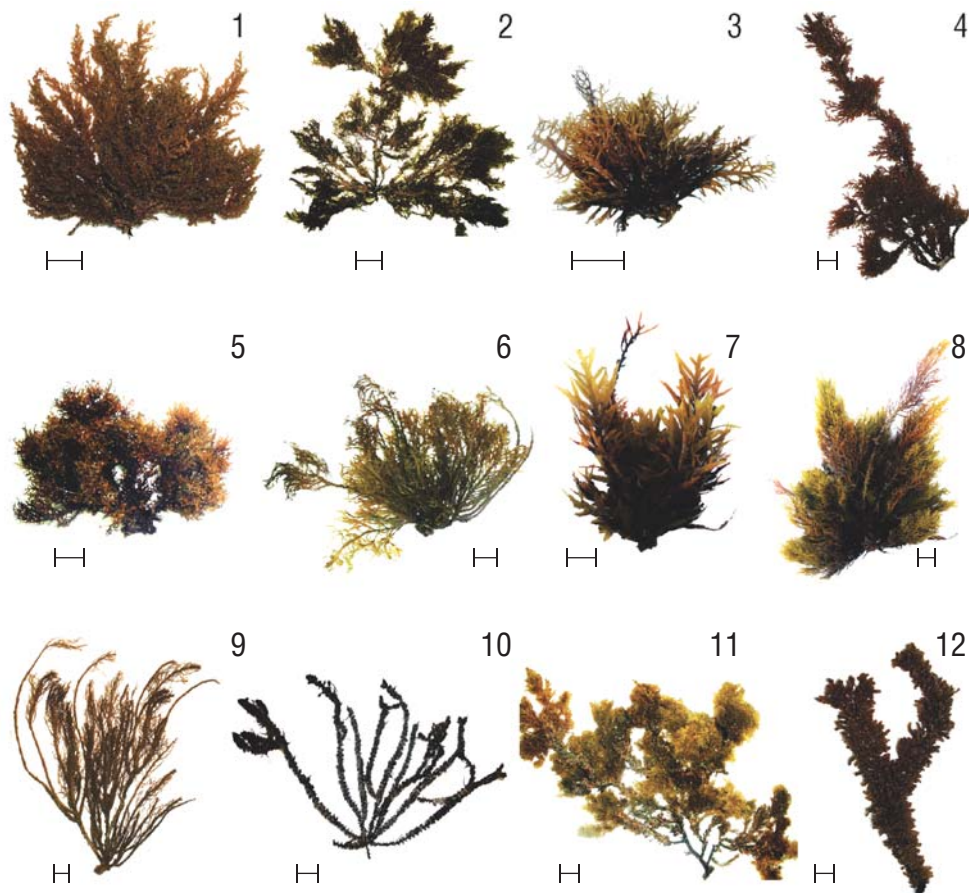
### Preparation of fatty acid methyl esters

FAs were transformed to their FAME by transmethylation in accordance with Prevot and Mordret (1976), with slight modifications. Briefly, 1.0 mL of hexane was added to  $10 \pm 1$  mg of total lipid aliquot and 0.2 mL 2 N NaOH in MeOH, vortexed for 10 s, then heated at 55°C for 30 s. Then 0.2 mL 2 N HCl in MeOH was added and vortexed for 60 s. The mixture was centrifuged (Sorvall RC5C instruments, Fiberlite F21-8x50y rotor, Thermofisher, USA) at  $1,000 \times g$  for 5 min. The upper hexane layer containing FAME was subjected to

lípidos totales se determinó gravimétricamente y se expresó en miligramos por gramo de peso seco (PS) después de evaporar el solvente sobre un evaporador rotatorio al vacío a 30°C. Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

### Preparación de los ésteres metílicos de ácidos grasos

Los AG fueron transformados en sus EMAG por medio de transmetilación siguiendo el método de Prevot y Mordret (1976), con algunas modificaciones. Brevemente, se agregó 1.0 mL de hexano a  $10 \pm 1$  mg de la alícuota de los lípidos totales y 0.2 mL de 2 N NaOH en MeOH, se colocó en un agitador vórtice por 10 s y después se calentó a 55°C por 30 s. A continuación, se agregaron 0.2 mL de 2 N HCl en MeOH y se colocaron en un agitador vórtice por 60 s. Se centrifugó la mezcla (Sorvall RC5C instruments, rotor Fiberlite F21-8x50y, Thermofisher, EUA) a  $1,000 \times g$  por 5 min. La capa superficial del hexano que contenía los EMAG fue sometida a un estudio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.



**Figure 2.** *Cystoseira* species collected along the Tunisian coast (scale bar = 1 cm).

**Figura 2.** Especies de *Cystoseira* recolectadas a lo largo de la costa tunecina (barra de escala = 1 cm).

1, *Cystoseira amentacea* var. *stricta*; 2, *Cystoseira barbata*; 3, *Cystoseira compressa*; 4, *Cystoseira crinita*; 5, *Cystoseira elegans*; 6, *Cystoseira foeniculacea*; 7, *Cystoseira foeniculacea* f. *latiramosa*; 8, *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* (North); 9, *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* (South); 10, *Cystoseira schiffneri*; 11, *Cystoseira sauvageauana*; 12, *Cystoseira sedoides*.



gas chromatography coupled with mass spectrometry analysis.

### Gas chromatography coupled with mass spectrometry analysis

Gas-chromatography coupled with mass spectrometry (GC–MS) was used to establish the FA profile of the lipid fraction. GC–MS analysis was done on an Agilent 7890A chromatograph equipped with an Agilent 5975C inert Mass Selective Detector and a HP-5 MS fused-silica capillary column (30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm film thickness). The column temperature regime was 150°C for 2 min, followed by 230°C at 4°C·min<sup>-1</sup> and 230°C for 5 min. Helium was used as a carrier gas at a rate flow of 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. Mass scan range was 50–550 amu at 70 eV and scan velocity was 2.86 scans per second. One microliter of each sample was injected. Identification of FAME was carried out by comparing their retention times with those of FAME standards and by comparing their mass spectra with those recorded in the NIST08 and W8N08 mass spectral libraries.

### Determining lipid quality indices

For the unsaturation index (UI), the molar proportion (percentage) of each FA was multiplied by the number of double bonds after addition:

$$UI = \text{Sum \% unsaturated acids} \times \text{number of double bonds} \quad (1)$$

To assess the nutritional and lipid quality of *Cystoseira* species, health lipid indices (indices of atherogenicity [IA] and thrombogenicity [IT]) were estimated in accordance with the Ulbricht and Southgate (1991) method based on FA composition:

$$IA = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\Sigma MUFA + \Sigma(n-6 \text{ PUFA}) + \Sigma(n-3 \text{ PUFA})} \quad (2)$$

$$IT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times \Sigma MUFA + 0.5 \times \Sigma(n-6 \text{ PUFA}) + 3 \times \Sigma(n-3 \text{ PUFA}) + \frac{\Sigma(n-3 \text{ PUFA})}{\Sigma(n-6 \text{ PUFA})}} \quad (3)$$

where MUFA indicates monounsaturated FA and PUFA indicates polyunsaturated FA.

### Statistical analysis

The results were expressed as mean values ± standard deviation of the 3 replicates. Mean total lipid and FA values were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA) at  $P < 0.05$ , using the Statgraphics Centurion 16.1.11 software for Windows. Multivariate analyses (Sokal and Michener

### Análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

La cromatografía de gases junto con la espectrometría de masas (CG-EM) fue utilizada para establecer el perfil de los AG de la fracción lipídica. El análisis CG-EM se realizó con un cromatógrafo Agilent 7890A equipado con un detector selectivo de masas Agilent 5975C inert-MSD y una columna capilar de sílice fundida HP-5 MS (30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm de grosor de película). El régimen térmico de la columna fue el siguiente: 150 °C por 2 min, seguido por 230 °C a 4 °C·min<sup>-1</sup> y finalmente 230 °C por 5 min. Se usó helio como el gas portador a un flujo de 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; el rango del detector de masas fue de 50–550 uma a 70 eV y la velocidad de detección fue de 2.86 detecciones por segundo. Se inyectó 1 μL de cada muestra. Los EMAG fueron identificados por medio de la comparación de sus tiempos de retención contra los tiempos estándares de EMAG y la comparación de sus espectros de masas con aquellos registrados en las bibliotecas de espectros de masas NIST08 y W8N08.

### Determinación de los índices de calidad de los lípidos

Para el índice de instauración (UI), se sumaron las proporciones molares (porcentajes) de cada AG y se multiplicaron por el número de enlaces dobles:

$$UI = \text{Suma del \% de ácidos insaturados} \times \text{número de enlaces dobles} \quad (1)$$

Para evaluar la calidad nutricional y lipídica de las especies de *Cystoseira*, se estimaron índices lipídicos (índices de atherogenicidad [IA] y de trombogenicidad [IT]) de acuerdo con el método de Ulbricht y Southgate (1991), que se basa en la composición de los AG:

$$IA = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\Sigma MUFA + \Sigma(n-6 \text{ PUFA}) + \Sigma(n-3 \text{ PUFA})} \quad (2)$$

$$IT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times \Sigma MUFA + 0.5 \times \Sigma(n-6 \text{ PUFA}) + 3 \times \Sigma(n-3 \text{ PUFA}) + \frac{\Sigma(n-3 \text{ PUFA})}{\Sigma(n-6 \text{ PUFA})}} \quad (3)$$

donde MUFA, por sus siglas en inglés, indica ácidos grasos monoinsaturados y PUFA indica ácidos grasos poliinsaturados.

### Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como los valores promedio ± la desviación estándar de las 3 réplicas. Los valores de lípidos totales y AG fueron evaluados con un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía a  $P < 0.05$ , con el *software* Statgraphics centurion para Windows. Se llevaron a cabo

1958) were carried out to evaluate the grouping of the studied species according to their total lipid and FA composition: (i) the cluster analysis was performed using the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) and the Euclidean distance ( $D_E$ ), the UPGMA being authentic for ecological classification tools especially in species composition (Legendre and Legendre 1998); (ii) the principal component analysis (PCA) was carried out to differentiate between species and forms. Multivariate analyses were done using the MultiVariate Statistical Package (MVSP) software for Windows v3.1, following Kovach (2007).

## RESULTS

### Total lipid content

The total lipid content of the 11 *Cystoseira* species showed wide fluctuations (Table 1). The yield for the total lipid fraction extracted varied in the range between 1.98% (*C. schiffneri*) and 6.82% DW (*C. sauvageauana*) (Table 1).

### Fatty acid profile of lipid extract

Fourteen major FAs were identified in the lipid fraction of the 11 *Cystoseira* species (Table 2). The FA content of *Cystoseira* lipids varied widely between species. The FA profile of lipid extracts was characterized by high amounts of saturated FAs (SFAs) ranging from 40.51% (*C. amentacea* var. *stricta*) to 57.91% (*C. compressa*) of total FAs. Palmitic acid (C16:0) was the predominant lipid fraction, with the highest rate being found in *C. foeniculacea* f. *tenuiramosa* (44.70%). *Cystoseira barbata* was found to be rich in myristic acid (C14:0, 7.45%), while stearic acid (C18:0) characterized *C. compressa* (15.27%) (Table 2).

MUFAs ranged from 25.30% of total FAs in *C. compressa* to 37.1% in *C. schiffneri*. The major MUFA (>20% of total FAs) for most of the studied *Cystoseira* species was oleic acid (C18:1).

Total PUFAs varied between 15.05% (*C. compressa*) and 30.35% (*C. crinita*). Among the PUFAs, arachidonic acid (C20:4n-6) was the most abundant in the analyzed species, with a particular high level of 15.98% in *C. crinita*. The highest percentage of linoleic acid (C18:2n-6) was observed in *C. elegans* (7.59%), while the highest percentages of the eicosapentaenoic acid (C20:5n-3) and stearidonic acid (C18:4n-3) were observed in *C. crinita* (3.31%) and *C. amentacea* var. *stricta* (3.10%), respectively. Omega 3 PUFAs were detected in all studied species. Total omega 3 ( $\sum n-3$ ) ranged between 1.48% (*C. elegans*) and 5.69% (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*). *Cystoseira foeniculacea* f. *latiramosa* and *C. crinita* were the richest species in n-3 PUFA (5.69% and 5.67% of total FAs, respectively). This richness is associated with the high rates of n-3 marine triglyceride (C20:5n-3), an important n-3 PUFA, that they contain. Stearidonic acid (C18:4n-3) was also detected in all

análisis multivariados (Sokal y Michener 1958) para evaluar el agrupamiento de las especies estudiadas de acuerdo con sus lípidos totales y composición de AG: (i) el análisis de conglomerados se realizó utilizando el método de agrupación de pares no ponderados con la media aritmética (UPGMA, por sus siglas en inglés) y la distancia euclidiana ( $D_E$ ), de los cuales el UPGMA es aceptado como una herramienta útil para la clasificación ecológica, especialmente en la composición de especies (Legendre y Legendre 1998); (ii) el análisis de componentes principales (ACP) fue realizado para diferenciar entre especies y formas. Se usó el *software* Multi-Variate Statistical Package (MVSP) para Windows v3.1 de acuerdo con Kovach (2007).

## RESULTADOS

### Contenido de lípidos totales

El contenido de lípidos totales de las 11 especies de *Cystoseira* mostró fluctuaciones amplias (Tabla 1). El contenido de la fracción lipídica total extraída varió en un rango de 1.98% (*C. schiffneri*) a 6.82% del PS (*C. sauvageauana*) (Tabla 1).

### Perfil de ácidos grasos de los extractos de lípidos

Se identificaron 14 AG mayoritarios en la fracción lipídica de las 11 especies de *Cystoseira* (Tabla 2). El contenido de AG de los lípidos de *Cystoseira* varió mucho entre las especies. El perfil de los AG de los lípidos extraídos se caracterizó por altas cantidades de ácidos grasos saturados (AGS) que variaron entre 40.51% (*C. amentacea* var. *stricta*) y 57.91% (*C. compressa*) de los AG totales. El ácido palmítico (C16:0) fue la fracción lipídica predominante, con la tasa más alta encontrada en *C. foeniculacea* f. *tenuiramosa* (44.70%). Se encontró que el ácido mirístico (C14:0) abundó en *C. barbata* (7.45%), mientras que el ácido esteárico (C18:0) caracterizó a *C. compressa* (15.27%) (Tabla 2).

Los MUFA variaron de 25.30% de los AG totales en *C. compressa* a 37.1% en *C. schiffneri*. El ácido oleico (C18:1) fue el MUFA principal (>20% de los AG totales) para la mayoría de las especies de *Cystoseira* estudiadas.

Los PUFA variaron entre 15.05% (*C. compressa*) y 30.35% (*C. crinita*). Entre los PUFA, el ácido araquidónico (C20:4n-6) fue el más abundante en las especies analizadas, con un nivel particularmente alto de 15.98% en *C. crinita*. El porcentaje más alto de ácido linoleico (C18:2n-6) se observó en *C. elegans* (7.59%), mientras que los porcentajes más altos de ácido eicosapentaenoico (C20:5n-3) y ácido estearidónico (C18:4n-3) se observaron en *C. crinita* (3.31%) y *C. amentacea* var. *stricta* (3.10%), respectivamente. Los PUFA omega 3 se detectaron en todas las especies estudiadas. Los omega 3 totales ( $\sum n-3$ ) variaron entre 1.48% (*C. elegans*) y 5.69% (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*). *Cystoseira foeniculacea* f. *latiramosa* y *C. crinita* fueron las especies con mayor riqueza de PUFA n-3 (5.69%

**Table 1.** Lipid extracts of *Cystoseira* species collected along the Tunisian coast. DW, dry weight; FW, fresh weight; N, northern coast of Tunisia; and S, southeastern coast of Tunisia. **Tabla 1.** Extractos lipídicos de los taxones de *Cystoseira* recolectados a lo largo de la costa tunecina. DW, peso seco; FW, peso fresco; N, costa norte de Túnez; y S, costa sureste de Túnez.

Species	Total lipids	
	(mg·g <sup>-1</sup> DW)*	Yield* (FW% w/w)
<i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>stricta</i> (N)	39.60 ± 3.60 <sup>cd</sup>	5.28 ± 2.31 <sup>cd</sup>
<i>Cystoseira barbata</i> (S)	30.80 ± 2.80 <sup>ef</sup>	4.11 ± 1.80 <sup>ef</sup>
<i>Cystoseira compressa</i> (N)	46.20 ± 4.20 <sup>bc</sup>	6.16 ± 2.70 <sup>bc</sup>
<i>Cystoseira crinita</i> (N)	66.00 ± 6.00 <sup>a</sup>	8.80 ± 3.86 <sup>a</sup>
<i>Cystoseira elegans</i> (S)	47.50 ± 4.50 <sup>b</sup>	6.33 ± 2.78 <sup>b</sup>
<i>Cystoseira foeniculacea</i> (N)	52.80 ± 4.80 <sup>b</sup>	7.04 ± 3.09 <sup>b</sup>
<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>latiramosa</i> (N)	24.20 ± 2.20 <sup>fg</sup>	3.23 ± 1.41 <sup>fg</sup>
<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> (N)	31.20 ± 2.40 <sup>e</sup>	4.16 ± 1.82 <sup>e</sup>
<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> (S)	33.00 ± 3.00 <sup>de</sup>	4.40 ± 1.93 <sup>de</sup>
<i>Cystoseira sauvageauana</i> (N)	68.20 ± 6.20 <sup>a</sup>	9.09 ± 3.99 <sup>a</sup>
<i>Cystoseira schiffneri</i> (S)	19.80 ± 1.80 <sup>g</sup>	2.64 ± 1.16 <sup>g</sup>
<i>Cystoseira sedoides</i> (N)	33.00 ± 3.00 <sup>de</sup>	4.40 ± 1.93 <sup>de</sup>

\*Data are expressed as mean ± SD, where  $n = 3$ ; values in a column without a common superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

studied species in rates varying between 0.62% (*C. elegans*) and 3.10% (*C. amentacea* var. *stricta*). Linoleic acid (C18:2n-6) was found in all studied species at rates ranging between 2.42% (*C. sedoides*) and 7.59% (*C. elegans*). *Cystoseira crinita* was the richest in the dihomog- $\gamma$ -linolenic acid (C20:3n-6, 2.07%), an uncommon FA.

### Discrimination of *Cystoseira*

The results of FA composition were evaluated using multivariate analyses to investigate whether the various lipid and FA patterns correlated with the taxonomic position of the brown *Cystoseira* algae and lead to distinguish between species and forms. Differentiating species according to their chemical composition could be valuable when examining any possible relationship between them. In this regard, a PCA was performed to consider the FA composition of each sample investigated. The 3 axes accounted for 86.89% of total variance. The first 2 dimensions explained 78.07% of the variability. Principal component (PC) 1 was defined by palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1n-9), and arachidonic acid (C20:4n-6), while the most discriminant variable along the PC2 axis was stearic acid (C18:0) and explained 27.89% of total variation. PC3 was defined by elaidic acid (Trans C18:1), myristic acid (C14:0), palmitoleic acid (C16:1n-7), and linoleic acid (C18:2n-6). Plotting on axes 1 and 2 divided species into 3 major groups (Fig. 3). The first group included only

y 5.67% del total de los AG, respectivamente). Esta riqueza se relaciona con las altas tasas de triglicérido n-3 de origen marino (C20:5n-3), un PUFA n-3 importante, que contienen estas especies. El ácido estearidónico (C18:4n-3) también se detectó en todas las especies estudiadas; este varió entre 0.62% (*C. elegans*) y 3.10% (*C. amentacea* var. *stricta*). El ácido linoleico (C18:2n-6) se encontró en todas las especies estudiadas en cantidades que variaron entre 2.42% (*C. sedoides*) y 7.59% (*C. elegans*). *Cystoseira crinita* presentó la mayor cantidad de ácido dihomog- $\gamma$ -linolénico (C20:3n-6; 2.07%), un AG poco común.

### Discriminación de *Cystoseira*

Los resultados de la composición de AG se evaluaron con análisis multivariados para investigar si los diversos patrones de los lípidos y los AG se correlacionaban con la posición taxonómica de las algas pardas de *Cystoseira* y permitirían la distinción entre especies y formas. La diferenciación de especies por su composición química podría ser valiosa cuando se examina cualquier relación posible entre ellas. Por lo tanto, se llevó a cabo un ACP para considerar la composición de los AG de cada muestra investigada. Los 3 ejes explicaron el 86.89% de la varianza total. Las primeras 2 dimensiones explicaron el 78.07% de la variabilidad. El componente principal (CP) 1 se definió por el ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1n-9) y ácido araquidónico (C20:4n-6), mientras que la variable que más discriminó en el eje del CP2 fue el

**Table 2.** Fatty acid composition and nutritional indices (expressed as percent of total fatty acids) for *Cystoseira* species collected along the Tunisian coast. N, north; S, south;  $\Sigma$ SFAs, sum of saturated fatty acids;  $\Sigma$ MUFAs, sum of monounsaturated fatty acids;  $\Sigma$ PUFAs, sum of polyunsaturated fatty acids; AA, arachidonic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; Tr, trace fatty acids that were present at <0.1%; n.d., fatty acid not detected; UI, unsaturation index; IA, index of atherogenicity; IT, index of thrombogenicity.

**Tabla 2.** Composición de los ácidos grasos e índices nutricionales (expresados en porcentaje de ácidos grasos totales) de las especies de *Cystoseira* recolectadas en la costa tunecina. N, norte; S, sur;  $\Sigma$ SFAs, suma de los ácidos grasos saturados;  $\Sigma$ MUFAs, suma de los ácidos grasos monoinsaturados;  $\Sigma$ PUFAs, suma de los ácidos grasos poliinsaturados; AA, ácido araquidónico; EPA, ácido eicosapentaenoico; Tr, ácidos grasos traza presentes en <0.1%; n.d., ácidos grasos no detectados; UI, índice de instauración; AI, índice de aterogenicidad; IT, índice de trombogenicidad.

Common name	<i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>stricta</i>	<i>Cystoseira barbata</i>	<i>Cystoseira presa</i>	<i>Cystoseira crinita</i>	<i>Cystoseira elegans</i>	<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>latiramosa</i>	<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> (N)	<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> (S)	$\alpha$	<i>Cystoseira schiffneri</i>	<i>Cystoseira sedoides</i>	
												<i>Cystoseira foeniculacea</i>
C14:0	5.82 ± 0.13 <sup>abd</sup>	7.45 ± 0.69 <sup>a</sup>	4.39 ± 0.44 <sup>def</sup>	6.91 ± 0.13 <sup>ab</sup>	5.60 ± 2.33 <sup>abd</sup>	5.17 ± 0.39 <sup>def</sup>	3.87 ± 0.02 <sup>ef</sup>	5.24 ± 1.39 <sup>bcde</sup>	5.10 ± 0.22 <sup>def</sup>	6.38 ± 1.82 <sup>abc</sup>	5.08 ± 0.37 <sup>def</sup>	3.54 ± 0.65 <sup>f</sup>
C15:0	n.d.	n.d.	0.20 ± 0.17 <sup>bc</sup>	0.13 ± 0.22 <sup>e</sup>	0.23 ± 0.23 <sup>bc</sup>	n.d.	0.75 ± 0.37 <sup>a</sup>	n.d.	n.d.	Tr.	0.48 ± 0.04 <sup>e</sup>	0.44 ± 0.09 <sup>b</sup>
C16:0	32.96 ± 1.76 <sup>de</sup>	32.05 ± 0.20 <sup>bc</sup>	38.05 ± 1.83 <sup>bc</sup>	30.13 ± 0.33 <sup>c</sup>	36.18 ± 1.77 <sup>abd</sup>	38.78 ± 1.18 <sup>bc</sup>	39.11 ± 0.64 <sup>bc</sup>	44.70 ± 6.44 <sup>a</sup>	39.88 ± 3.54 <sup>b</sup>	35.37 ± 0.25 <sup>cd</sup>	32.89 ± 3.09 <sup>de</sup>	35.19 ± 0.23 <sup>cd</sup>
C18:0	1.73 ± 0.33 <sup>e</sup>	6.19 ± 2.21 <sup>abd</sup>	15.27 ± 3.37 <sup>a</sup>	3.47 ± 1.76 <sup>de</sup>	4.29 ± 0.61 <sup>de</sup>	4.14 ± 0.24 <sup>de</sup>	7.82 ± 0.15 <sup>b</sup>	3.20 ± 0.67 <sup>de</sup>	2.50 ± 1.93 <sup>e</sup>	6.95 ± 3.39 <sup>bc</sup>	3.01 ± 3.07 <sup>e</sup>	1.60 ± 0.13 <sup>e</sup>
$\Sigma$ SFA	40.51 ± 1.33 <sup>f</sup>	45.69 ± 1.33 <sup>def</sup>	57.91 ± 3.87 <sup>a</sup>	40.64 ± 1.72 <sup>f</sup>	47.38 ± 4.62 <sup>de</sup>	48.09 ± 1.62 <sup>abd</sup>	51.56 ± 0.14 <sup>bc</sup>	53.14 ± 8.41 <sup>b</sup>	54.91 ± 2.96 <sup>de</sup>	49.33 ± 2.51 <sup>abd</sup>	42.11 ± 0.13 <sup>f</sup>	41.90 ± 0.81 <sup>ef</sup>
C16:1n-7	3.00 ± 0.28 <sup>ef</sup>	2.93 ± 0.38 <sup>efg</sup>	3.13 ± 0.26 <sup>ef</sup>	1.92 ± 0.05 <sup>ef</sup>	3.81 ± 0.82 <sup>e</sup>	7.82 ± 0.63 <sup>b</sup>	5.46 ± 0.02 <sup>d</sup>	6.36 ± 0.63 <sup>cd</sup>	7.47 ± 0.30 <sup>b</sup>	2.20 ± 1.47 <sup>fg</sup>	7.26 ± 0.60 <sup>bc</sup>	9.91 ± 0.57 <sup>a</sup>
C18:1n-9	26.88 ± 1.31 <sup>a</sup>	26.56 ± 2.05 <sup>ab</sup>	20.60 ± 0.67 <sup>ef</sup>	24.55 ± 1.60 <sup>bc</sup>	21.56 ± 0.32 <sup>def</sup>	17.67 ± 1.06 <sup>f</sup>	19.71 ± 0.55 <sup>fg</sup>	20.42 ± 0.93 <sup>ef</sup>	20.79 ± 2.16 <sup>def</sup>	22.05 ± 1.50 <sup>de</sup>	25.19 ± 0.42 <sup>ab</sup>	22.84 ± 0.86 <sup>cd</sup>
Trans-18:1	2.35 ± 0.39 <sup>bc</sup>	1.78 ± 0.06 <sup>bc</sup>	1.57 ± 0.41 <sup>c</sup>	1.24 ± 0.05 <sup>e</sup>	4.58 ± 3.25 <sup>a</sup>	2.72 ± 0.23 <sup>bc</sup>	1.12 ± 0.05 <sup>c</sup>	2.62 ± 0.17 <sup>bc</sup>	1.28 ± 0.26 <sup>f</sup>	2.27 ± 0.12 <sup>bc</sup>	4.64 ± 0.30 <sup>b</sup>	3.49 ± 1.27 <sup>ab</sup>
$\Sigma$ MUFAs	32.23 ± 1.80 <sup>b</sup>	31.27 ± 1.33 <sup>bc</sup>	25.30 ± 0.36 <sup>f</sup>	27.71 ± 1.58 <sup>def</sup>	29.93 ± 4.22 <sup>abd</sup>	28.21 ± 0.91 <sup>def</sup>	26.30 ± 0.57 <sup>f</sup>	29.40 ± 0.80 <sup>bcde</sup>	29.51 ± 2.38 <sup>bcde</sup>	26.51 ± 1.83 <sup>ef</sup>	37.09 ± 1.18 <sup>a</sup>	36.17 ± 0.96 <sup>a</sup>
C18:2n-6	4.81 ± 0.08 <sup>bc</sup>	5.69 ± 0.77 <sup>ab</sup>	3.86 ± 1.94 <sup>abd</sup>	5.32 ± 0.29 <sup>bc</sup>	7.59 ± 2.13 <sup>a</sup>	5.87 ± 0.45 <sup>ab</sup>	5.94 ± 0.23 <sup>ab</sup>	3.40 ± 2.95 <sup>cd</sup>	5.73 ± 0.36 <sup>ab</sup>	5.56 ± 1.56 <sup>abc</sup>	4.15 ± 0.22 <sup>bcd</sup>	2.42 ± 0.31 <sup>d</sup>
C18:3n-6	1.12 ± 0.34 <sup>ab</sup>	0.87 ± 0.75 <sup>abc</sup>	Tr.	0.99 ± 0.05 <sup>ab</sup>	1.67 ± 0.90 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.54 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.68 ± 1.18 <sup>bc</sup>	0.23 ± 0.10 <sup>bc</sup>	0.61 ± 0.45 <sup>bc</sup>	0.77 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.40 ± 0.15 <sup>bc</sup>
C18:4n-3	3.10 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.46 ± 0.21 <sup>abd</sup>	1.07 ± 0.82 <sup>cd</sup>	2.36 ± 2.06 <sup>abc</sup>	0.62 ± 0.11 <sup>d</sup>	2.20 ± 0.21 <sup>abc</sup>	2.71 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.06 ± 1.90 <sup>abc</sup>	1.27 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	1.37 ± 0.24 <sup>bcd</sup>	1.62 ± 0.17 <sup>bcd</sup>	0.92 ± 0.10 <sup>cd</sup>
C20:2n-6	n.d.	n.d.	0.31 ± 0.55 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.25 <sup>b</sup>	n.d.	0.71 ± 0.32 <sup>b</sup>	0.34 ± 0.25 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.20 ± 0.24 <sup>b</sup>	n.d.	0.37 ± 0.15 <sup>b</sup>	1.08 ± 0.21 <sup>a</sup>
C20:3n-6	0.96 ± 0.03 <sup>abd</sup>	0.51 ± 0.36 <sup>cd</sup>	0.87 ± 0.69 <sup>cd</sup>	2.07 ± 1.46 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.05 <sup>cd</sup>	1.32 ± 0.12 <sup>abc</sup>	1.08 ± 0.05 <sup>bc</sup>	1.01 ± 0.93 <sup>bc</sup>	0.40 ± 0.39 <sup>cd</sup>	Tr.	0.60 ± 0.06 <sup>cd</sup>	1.92 ± 0.38 <sup>ab</sup>
C20:4n-6 (AA)	14.45 ± 0.41 <sup>ab</sup>	12.70 ± 0.56 <sup>bc</sup>	7.35 ± 2.46 <sup>f</sup>	15.98 ± 1.54 <sup>a</sup>	10.97 ± 0.67 <sup>cd</sup>	9.94 ± 0.79 <sup>de</sup>	7.91 ± 0.25 <sup>ef</sup>	8.20 ± 0.75 <sup>ef</sup>	12.74 ± 1.07 <sup>bc</sup>	14.56 ± 1.51 <sup>ab</sup>	10.47 ± 1.41 <sup>d</sup>	11.97 ± 1.19 <sup>cd</sup>



Common name	<i>Cystoseira amantacea</i> var. <i>stricta</i>	<i>Cystoseira barbata</i>	<i>Cystoseiraacoma presa</i>	<i>Cystoseira crinita</i>	<i>Cystoseira elegans</i>	<i>Cystoseira foeniculacea</i>	<i>Cystoseira foeniculacea</i>		<i>Cystoseira foeniculacea</i> (S)	<i>Cystoseira sauvageana</i>	<i>Cystoseira schiffneri</i>	<i>Cystoseira sedoides</i>
							<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>latiramosa</i>	<i>Cystoseira foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> (N)				
C20:5n-3	1.74 ± 0.43 <sup>cde</sup>	1.43 ± 0.09 <sup>def</sup>	1.59 ± 0.31 <sup>de</sup>	3.31 ± 0.62 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.05 <sup>f</sup>	2.01 ± 0.17 <sup>cd</sup>	3.01 ± 0.39 <sup>ab</sup>	1.58 ± 0.84 <sup>de</sup>	1.20 ± 0.12 <sup>ef</sup>	2.01 ± 0.72 <sup>cd</sup>	1.63 ± 0.24 <sup>de</sup>	2.42 ± 0.20 <sup>bc</sup>
ΣPUFAs	26.17 ± 0.62 <sup>ab</sup>	24.12 ± 0.81 <sup>bc</sup>	15.05 ± 4.14 <sup>f</sup>	30.35 ± 2.38 <sup>a</sup>	22.45 ± 0.50 <sup>bc</sup>	23.80 ± 2.08 <sup>bc</sup>	22.10 ± 0.36 <sup>cd</sup>	17.21 ± 7.62 <sup>de</sup>	21.77 ± 0.82 <sup>bed</sup>	24.12 ± 0.77 <sup>bc</sup>	19.60 ± 1.26 <sup>cde</sup>	21.15 ± 0.90 <sup>cd</sup>
PUFA/SFA	0.65 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.09 <sup>d</sup>	0.75 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.34 ± 0.18 <sup>cd</sup>	0.45 ± 0.03 <sup>bc</sup>	0.50 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.03 <sup>b</sup>
Σn-3	4.83 ± 0.56 <sup>ab</sup>	2.89 ± 0.28 <sup>cde</sup>	2.66 ± 1.02 <sup>cde</sup>	5.67 ± 1.75 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.06 <sup>c</sup>	4.20 ± 0.37 <sup>abc</sup>	5.69 ± 0.39 <sup>a</sup>	3.65 ± 2.68 <sup>bed</sup>	2.47 ± 0.13 <sup>de</sup>	3.38 ± 0.13 <sup>bed</sup>	3.24 ± 0.07 <sup>bed</sup>	3.34 ± 0.147 <sup>bed</sup>
Σn-6	21.33 ± 0.66 <sup>b</sup>	19.76 ± 0.56 <sup>bc</sup>	12.39 ± 3.43 <sup>g</sup>	24.68 ± 0.79 <sup>a</sup>	20.97 ± 0.56 <sup>bc</sup>	19.09 ± 1.70 <sup>bed</sup>	15.66 ± 0.32 <sup>efg</sup>	13.29 ± 5.13 <sup>fg</sup>	19.11 ± 0.50 <sup>bed</sup>	20.73 ± 0.51 <sup>bc</sup>	16.35 ± 1.19 <sup>def</sup>	17.80 ± 0.76 <sup>cde</sup>
Σn-6/Σn-3	4.41 ± 0.64 <sup>cd</sup>	5.75 ± 0.44 <sup>bc</sup>	4.66 ± 1.95 <sup>bcd</sup>	4.69 ± 1.63 <sup>cd</sup>	10.95 ± 3.57 <sup>a</sup>	4.67 ± 0.12 <sup>cd</sup>	2.76 ± 0.13 <sup>d</sup>	6.16 ± 5.63 <sup>bc</sup>	7.83 ± 0.19 <sup>b</sup>	6.26 ± 1.16 <sup>bc</sup>	5.04 ± 0.25 <sup>bed</sup>	5.33 ± 0.08 <sup>bed</sup>
AA/EPA	8.77 ± 2.74 <sup>bc</sup>	8.88 ± 0.17 <sup>bc</sup>	4.62 ± 1.37 <sup>ef</sup>	5.93 ± 1.52 <sup>def</sup>	12.85 ± 1.53 <sup>a</sup>	4.97 ± 0.30 <sup>def</sup>	2.66 ± 0.26 <sup>f</sup>	6.75 ± 4.46 <sup>cde</sup>	10.66 ± 0.96 <sup>ab</sup>	7.76 ± 2.28 <sup>bed</sup>	6.47 ± 0.55 <sup>cde</sup>	4.94 ± 0.09 <sup>def</sup>
UI	126.95 ± 2.32 <sup>ab</sup>	110.56 ± 2.43 <sup>c</sup>	77.23 ± 12.90 <sup>f</sup>	137.41 ± 8.38 <sup>a</sup>	103.02 ± 2.92 <sup>cd</sup>	107.74 ± 5.57 <sup>e</sup>	100.0 ± 3.11 <sup>cd</sup>	90.26 ± 25.23 <sup>de</sup>	104.91 ± 2.90 <sup>cd</sup>	113.25 ± 5.96 <sup>bc</sup>	105.97 ± 4.92 <sup>e</sup>	111.68 ± 4.31 <sup>bc</sup>
IA	0.96 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.15 ± 0.02 <sup>abc</sup>	1.40 ± 0.13 <sup>ab</sup>	0.99 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.13 ± 0.31 <sup>bc</sup>	1.15 ± 0.08 <sup>abc</sup>	1.14 ± 0.02 <sup>abc</sup>	1.48 ± 0.59 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.10 <sup>bc</sup>	1.20 ± 0.14 <sup>abc</sup>	0.94 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.86 ± 0.07 <sup>c</sup>
IT	0.98 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.33 ± 0.09 <sup>bc</sup>	2.23 ± 0.47 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.16 <sup>c</sup>	1.55 ± 0.27 <sup>bc</sup>	1.32 ± 0.10 <sup>bc</sup>	1.32 ± 0.05 <sup>bc</sup>	1.88 ± 1.10 <sup>ab</sup>	1.49 ± 0.16 <sup>bc</sup>	1.44 ± 0.17 <sup>bc</sup>	1.12 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.08 ± 0.05 <sup>c</sup>

Values are expressed as mean ± SD of 3 replicates at 95% confidence interval. Different superscript letters in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ ); values were rounded off to 2 decimal places and may not total 100%.

*C. compressa*, the second comprised the *C. foeniculacea* group (*C. foeniculacea* and its forms *tenuiramosa* and *latiramosa*), and the third, the most heterogeneous one, comprised the other *Cystoseira* samples (Fig. 3).

With the hierarchical clustering analysis, the dendrogram of FAs for the *Cystoseira* samples showed the presence of 4 clusters that were connected at  $D_E = 14.7$  (Fig. 4). Species were grouped independently of their geographic distribution. The greatest similarity was observed between *C. amentacea* var. *stricta* and *C. crinita* at  $D_E = 5.2$ . As in the PCA model, the *C. foeniculacea* forms were closely linked and grouped in a single cluster at  $D_E = 11.4$  (Fig. 4).

### Nutritional quality assessment

The PUFA/SFA ratio is commonly used to evaluate the nutritional quality of the lipid fraction of foods. Except for *C. compressa* and *C. foeniculacea* f. *tenuiramosa*, the *Cystoseira* species analyzed in the present study exhibited PUFA/SFA ratios exceeding 0.4 (Table 2). The n-3 and n-6 PUFAs represent a significant part of the *Cystoseira* lipids. The n-3 PUFA ranged between 1.48% (*C. elegans*) and 5.69% (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*), while the n-6 PUFA varied between 12.39% (*C. compressa*) and 24.68% (*C. crinita*) of total FA. The 11 *Cystoseira* species exhibited high unsaturation indices, varying from 77.23 (*C. compressa*) to 137.41 (*C. crinita*). The highest IA and IT values were, respectively, 1.48 (*C. foeniculacea* f. *tenuiramosa*) and 2.23 (*C. compressa*) (Table 2).

### DISCUSSION

Total lipid content in the 11 *Cystoseira* species analyzed in this study was close to that reported for *C. brachycarpa* (Ragonese et al. 2014) off Italy and *C. osmundacea* (Khotimchenko et al. 2002) in the Sea of Japan. However, total lipid rates for Tunisian *Cystoseira* were higher than those for Moroccan *Cystoseira* from the Atlantic (between 1.3 and 16 mg·g<sup>-1</sup> DW, Valls et al. 1993) and those for Indian *Cystoseira* (between 6.1 and 6.7 mg·g<sup>-1</sup> fresh weight [FW], Kumari et al. 2013). The species investigated here are poorly studied in the world as regards their total lipid content. This study shows that Tunisian *C. barbata* (4.11 g·100 g<sup>-1</sup> FW) and *C. crinita* (8.8 g·100 g<sup>-1</sup> FW) are richer in total lipids than species from the Black Sea harvested during the same season (0.84 g·100 g<sup>-1</sup> FW for *C. barbata* [Ivanova et al. 2012] and 0.72 g·100 g<sup>-1</sup> FW for *C. crinita* [Ivanova et al. 2013]), and these differences are related to environmental conditions. In fact, it is proven that in algae, total lipid content depends on temperature, light, and salinity (Kim et al. 1996), factors that are very different between Tunisian and Black Sea waters. Intraspecific variability in total lipid content could also be dependent on the physiological state of the species, as suggested by the higher rate observed in this study for *C. barbata* (3.08%), compared to that reported by Frikha et al. (2011) for

ácido esteárico (C18:0), el cual explicó el 27.89% de la variación total. El CP3 se definió por ácido eláidico (Trans C18:1), ácido mirístico (C14:0), ácido palmitoleico (C16:1n-7) y ácido linoleico (C18:2n-6). El trazo sobre los ejes 1 y 2 dividió las especies en 3 grupos principales (Fig. 3). El primer grupo se formó únicamente por *C. compressa*, el segundo incluyó al grupo *C. foeniculacea* (*C. foeniculacea* y sus formas *tenuiramosa* y *latiramosa*) y el tercero, el más heterogéneo, incluyó las otras muestras de *Cystoseira* (Fig. 3).

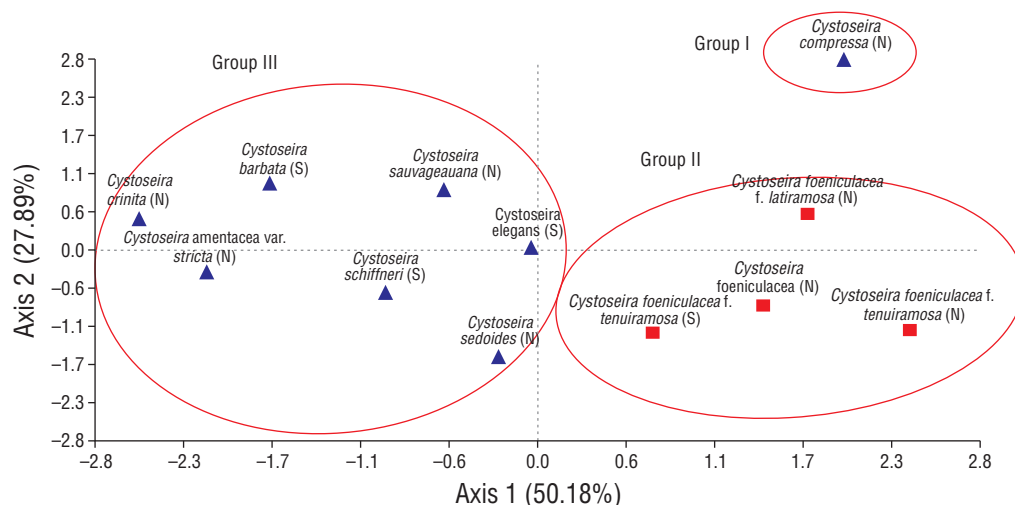
En el análisis de agrupamiento jerárquico, el dendrograma de los AG de las muestras de *Cystoseira* presentó 4 conglomerados que estaban conectados a una  $D_E = 14.7$  (Fig. 4). Las especies se agruparon independientemente de sus distribuciones geográficas. La mayor similitud se observó entre *C. amentacea* var. *stricta* y *C. crinita* a  $D_E = 5.2$ . Así como en el modelo del ACP, las formas de *C. foeniculacea* estuvieron conectadas de manera cercana y agrupadas en un único conglomerado a  $D_E = 11.4$  (Fig. 4).

### Evaluación de la calidad nutricional

La relación de PUFA/AGS comúnmente se usa para evaluar la calidad nutricional de la fracción lipídica de los alimentos. Con la excepción de *C. compressa* y *C. foeniculacea* f. *tenuiramosa*, las especies de *Cystoseira* que se investigaron en el presente estudio presentaron relaciones de PUFA/AGS mayores que 0.4 (Tabla 2). Los PUFA n-3 y n-6 representaron una parte significativa de los lípidos de *Cystoseira*. Los PUFA n-3 variaron entre 1.48% (*C. elegans*) y 5.69% (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*), mientras que los PUFA n-6 variaron entre 12.39% (*C. compressa*) y 24.68% (*C. crinita*) del total de los AG. Las 11 especies de *Cystoseira* estudiadas presentaron índices de insaturación altos que variaron de 77.23 (*C. compressa*) a 137.41 (*C. crinita*). Los valores más altos del IA y el IT fueron 1.48 (*C. foeniculacea* f. *tenuiramosa*) y 2.23 (*C. compressa*), respectivamente (Tabla 2).

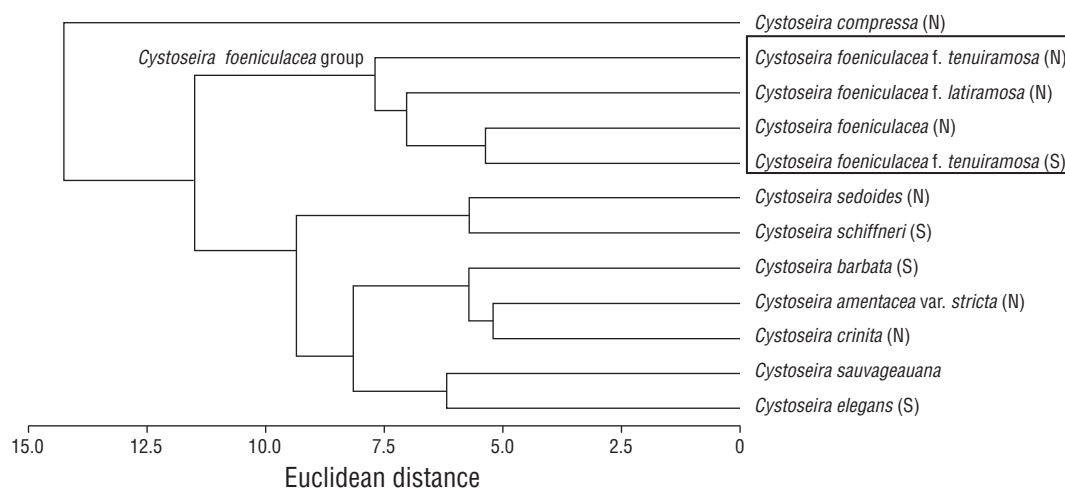
### DISCUSIÓN

El contenido de los lípidos totales de las 11 especies de *Cystoseira* investigadas en el presente estudio fue cercano al reportado para la *C. brachycarpa* de Italia (Ragonese et al. 2014) y para la *C. osmundacea* del mar de Japón (Khotimchenko et al. 2002). Sin embargo, las tasas de los lípidos totales de las especies de *Cystoseira* de Túnez fueron más altas que las de las especies de *Cystoseira* de Marruecos del océano Atlántico (entre 1.3 y 16 mg·g<sup>-1</sup> PS, Valls et al. 1993) y las de las especies de *Cystoseira* de la India (entre 6.1 y 6.7 mg·g<sup>-1</sup> peso fresco [PF], Kumari et al. 2013). En el mundo, hay pocos estudios de los lípidos totales de las especies aquí estudiadas. Este estudio demuestra que *C. barbata* (4.11 g·100 g<sup>-1</sup> PF) y *C. crinita* (8.8 g·100 g<sup>-1</sup> PF) de Túnez son más ricas en lípidos totales que las especies del mar Negro que se recolectaron durante la misma estación (0.84 g·100 g<sup>-1</sup> PF para *C. barbata* [Ivanova et al. 2012] y 0.72 g·100 g<sup>-1</sup> PF para



**Figure 3.** Principal component analysis using fatty acid composition of *Cystoseira* taxa. The *Cystoseira foeniculacea* forms are denoted by squares. S, south; and N, north.

**Figura 3.** Análisis de componentes principales usando la composición de los ácidos grasos de los taxones de *Cystoseira*. Las formas de *Cystoseira foeniculacea* están señaladas con cuadros; S, sur; y N, norte.



**Figure 4.** Dendrogram showing hierarchical clustering (UPGMA method) of *Cystoseira* samples by fatty acid content. S, south; N, north.

**Figura 4.** Dendrograma que muestra el agrupamiento jerárquico (método UPGMA) de las muestras de *Cystoseira* por contenido de ácidos grasos. S, sur; N, norte.

the same species in almost the same environmental conditions (2.51%, Gulf of Gabès, Tunisian southern coast).

In General, *C. compressa* was the richest in SFA, whereas *C. amentacea* var. *stricta* and *C. schiffneri* stood out for their high content of PUFA and MUFA. Palmitic acid (C16:0) was the main FA of the *Cystoseira* lipids, followed by oleic acid. These results confirm data previously reported in the literature for the profile commonly seen in brown algae, especially in *Cystoseira* species (Khotimchenko et al. 2002; Ivanova et al. 2012, 2013; Kumari et al. 2013; Ragonese et al. 2014; Vizetto-Duarte et al. 2015). For a given taxon, the differences between the FA profile observed in Tunisia and

*C. crinita* [Ivanova et al. 2013]), y estas diferencias se deben a las condiciones ambientales. De hecho, está confirmado que el contenido de lípidos totales en las algas depende de la temperatura, la luz y la salinidad (Kim et al. 1996), factores que difieren mucho entre las aguas de Túnez y el mar Negro. La variabilidad intraespecífica en el contenido de lípidos totales también puede depender del estado fisiológico de las especies, como lo sugiere la tasa observada en este estudio para *C. barbata* (3.08%), la cual es más alta que la reportada por Frikha et al. (2011) para la misma especie bajo condiciones ambientales muy similares (2.51%, golfo de Gabès, costa sur de Túnez).

those reported in the literature for other regions could be related to the different seasons in which the studied samples were harvested and so to the different physiological states of the concerned species and/or to the differences in environmental conditions of habitats in the different regions. Temperature seems to be the factor that most affects the percentage of SFA and PUFA; for instance, Colombo et al. (2006) proved that algae from cold water (e.g., Canada) were usually richer in PUFA, with a higher n-3/n-6 FA ratio, than algae from warm water (e.g., China), and studies carried out in cold waters (Atlantic waters) exhibited higher SFA ratios than PUFA ratios in *Cystoseira* species (Vizetto-Duarte et al. 2015). However, the highest PUFA ratios found in warm-water algae from the Sea of Japan (Nomura et al. 2013) suggest that the environmental factors in the species' habitat, other than temperature, could influence the FA profiles of algae.

Species from different localities did not show clustering behavior along the 2 axes of the PCA (Fig. 3). Furthermore, the PCA score plot of species highlighted that the FA composition of a species was independent of its origin. This low geographic differentiation could be explained by intraspecific diversity, which might affect the variability in FA composition. Samples of the *C. foeniculacea* group were distributed mainly along axis 2 and aggregated close to each other (group 2), showing low variation in the pool of variables considered and that species displayed a similar lipid profile (Fig. 3). The *C. foeniculacea* group was clustered according to its forms. *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* from different regions (north and south) were grouped together.

It is not surprising that *C. schiffneri* was segregated from the *C. foeniculacea* group since *C. schiffneri* (sensu Hamel 1939) (Hamel 1931–1939), considered as a synonym of *C. foeniculacea* f. *schiffneri* (Hamel) Gómez-Garreta, Barceló, Ribera and Rull Lluch (Gómez-Garreta et al. 2001), was recently reinstated as a specific rank, a distinct entity of the *Cystoseira* species (Bouafif et al. 2016). This discrimination of *Cystoseira* based on FAs supports the reinstatement of *C. schiffneri* (Hamel) as a specific rank.

Hierarchical clustering analysis revealed that species were more related to each other by their FA composition than by their geographic distribution, highlighting the intraspecific diversity in the genus *Cystoseira* (Fig. 4). The clustering of the *C. foeniculacea* group according to the FA profile supports earlier evidence that lipid composition could be a biochemical marker for each taxonomic group.

The PUFA/SFA ratios obtained in the present study are within the nutritional guidelines recommending a PUFA/SFA ratio higher than 0.4 (Wood et al. 2004). The n-6/n-3 PUFA ratios ranging from 2.76 (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*) to 10.95 (*C. elegans*) for the 11 *Cystoseira* species were comparable to those for Portuguese *Cystoseira* species (Vizetto-Duarte et al. 2015), and these high ratios

En general, *C. compressa* fue la más rica en AGS, mientras que *C. amentacea* var. *stricta* y *C. schiffneri* sobresalieron por sus altos contenidos de PUFA y MUFA. El ácido palmítico (C16:0) fue el AG mayoritario de los lípidos de *Cystoseira*, seguido por el ácido oleico. Estos resultados confirman los datos reportados previamente en la literatura para los perfiles observados comúnmente en las algas pardas, especialmente en las especies de *Cystoseira* (Khotimchenko et al. 2002; Ivanova et al. 2012, 2013; Kumari et al. 2013; Ragonese et al. 2014; Vizetto-Duarte et al. 2015). Para un taxón dado, las diferencias entre los perfiles de AG observados en Túnez y los reportados en la literatura para otras regiones podrían relacionarse a las diferentes estaciones en las que se recolectaron las muestras estudiadas y, por lo tanto, a los diferentes estados fisiológicos de las especies en cuestión y/o a las diferentes condiciones ambientales de los hábitats en las diferentes regiones. La temperatura parece ser el factor que más afecta el porcentaje de AGS y PUFA; por ejemplo, Colombo et al. (2006) comprobó que las algas de aguas frías (e.g., Canadá) eran generalmente más ricas en PUFA, con una mayor proporción de AG n-3/n-6, que las algas de aguas cálidas (e.g., China), y los estudios realizados en aguas frías (Atlántico) mostraron mayores proporciones de AGS que de PUFA en las especies de *Cystoseira* (Vizetto-Duarte et al. 2015). Sin embargo, las proporciones más altas de PUFA encontradas en las algas de las aguas cálidas del mar de Japón (Nomura et al. 2013) sugieren que los factores ambientales de los hábitats de las especies, además de la temperatura, podrían influenciar los perfiles de AG de las algas.

Las especies de diferentes localidades no demostraron un comportamiento de agrupamiento a lo largo de los 2 ejes del ACP (Fig. 3). Además, la gráfica del ACP de las especies destacó que la composición de los AG de una especie era independiente de su origen. La baja diferenciación geográfica se podría explicar por la diversidad intraespecífica, que podría afectar la variabilidad de la composición de los AG. Las muestras del grupo *C. foeniculacea* se distribuyeron principalmente a lo largo del eje 2 y se agruparon de manera cercana (grupo 2), lo que demostró que la variación en el grupo de variables consideradas fue baja y que el perfil lipídico presentado por las especies fue similar (Fig. 3). El grupo *C. foeniculacea* se agrupó por sus formas. *Cystoseira foeniculacea* f. *tenuiramosa* provenientes de diferentes regiones (norte y sur) se agruparon juntas.

No es sorprendente que *C. schiffneri* se segregó del grupo *C. foeniculacea* ya que *C. schiffneri* (sensu Hamel, 1939) (Hamel 1931–1939), previamente considerada un sinónimo de *C. foeniculacea* f. *schiffneri* (Hamel) Gómez-Garreta, Barceló, Ribera y Rull Lluch (Gómez-Garreta et al. 2001), fue restablecida recientemente a categoría de especie, una entidad distintiva de las especies de *Cystoseira* (Bouafif et al. 2016). La discriminación de *Cystoseira* basada en AG apoya la restitución de *C. schiffneri* (Hamel) a categoría de especie.



are explained by the high levels of n-6 PUFAs in the lipid composition of the species. Seaweed FAs are beneficial for the prevention of cardiovascular diseases and other chronic diseases, such as diabetes, hypertension, and autoimmune disease, in humans (Dawczynski et al. 2007). Some studies suggested a beneficial n-6/n-3 ratio between 1:1 and 5:1 for human nutrition (Simopoulos 2002, 2008); the Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization committee recommended, in turn, an n-6/n-3 ratio between 5:1 and 10:1 (FAO/WHO 1995). Regarding our results, all 11 Tunisian *Cystoseira* species have high nutritional values.

High IA and IT values have adverse effects on human health and are considered potent indicators of and important factors for increased risk of coronary heart disease, where the higher the values the more degraded the nutritional quality (Ulbricht and Southgate 1991). The IT values for the algae analyzed in the present study were comparable to the IT values found by Ulbricht and Southgate (1991) for meat (0.7–1.1) and milk-based products (1.32). Thus, the results obtained in the present study suggest that *C. amentacea*, *C. crinita*, and *C. sedoides* were more antithrombogenic and antiatherogenic than the other analyzed *Cystoseira* species and could be used in nutraceuticals or food.

In conclusion, all studied species of *Cystoseira* have the same qualitative major FA composition. Interspecific quantitative variability in FA composition is, however, pointed out. This variability could be linked to environmental, biological, and physiological factors. Clustering of *C. foeniculacea* and its infrataxa (the *latiramosa* and *tenuiramosa* forms) according to the FA profiles suggest a possible use of FA composition for taxonomic purposes for the genus *Cystoseira*. This study further supports and confirms the recent study by Bouafif et al. (2016) about the reinstatement of the endemic Mediterranean *C. schiffneri*, considered before as a form of *C. foeniculacea*. The PUFA/SFA, n-6/n-3 PUFA, IA, and IT, indicators of nutritional lipid quality in food, suggest that the *Cystoseira* species studied here can be an interesting source of dietary FAs with beneficial effects on human health.

To our knowledge, this work is one of the rare investigations of lipid composition and nutritional value of Mediterranean *Cystoseira* species, some of which are rare and endemic.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Regional Activity Center for Specially Protected Areas for its financial support. The authors are grateful to the staff from the Laboratory of Plant Biotechnology (National Institute of Applied Science and Technology, Tunis, Tunisia) for their technical assistance. Many thanks go to the anonymous reviewers for their comments and constructive criticism of the manuscript.

El análisis de agrupamiento jerárquico demostró que las especies se relacionaron más por su composición de AG que por su distribución geográfica, destacando la diversidad intra-específica en el género *Cystoseira* (Fig. 4). El agrupamiento del grupo *C. foeniculacea* de acuerdo con el perfil de AG apoya la evidencia previa de que la composición lipídica podría ser un marcador bioquímico para cada grupo taxonómico.

Las proporciones de PUFA/AGS obtenidas en el presente estudio se encuentran dentro de las normas nutricionales que recomiendan una proporción de PUFA/AGS mayor que 0.4 (Wood et al. 2004). Las proporciones de PUFA n-6/n-3 que variaron de 2.76 (*C. foeniculacea* f. *latiramosa*) a 10.95 (*C. elegans*) para las 11 especies de *Cystoseira* investigadas en el presente estudio fueron comparables con las de las especies de *Cystoseira* de Portugal (Vizetto-Duarte et al. 2015), y estas proporciones elevadas se explican por los altos niveles de PUFA n-6 en la composición lipídica de las especies. Los AG de las macroalgas son benéficos para la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas, como diabetes, hipertensión y enfermedades autoinmunes en humanos (Dawczynski et al. 2007). Algunos estudios sugieren que la proporción de n-6/n-3 que es benéfica para la nutrición humana es de entre 1:1 y 5:1 (Simopoulos 2002, 2008); a su vez, el comité de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud recomendó una proporción de n-6/n-3 de entre 5:1 y 10:1 (FAO/WHO 1995). De acuerdo con nuestros resultados, las 11 especies de *Cystoseira* de Túnez estudiadas presentan altos valores nutricionales.

Altos valores del IA y del IT tienen efectos adversos en la salud humana y son considerados indicadores potentes de y factores importantes en el incremento del riesgo de desarrollar enfermedades de las arterias coronarias; entre mayor sea el valor mayor es la degradación de la calidad nutricional (Ulbricht y Southgate 1991). Los valores del IT para las algas estudiadas en el presente estudio fueron comparables con los valores del IT encontrados por Ulbricht y Southgate (1991) para carne (0.7–1.1) y productos lácteos (1.32). Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que *C. amentacea*, *C. crinita* y *C. sedoides* son más anti-trombogénicas y antiaterogénicas que las otras especies de *Cystoseira* investigadas y podrían usarse en nutraceuticos o alimentos.

En conclusión, todas las especies de *Cystoseira* tienen la misma composición cualitativa de AG mayoritarios. Sin embargo, se destaca la variabilidad cuantitativa interespecifica en la composición de AG. Esta variabilidad podría estar relacionada con factores ambientales, biológicos y fisiológicos. El agrupamiento de *C. foeniculacea* y sus infrataxones (formas *latiramosa* y *tenuiramosa*) por los perfiles de AG sugiere que la composición de AG puede usarse con propósitos taxonómicos para el género *Cystoseira*. Este estudio respalda y confirma el estudio reciente de Bouafif et al. (2016) sobre la restitución a la categoría de especie de *C. schiffneri*, especie endémica del Mediterráneo

## REFERENCES

- Abdala-Díaz RT, Cabello-Pasini A, Márquez-Garrido E, López-Figueroa F. 2014. Intra-thallus variation of phenolic compounds, antioxidant activity, and phenolsulphatase activity in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) from southern Spain = Variación intratalo de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y actividad de la fenolsulfatasa en *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) del sur de España. *Cienc. Mar.* 40(1): 1–10. <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v40i1.2350>
- Amico V. 1995. Marine brown algae of family Cystoseiraceae: Chemistry and chemotaxonomy. *Phytochemistry* 39(6): 1257–1279. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00199-h](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00199-h)
- Barre SLL, Weinberger F, Kervarec N, Potin P. 2004. Monitoring defensive responses in macroalgae—limitations and perspectives. *Phytochem. Rev.* 3(3): 371–379. <https://doi.org/10.1007/s11101-005-1459-3>
- Bouafif C, Verlaque M, Langar H. 2014. *Cystoseira* taxa new for the marine flora of Tunisia. *Cryptogamie Algol.* 35(3): 269–283. <http://dx.doi.org/10.7872/crya.v35.iss3.2014.269>
- Bouafif C, Verlaque M, Langar H. 2016. New contribution to the knowledge of the genus *Cystoseira* C. Agardh in the Mediterranean Sea, with the reinstatement of species rank for *C. schiffneri* Hamel. *Cryptogamie Algol.* 37(2): 133–154. <http://dx.doi.org/10.7872/crya/v37.iss2.2016.133>
- Calder PC. 2006. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(6): 1505S–1519S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1505S>
- Colombo ML, Risè P, Giavarini F, De Angelis L, Galli C, Bolis CL. 2006. Marine macroalgae as sources of polyunsaturated fatty acids. *Plant Foods Hum. Nutr.* 61(2): 64–69. <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0015-7>
- Connan S, Deslandes E, Gall EA. 2007. Influence of day–night and tidal cycles on phenol content and antioxidant capacity in three temperate intertidal brown seaweeds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 349(2): 359–369. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.05.028>
- Dawczynski C, Schubert R, Jahreis G. 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem.* 103(3): 891–899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>
- Ercegovič A. 1952. Fauna i Flora Jadrana. Jadranske cistozire. Njihova morfologija, ekologija i razvitak/Fauna et Flora Adriatica. Vol. 2– Split, Institut za Oceanografiju i Ribarstvo Split, pp. 1–172 (Croatian), 173–210 (French), 211–212 (references), Map.
- [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. 1995. WHO and FAO joint consultation: Fats and oils in human nutrition. *Nutr. Rev.* 53(7): 202–205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1995.tb01552.x>
- Frikha F, Kammoun M, Hammami N, Mchirgui RA, Belbahri L, Gargouri Y, Miled N, Ben-Rebah F. 2011. Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia = Composición química y algunas actividades biológicas de algas marinas recolectadas en Túnez. *Cienc. Mar.* 37(2): 113–124. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i2.1712>
- Galloway AWE, Britton-Simmons KH, Duggins DO, Gabrielson PW, Brett MT. 2012. Fatty acid signatures differentiate marine macrophytes at ordinal and family ranks. *J. Phycol.* 48(4): 956–965. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01173.x>
- previamente considerada una forma de *C. foeniculacea*. Las relaciones PUFA/AGS y PUFA n-6/n-3, el IA y el IT, indicadores de la calidad nutricional de los lípidos en los alimentos, sugieren que las especies de *Cystoseira* aquí estudiadas pueden ser una fuente interesante de AG alimentarios con efectos benéficos para la salud humana.
- Hasta donde sabemos, este trabajo es una de las pocas investigaciones de la composición lipídica y el valor nutricional de las especies de *Cystoseira* del Mediterráneo, algunas de las cuales son raras y endémicas.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo financiero del Centro de Actividad Regional para las Áreas Especialmente Protegidas. Los autores agradecen el apoyo técnico brindado por todo el personal del Laboratorio de Biotecnología Vegetal (Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Túnez, Túnez). Agradecemos a los revisores anónimos los comentarios y las críticas constructivas sobre el manuscrito.

- Gómez-Garreta A, Barcelo I-Martí MC, Ribera-Siguán MA, Rull-Lluch J. 2001. *Cystoseira* C. Agardh. In: Gómez-Garreta A (ed.), *Flora Phycologica Iberica*. Vol. 1, Fucales. Universidad de Murcia Press, Murcia (Spain), pp. 99–166.
- Guiry MD, Guiry GM. 2016. AlgaeBase. [Accessed 05 December 2016] World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>.
- Hamel G. 1931–1939. *Phéophycées de France*. [Publisher unknown] Paris (France), 432 pp. + 10 Plates.
- Ivanova V, Stancheva M, Merdzhanova A. 2012. Fatty acids composition of macroalgae from Bulgarian Black Sea coast. *OUAC* 23(1): 35–40. <https://doi.org/10.2478/v10310-012-0005-6>
- Ivanova V, Stancheva M, Petrova D. 2013. Fatty acid composition of Black Sea *Ulva rigida* and *Cystoseira crinita*. *Bulg. J. Agric. Sci.* 19(S1): 42–47.
- Khotimchenko SV, Vaskovsky VE, Titlyanova TV. 2002. Fatty acids of marine algae from the Pacific coast of North California. *Bot. Mar.* 45(1): 17–22. <https://doi.org/10.1515/bot.2002.003>
- Kim MK, Dubacq JP, Thomas JC, Giraud G. 1996. Seasonal variations of triacylglycerols and fatty acids in *Fucus serratus*. *Phytochemistry* 43(1): 49–55. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00243-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00243-9)
- Kovach WL. 2007. MVSP—A Multi-Variate Statistical Package for Windows, ver. 3.1. Kovach Computing Services, Pentraeth (Wales, United Kingdom), 137 pp.
- Kumar M, Kumari P, Trivedi N, Shukla MK, Gupta V, Reddy CRK, Jha B. 2011. Minerals, PUFAs and antioxidant properties of some tropical seaweeds from Saurashtra coast of India. *J. Appl. Phycol.* 23(5): 797–810. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9578-7>
- Kumari P, Bijo AJ, Mantri VA, Reddy CRK, Jha B. 2013. Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: An analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives. *Phytochemistry* 86: 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.015>

- Kumari P, Kumar M, Gupta V, Reddy CRK, Jha B. 2010. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chem.* 120(3): 749–757. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.006>
- Legendre P, Legendre L. 1998. *Numerical Ecology*. 2nd English Ed. Elsevier Science BV, Amsterdam (Netherlands), 853 pp.
- Nomura M, Kamogawa H, Susanto E, Kawagoe C, Yasui H, Saga N, Hosokawa M, Miyashita K. 2013. Seasonal variations of total lipids, fatty acid composition, and fucoxanthin contents of *Sargassum horneri* (Turner) and *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) from the northern seashore of Japan. *J. Appl. Phycol.* 25(4): 1159–1169. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9934-x>
- Pellegrini M, Valls R, Pellegrini L. 1997. Chimiotaxonomie et marqueurs chimiques dans les algues brunes. *Lagascalia* 19(1–2): 145–164.
- Pereira H, Barreira L, Figueiredo F, Custódio L, Vizetto-Duarte C, Polo C, Rešek E, Engelen A, Varela J. 2012. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Mar. Drugs* 10(9): 1920–1935. <https://doi.org/10.3390/md10091920>
- Piattelli M. 1990. Chemistry and taxonomy of Sicilian *Cystoseira* species. *New J. Chem.* 14: 777–782.
- Pohnert G, Boland W. 2002. The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. *Nat. Prod. Rep.* 19(1): 108–122. <https://doi.org/10.1039/a806888g>
- Prevot AF, Mordret FX. 1976. Utilisation des colonnes capillaires de verre pour l'analyse des corps gras par chromatographie en phase gazeuse. *Rev. Fr. Corps Gras.* 23(7/8): 409–423.
- Ragonese C, Tedone L, Beccaria M, Torre G, Cichello F, Cacciola F, Dugo P, Mondello L. 2014. Characterisation of lipid fraction of marine macroalgae by means of chromatography techniques coupled to mass spectrometry. *Food Chem.* 145: 932–940. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.130>
- Rosell KG, Srivastava LM. 1987. Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae. In: Ragan MA, Bird CJ (eds.), *Twelfth International Seaweed Symposium. Developments in Hydrobiology*, vol. 41. Springer, Dordrecht, (Netherlands), pp. 471–475. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-4057-4\\_69](https://doi.org/10.1007/978-94-009-4057-4_69)
- Schnitzler I, Pohnert G, Hay M, Boland W. 2001. Chemical defense of brown algae (*Dictyopteris* spp.) against the herbivorous amphipod *Ampithoe longimana*. *Oecologia* 126(4): 515–521. <https://doi.org/10.1007/s004420000546>
- Simopoulos AP. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56(8): 365–379. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00253-6)
- Simopoulos AP. 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* 233(6): 674–688. <https://doi.org/10.3181/0711-mr-311>
- Sokal RR, Michener CD. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 38: 1409–1438.
- Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338(8773): 985–992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M)
- Valls R, Piovetti L, Banaigst B, Praud A. 1993. Secondary metabolites from Morocco brown algae of the genus *Cystoseira*. *Phytochemistry* 32(4): 961–966. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85236-k](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85236-k)
- Vizetto-Duarte C, Pereira H, Bruno de Sousa C, Pilar-Rauter A, Albericio F, Custódio L, Barreira L, Varela J. 2015. Fatty acid profile of different species of algae of the *Cystoseira* genus: a nutraceutical perspective. *Nat. Prod. Res.* 29(13): 1264–1270. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.992343>
- Wood JD, Richardson RI, Nute GR, Fisher AV, Campo MM, Kasapidou E, Sheard PR, Enser M. 2004. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66(1): 21–32. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00022-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6)

Received May 2017,  
accepted April 2018.