

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présentée par
AIT SI SAID Chahinez
HADJALA Soumia
En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : **Chimie des produits Naturels**

Titre

**Analyse chimique des l'huiles essentielles du *Dictyota dichotoma* -
Détermination de l'activité antibactérienne**

Soutenu publiquement le 23 juillet 2019 devant le jury composé de :

A. Badis	Prof	Président	Université de Blida1
Z. Zeffouni	MAA	Examinatrice	Université de Blida1
M. El Hattab	Prof	Promoteur	Université de Blida1

Remerciements

Nous remercions le Dieu, notre créateur de nous avoir donné la santé et

La volonté D'entamer Et De terminer ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr. El. Hattab, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier tous les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous aient fait en acceptant de siéger à notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous aidés de près ou de loin, principalement à la doctorante Melle N. Riad et à tous le personnel technique de laboratoire de. Chimie des substances naturelles et de biomolécules, qui ont mis à notre disposition les conditions et matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents.

Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments,

Pour leur encouragement continu,

Leur aide Tout en espérant qu'ils touchent le fruit de leurs sacrifices

A ceux que j'aime beaucoup, et qui m'ont soutenue tout au long de ce projet : mon

mari Abd Racuf,

Mes sœurs et mes frères et toute ma famille.

Soumia

Dédicaces

Tout d'abord je rends grâce à Dieu pour m'avoir donné la force de réaliser ce travail.

A mes chers parents (AIT SI SAID Said et Zahra), à qui je dois ce que je suis.

Qu'ils trouvent dans ce travail le fruit de leurs sacrifices consentis pour mon éducation et l'expression de mon amour et pour ma gratitude pour la bienveillance dont ils m'ont toujours entourée.

Pour avoir été à mes cotés à tous instant. Qu'ils sachent que leur place dans mon cœur et mes pensées restera pour toujours.

A mes chers frères Nabil et Nassim pour leurs encouragements et leurs soutiens et l'amour qu'ils me réservent.

A mon cher promoteur Pr. El Hattab pour l'encouragement et l'aide qu'il ma toujours accordé à qui j'exprime ici mon profond respect....Merci.

Je dédie aussi à la doctorante Riad Nacera pour sa présence et son aide au laboratoire et à qui je souhaite plus de succès.

A tous mes amies intimes Madina, Hadjer et mon binôme Soumia.

A tous ceux que j'aime.

Merci !

AIT SI SAID Chahinez

Résumé

Le présent travail porte sur l'analyse chimique et la détermination de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma* récoltée au niveau de la corne d'or de Tipaza en Avril 2018.

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement moyen de 0.8%. L'analyse chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS) a permis d'identifier 56 composés en se basant sur les banques de données spectrales (Wiley 7n et NBS75K, nist 02, FFNSC), ainsi que sur les données de la littérature. La composition chimique de l'huile essentielle est caractérisée par la présence d'une fraction de sesquiterpènes, dont l'Albicanol est le produit majoritaire avec une teneur de l'ordre de (15,54 %), et une fraction de diterpènes représentée par, notamment, le Pachydictol A (2,8 %) et « Sanadaol » (1,9 %).

La détermination de l'activité antimicrobienne est réalisée par la méthode de l'antibiogramme (diffusion du disque) et par le procédé de dilution en milieu liquide vis-à-vis de huit microorganismes comprenant sept bactéries et une levure. Les résultats de ces deux tests ont montré que l'huile essentielle est caractérisée d'une large activité antimicrobienne contre la majorité des microorganismes testés.

Mots clés : *Dictyota dichotoma*, huile essentielle, CG/MS, activité antimicrobienne.

ملخص

يتعلق هذا العمل بالتحليل الكيميائي وتحديد نشاط الزيوت الأساسية للطحالب البنية ديكتيوتا ديكتوتوما ضد الميكروبات، التي تم جلبها على مستوى القرن الذهبي في تيبازة شهر افريل سنة 2018. يتم الحصول على الزيوت العطرية بالتقطير المائي بمرود إنتاج متوسط (0,8%) مكنت الدراسة الكيميائية للزيوت الأساسية في إجراء تحليل كروماتوغرافيا الغاز إلى جانب قياس الطيف بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي مقرونة بمطيافية CG / MS .

أتاحت دراسة التحليل تحديد 56 مركبًا استنادًا إلى بنوك البيانات الطيفية بالإضافة إلى بيانات الأدبيات. يتميز التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية بوجود جزء ضئيل من السيسيتيرين والذى يعد الألبيكانول هو المنتج الغالب بمعدل قدره (15,54%) وجزء من الديتيريين مثل باشيديكتيول (2,8%) وساندول (1,9%).

مكنت دراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية من خلال طريقة المضاد الحيوي (انتشار القرص) وطريقة هذين الاختبارين. التخفيف في الوسط السائل مقابل ثمانية كائنات حية دقيقة التي تضم سبع بكتيريا وخميرة. اظهرت نتائج أن الزيت العطري له نشاط مضاد للميكروبات قوي ضد غالبية الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية:

Dictyota dichotoma , زيوت اساسية،نشاط مضادات الميكروبات , CG/MS

Abstract

The present work concerns the chemical analysis and the determination of the antimicrobial activity of the essential oil of the brown alga *Dictyota dichotoma* obtained from the level of Tipaza's golden horn.

The essential oil was obtained by hydrodistillation with an average yield of 0.8%. The chemical study of the essential oil consists in performing a gas chromatography analysis coupled to mass spectrometry (GC / MS). The analysis made it possible to identify 56 compounds based on the spectral data banks (Wiley 7n and NBS75K, nist 02, FFNSC), as well as on the data of the literature. The chemical composition of the essential oil is characterized by the presence of a fraction of sesquiterpenes of which "Albicanol" is the majority product with a content of the order of (15,54%), and a fraction of diterpenes such as only "Pachydictol A" (2.8%), "Sanadaol" (1.9%).

The biological study consists in evaluating the antimicrobial activity of the essential oil by the antibiogram method (diffusion of the disc) and by the method of dilution in liquid medium towards eight microorganisms comprising seven bacteria and a yeast. The results of these two tests showed that the essential oil has a strong antimicrobial activity against the majority of tested microorganisms.

Key words: *Dictyota dichotoma*, essential oil, CG/MS, antimicrobial activity.

Liste des abréviations

ATCC :	American type culture collection
CG/SM:	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
COV :	Composés organiques volatils
<i>D.dichotoma</i> :	<i>Dictyota dichotoma</i>
DXP :	Désoxyxylulose-5-phosphate
GGPP :	Géranylgéranyl-pyrophosphate
GPP :	Géranyl pyrophosphate
HE :	Huile essentielle
IR (lit) :	Indice de rétention de littérature
IR (cal) :	Indice de rétention calculé
MVA :	Voie du mévalonate
2-IPP :	2-isopenténylpyrophosphate
3-IPP :	3-isopentényl pyrophosphate

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Différents diterpènes du groupe I à activités biologiques Différents diterpènes du groupe I à activités biologiques.....	16
Tableau 2 :	Diterpènes du groupe II à activités biologiques.....	17
Tableau 3 :	Diterpènes du groupe III à activités biologiques.....	18
Tableau 4 :	Souches bactériennes utilisées.....	27
Tableau 5 :	Gamme de différentes concentrations d'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	29
Tableau 6 :	Propriétés organoleptiques d'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	31
Tableau 7 :	Composition chimique de l'huile essentielle de l'algue brune <i>Dictyota dichotoma</i>	32
Tableau 8 :	<i>Diamètre d'inhibition obtenu pour les différents microorganismes testés</i>	38
Tableau 9 :	Les concentrations minimales inhibitrices d'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	39

Liste des figures

Figure 1 :	L'algue brune <i>Dictyota dichotoma</i>	7
Figure 2 :	Représentation des voies biosynthétiques de trois groupes des diterpènes isolés des espèces de <i>Dictyoteae</i>	9
Figure 3 :	Exemples des diterpènes du groupe I.....	10
Figure 4 :	Exemple des diterpenes du groupe II.....	11
Figure 5 :	Structures chimiques du groupe III.....	12
Figure 6	Squelettes de diterpenes du genre <i>Dictyota</i>	13
Figure 7 :	Composés organiques volatiles de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	16
Figure 8 :	Photo originale de l'algue brune <i>Dictyota dichotoma</i>	21
Figure 9 :	Montage d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	22
Figure 10 :	Extraction par solvant.....	23
Figure 11 :	Évaporation de solvant d'extraction	23
Figure 12 :	Protocole général d'extraction.....	24
Figure 13 :	Représentation de la méthode de diffusion de disque.....	26
Figure 14 :	Préparation du milieu de culture.....	29
Figure 15 :	La stérilisation de milieu.....	29
Figure 16 :	Solution de l'inoculum (préculture).....	29
Figure 17 :	Représentation graphique de la méthode de dilution de l'huile essentielle testée.....	30
Figure 18 :	Profil chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de <i>Dictyota Dichotmoa</i>	36
Figure 19 :	Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i> (partie A)	37
Figure 20 :	Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i> (partie B)	37
Figure 21 :	Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	44
Figure 22 :	Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Escherichia coli</i>	45
Figure 23 :	Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Enterococcus Faecium</i>	45

Figure 24 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Figure 25 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Micrococcus luteus</i>	46
Figure 26 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figure 27 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre <i>Enterobacter cloacae</i>	46

Sommaire

Remercîments	
Dédicace	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des planches	
Liste des figures	
Introduction générale	1
Partie bibliographique	
I.Généralités sur les algues.....	4
II.Espèces d'algues brunes du genre <i>Dictyota</i>	5
II_1 Systématique du genre <i>Dictyota</i>	5
II_2 Présentation de l'espèce <i>Dictyota dichotoma</i>	6
➤ Etude taxonomique et systématique de l'espèce	6
➤ Position systématique de l'espèce <i>Dictyota dichotoma</i>	6
➤ Morphologie de l'espèce	6
➤ Examen microscopique	7
➤ Reproduction – multiplication.....	7
III.Etude chimique et potentialités pharmacologiques des métabolites secondaires isolés des algues brunes du genre <i>Dictyota</i>	8
III_1-Etude chimique du genre <i>Dictyota</i>	8
III.1.1 Métabolites secondaires	8
III_1.2 Autres types de métabolites secondaires isolés du genre <i>Dictyota</i>	13
III.1.3-Fractions volatiles isolées des espèces du genre <i>Dictyota</i>	14
a. Généralités sur les Fractions volatiles des algues marines	14

b. Fractions volatiles de l'espèce <i>Dictyota dichotoma</i>	15
Potentialités pharmacologiques des espèces du genre <i>Dictyota</i>	16
Partie expérimentale	
I. Matériels et méthodologies expérimentale	21
I.1 Préparation de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	22
I.2 Analyse d'huile essentielle par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse « CG-SM »	25
I.3-Etude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle d'algues brune <i>Dictyota dichotoma</i>	26
I.3-1-Antibiogramme	26
I.3-1-1 Souches utilisées	26
I.3-1-2 Ensemencement	27
I.3-1-3 Déposition des disques et incubation	28
I.3-1-4 Lecture des résultats	30
I.3-2-Détermination de la Concentration minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	28
I.3-2-1 Repiquage des souches	28
I.3-2-2 Préparation et composition de milieux de culture	28
I.3-2-3 Préparation de l'inoculum (préculture)	29
I.3-2-4 Préparation des différentes concentrations d'huile essentielle	29
I.3-2-5 Lectures des résultats	30
Résultats et discussion	31
II.1- Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	31
II.2- Rendement en huile essentielle	31
II.3- Analyse de l'huile essentielle par CG/SM	32
II.4-Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle par la méthode de l'antibiogramme	38

II_5-Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de <i>Dictyota</i> <i>dichotoma</i>	39
Conclusion.....	42
Références Bibliographiques	48

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les environnements marins constituent une source riche et inestimable de nouveaux produits naturels à base de divers composés chimiques qui pourraient jouer un rôle dans la mise au point d'agents thérapeutiques nouveaux, potentiels et utiles [1] car le milieu marin comporte quatre mondes « vert », « rouge », « brun » et « bleue » [2].

Les algues occupent une place importante dans le milieu marin avec une diversité d'espèces appartenant à tous les niveaux évolutifs, largement distribuées dans les régions côtières de beaucoup de continents [3], capables de produire des substances dont l'action constitue dans certains cas, un élément de protection contre les prédateurs naturels ou colonisateurs. Les algues marines constituent un énorme réservoir de molécules naturelles potentiellement actives pouvant avoir des effets antimicrobiens sur plusieurs agents pathogènes et infections humaines [4]. Près de 20 000 substances naturelles marines ont été isolées à ce jour et plusieurs espèces de macroalgues se trouvant dans les océans ont déjà une valeur commerciale reconnue dans des domaines variés, tels que : l'alimentation, l'agriculture, la cosmétique, le textile, la papeterie, l'industrie pharmaceutique et la médecine [5].

Les algues brunes sont les plus riches en termes de métabolites secondaires issus du monde marin, elles englobent une grande partie de métabolites dotés d'activités biologiques, puisqu'on y trouve des substances bioactives de variété structurale remarquable, comme des antibiotiques, des antiviraux, des anticancéreux, etc. [6].

Les algues brunes du genre *Dictyota* sont très répandues dans le monde entier et sont communes le long des côtes de la mer Méditerranée [7]. Elles ont fait l'objet de plusieurs études chimiques, ce sont des espèces caractérisées par leur capacité à garder leur surface relativement exempte d'encrassement biologique, liés certainement à leur production d'un large éventail de composés bioactifs, notamment les diterpènes [8]. Ces dernières offrent un large spectre d'activités biologiques, notamment le pouvoir anti inflammatoire, anti microbien, anticancéreux, antiviral et antifongique, etc. [9]

Ce travail est subdivisé en deux parties :

- La première est un aperçu général sur les algues notamment les algues brunes du genre *Dictyota*.

- La deuxième est réservée à une étude expérimentale portant sur la composition chimique d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG /SM) ;
- La troisième est consacrée à l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*.

PARTIE I

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les algues

Les algues sont des organismes photosynthétiques pluricellulaires appartenant au groupe des végétaux inférieurs de différentes formes [10]. Elles comprennent 72500 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal [11].

Elles présentent un appareil végétatif relativement simple appelé (thalle) constitué d'une fronde, stipe et un crampon ou disque (sans racines, ni tige, ni feuilles) [12]. Le thalle présente une grande diversité de formes allant de lames simples à des structures plus complexes. La texture est également très variée : certaines algues sont gélatinées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse. Le nombre et le type de ramifications sont des critères importants pour identifier les algues. Ce sont des végétaux typiquement aquatiques qui jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre écologique. Ce sont donc des : « Thallophytes eucaryotes, chlorophylliens [13].

Sur le plan de la systématique, les algues sont divisées en 11 groupes. Nous resterons, pour des raisons de commodité, avec une classification en 4 groupes. Elles présentent différentes couleurs mais elles possèdent toutes un pigment vert ou la chlorophylle. Elles appartiennent aux eucaryotes (cellules à noyau vrai) uni ou pluricellulaire, on distingue : les algues brunes (*phéophycées*), algues vertes (*chlorophycées*) et les algues rouges (*rhodophycées*) sauf les algues bleues (*cyanophycées*) qui sont considérées comme organismes procaryotes appelées aussi cyanobactéries. Les algues présentent des tailles qui varient de micromètres (microalgues) à dizaines de mètres (macro algues) [7].

Aux niveaux taxonomiques des ordres et des familles chez les algues, il est avantageux de pouvoir joindre les indications de la chimie pour fonder la systématique sur des bases solides, car la morphologie se révèle souvent insuffisante ce qui mène à utiliser la composition chimique de celles-ci [14].

Les produits naturels issus des algues marines montrent un grand intérêt dans l'alimentation humaine (75% de l'exploitation totale) car elles sont constituées de fibres, minéraux, protéines, lipides et vitamines [15]. Aussi, les phycocolloïdes d'algues ont un extraordinaire pouvoir gélifiant et stabilisant ; on peut citer le cas des alginates extraits des algues brunes, des carraghénanes et agars extraits d'algues rouges [6]. Les algues produisent également des hydrocolloïdes très utilisés dans les industries agroalimentaire (produits laitiers, charcuterie, conserves de viande, ...), pharmaceutique (comprimés, pansements gastriques, éponges hémostatiques, ...etc.), et en cosmétologie dont la composition en acide alginique, les phlorotannins, les fucoïdanes et les fucoxanthines possèdent diverses propriétés, comme anti-

âge, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-rides [16]. Il existe aussi une grande variété d'algues (*Laminaria digitata*, *Fucus vesiculosus*, *Chondrus crispus*...) qui possèdent des applications médicales diverses comme la stimulation de l'organisme avec une meilleure résistance à la fatigue physique, intellectuelle et psychique et aussi des indications pour l'artériosclérose, l'arthrose, la déminéralisation ou encore l'hypothyroïdie [17].

II. Espèces d'algues brunes du genre *Dictyota*

Les *Phanérophytes* sont des algues brunes, pluricellulaires presque exclusivement marines, lipothymiques, parfois épiphytes et principalement présentes dans les eaux froides et tempérées [18]. Elles possèdent comme pigmentation de la chlorophylle a, c, la β -carotène, la fucoxanthine et plusieurs autres xanthophylles responsable à la coloration brune de ces organismes. La division *Phanérophyte* dont l'embranchement *phaeophycophytes* ne possède qu'une seule classe, *Phaeophyceae*, composée d'environ 300 genres et de plus de 2000 espèces [19].

II. 1 Systématique du genre *Dictyota*

Des études poussées ont montré que parmi les *Phaeophycées*, l'ordre des *Dictyotales* représente le troisième plus important parmi ces algues après les *Ectocarpales* et les *Fucales*. Il est constitué de 208 espèces [20], dont 207 appartiennent à la famille des *Dictyotaceae*. Celle-ci est divisée en deux tribus : les *Zonarieae* et les *Dictyoteae*. Le genre *Dictyota* est principalement représenté par plus de 40 espèces [21].

Dictyota dichotoma est l'espèce-type du genre *Dictyota*. Elle est très commune en Europe, que ce soit en mer Méditerranée ou le long de la façade Atlantique. Elle est également présente en mer Rouge, en mer Noire, au Japon et dans l'océan Indien, on la trouve aussi dans les zones où la salinité reste proche de celle de la mer. Elle est fixée sur des algues ou des substrats durs (rochers, rails, pieux, pochons...) [22].

Les différentes espèces de *Dictyota* se trouvent sur les cinq continents, principalement dans les eaux chaudes et tempérées. Parmi les algues appartenant au genre *Dictyota*, six espèces ont été identifiées en mer Méditerranée : *D. dichotoma*, *D. fasciola*, *D. linearis*, *D. ciliolata*, *D. mediterranea* et *D. spiralis*. Le long des côtes françaises, *D. dichotoma* est, sous ses différentes formes et variétés, l'espèce la plus courante. *D. fasciola*, *D. spiralis* et *D. linearis* ont également déjà été référencées sur le littoral français à l'inverse de *D. ciliolata* et *D. mediterranea*. *D. ciliolata* a été répertoriée uniquement en Espagne tandis que la présence de *D. mediterranea* a été relevée sur les côtes espagnoles, italiennes et grecques [23].

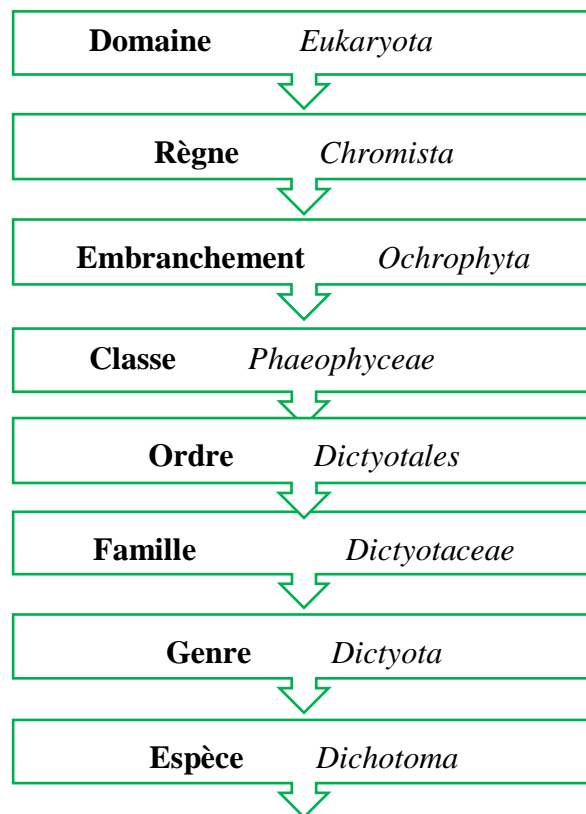
II. 2 Présentation de l'espèce *Dictyota dichotoma*

D. dichotoma est une algue brune photophile que l'on rencontre dans la zone infralittorale, elle serait développée dans la mer Méditerranée, sur les côtes atlantiques européennes aussi au nord de la Norvège [24], sur la côte ouest de l'Afrique [25] et sur la côte atlantique américaine [26]. De plus, ce taxon semble avoir une large répartition dans les océans Indien et Pacifique par exemple, Afrique de l'Est [27], Vietnam [28], Japon [29], Australie [30].

➤ Etude taxonomique et systématique de l'espèce

Dictyota dichotoma est appelé aussi l'algue fourchue comme un nom communs français. Elle admet des noms communs internationaux : Forkweed (GB), Cornicella (I), Alga bifurcada (E, P), *Dictyota* (E), Gemeine Gabelzunge (D), Gaffelwier (NL), elle est appelée scientifiquement *Ulva dichotoma* Hudson 176[31].

➤ Position systématique de l'espèce *Dictyota dichotoma*



➤ Morphologie de l'espèce

D. dichotoma présente un thalle aplati en lanières avec une ramification dichotome et des rameaux de même longueur à l'extrémité arrondie qui mesurent entre 5 et 10 mm de large (figure 1). Elle se fixe au substrat par des rhizoïdes qui se terminent par des disques adhésifs. Elle mesure généralement entre 10 et 25 cm de long, mais elle peut parfois atteindre 50 cm en été. Elle est souvent épiphyte à d'autres organismes tels que les algues ou les gorgones [32].



Figure 1 : L'algue brune *Dictyota dichotoma*

➤ Examen microscopique

L'examen au microscope permet de constater que l'extrémité de chaque ruban de *D. Dichotoma* est une cellule apicale en forme de dôme. La division transversale de cette cellule engendre la croissance en longueur et la division longitudinale engendre la ramification dichotomique [33].

➤ Reproduction et multiplication

Cette espèce est dioïque et se reproduit au travers d'un cycle isomorphe. La reproduction se situe entre le printemps et l'été. Les organes reproducteurs apparaissent sur le thalle, sous forme de petites taches sombres. Celui-ci se développe en un thalle ou une génération sporophytique portant à maturité des sporocystes qui libéreront des spores. Ces spores se développeront en un gamétophyte mâle ou femelle. La morphologie du gamétophyte et du sporophyte sont identiques, on parle de génération isomorphe. Le rythme des libérations de gamètes est lié à la révolution lunaire [34].

III. Etude chimique et potentialités pharmacologiques des métabolites secondaires isolés des algues brunes du genre *Dictyota*

La connaissance du métabolisme secondaire constitue un outil de choix à corrélérer avec les connaissances biologiques portant sur un organisme. Ainsi, la production métabolique d'un organisme peut varier au cours des saisons en fonction de différents types de facteurs biotiques et/ou abiotiques [35].

Les substances d'origine naturelle sont préférentiellement recherchées chez les organismes marins, spécialement dans les algues brunes qui ont la capacité de synthétiser des métabolites bioactifs [36]. On peut citer, les polysaccharides [37] et les terpénoïdes [38] qui sont considérés comme des molécules bioactives prometteuses dans la recherche de médicaments anticancéreux [39]. En effet, ces métabolites secondaires possèdent des activités biologiques différentes telles que l'activité antibactérienne [40], antivirale [41], antifongique [42], antiallergique [43], anticancéreuse [44] et des activités antioxydantes [45].

III.1 Etude chimique du genre *Dictyota*

Les algues de l'ordre des *Dictyotales* constituent des sources très prolifiques en métabolites secondaires, près de 350 molécules ont déjà été décrites à partir d'algues du genre *Dictyota*, notamment des diterpènes cycliques qui présentent plus d'une vingtaine de squelettes différentes, dont beaucoup sont propres à ces organismes (chimiotaxonomie) [46].

III.1.1 Métabolites secondaires isolés du genre *Dictyota*

Les monoterpènes réguliers dérivés du géranyl pyrophosphate (GPP) ne sont pas répandus parmi les algues marines.

Les terpénoïdes sont synthétisés par voie enzymatique à partir de la voie acétyl-CoA (voie du mévalonate (MVA)) et / ou du pyruvate (désoxyxylulose-5-phosphate (DXP)) via le précurseur 2-isopenténylpyrophosphate (2-IPP) et son isomère 3-isopentényl pyrophosphate (3-IPP).

Les diterpènes des espèces de *Dictyota* peuvent être divisées en trois groupes résultant de la première cyclisation de Diterpènes du précurseur le géranyl-géraniol (GGPP). Sur la base d'un schéma biogénétique révisé proposé par les auteurs présents dans une étude antérieure, les diterpènes ont été répartis en trois groupes (Planches I à III) [47].

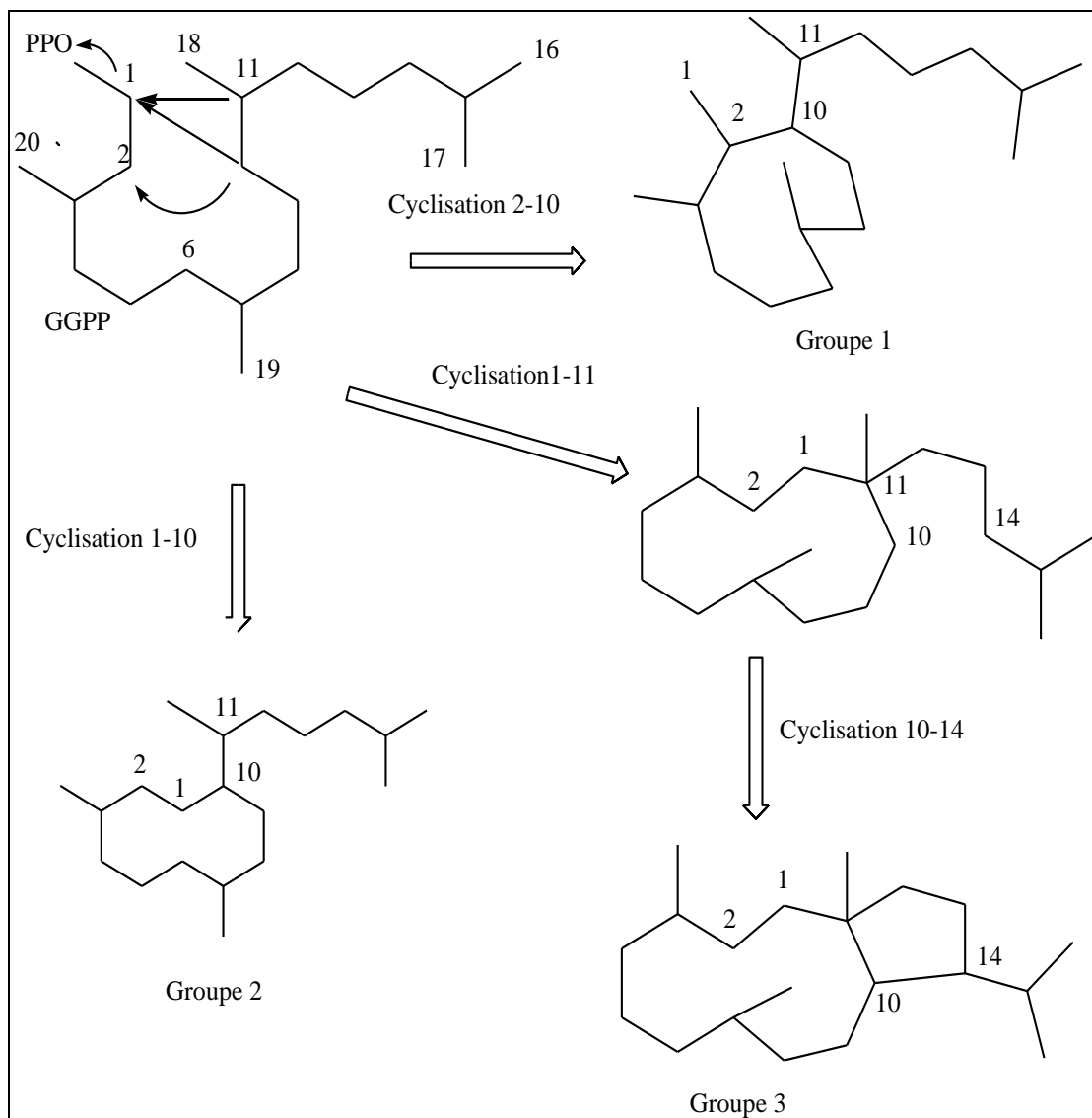
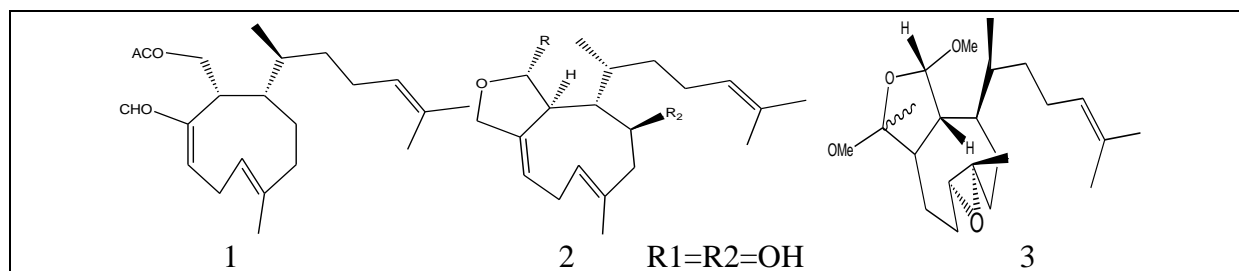
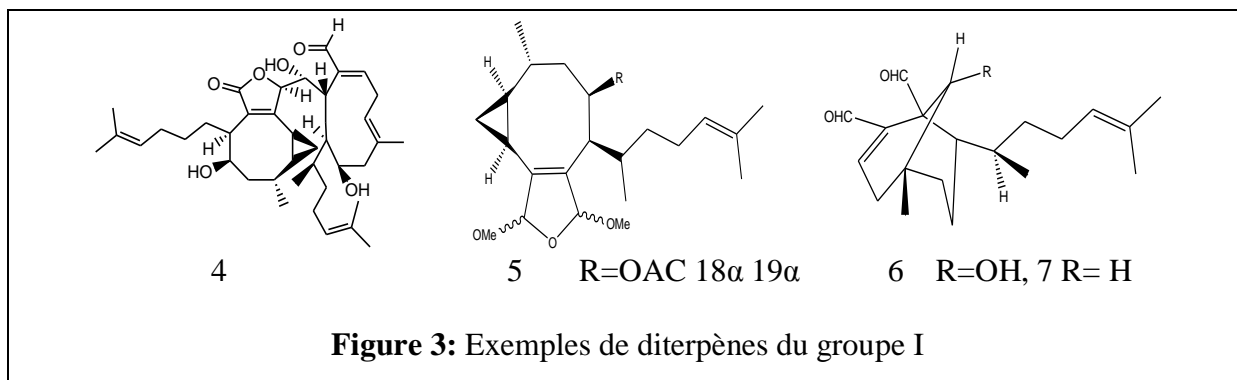


Figure 2: Représentation des voies biosynthétiques des trois groupes de diterpènes isolés des espèces de *Dictyoteae*.

Diterpènes du groupe I

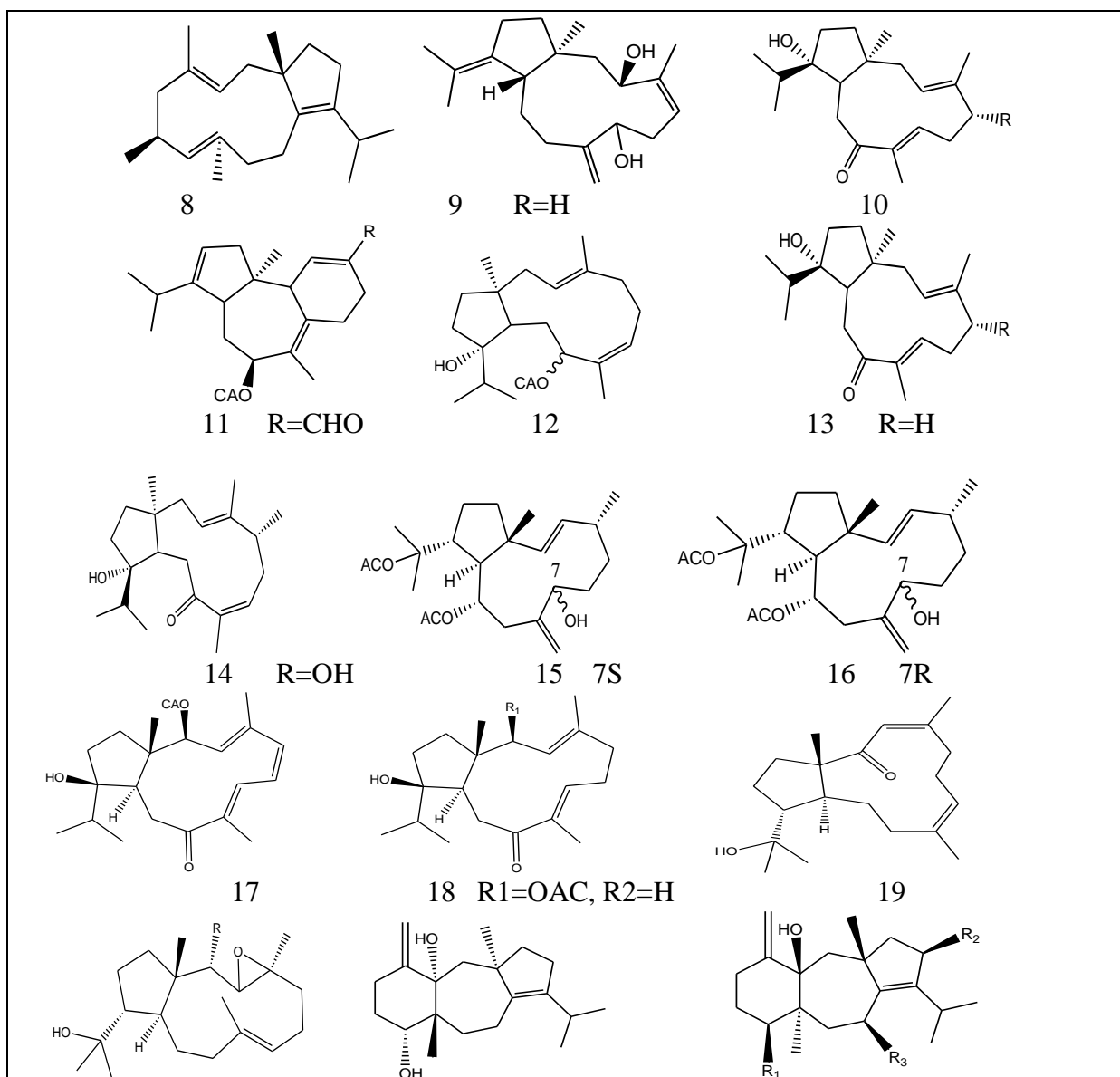
Les diterpènes de type xénicane sont les principaux diterpènes du groupe I. Ils subissent des réactions d'oxydation, d'époxydation, de condensation et autres pour donner lieu à des structures monocycliques, bicycliques et tricycliques.

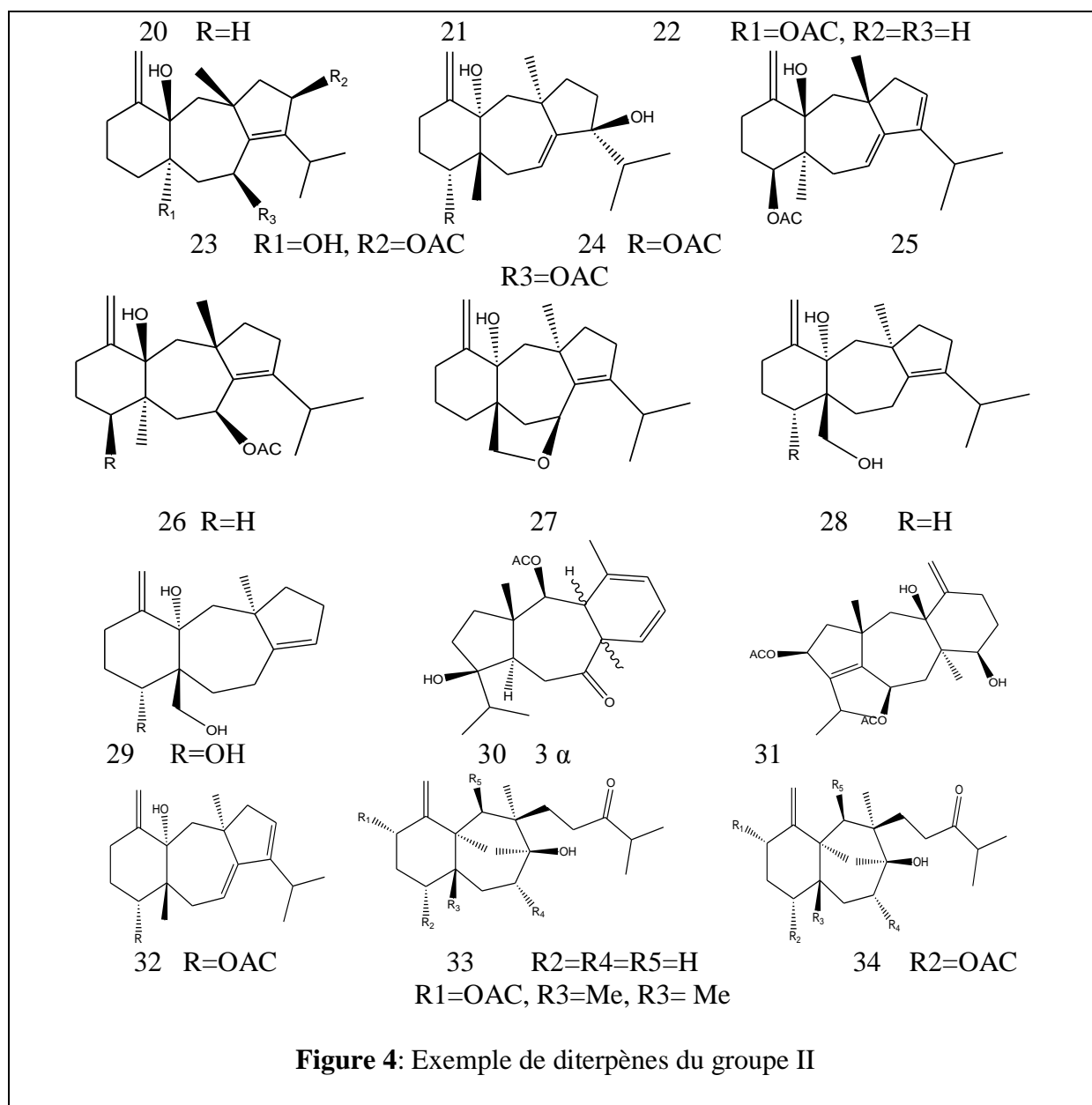




Diterpènes du groupe II

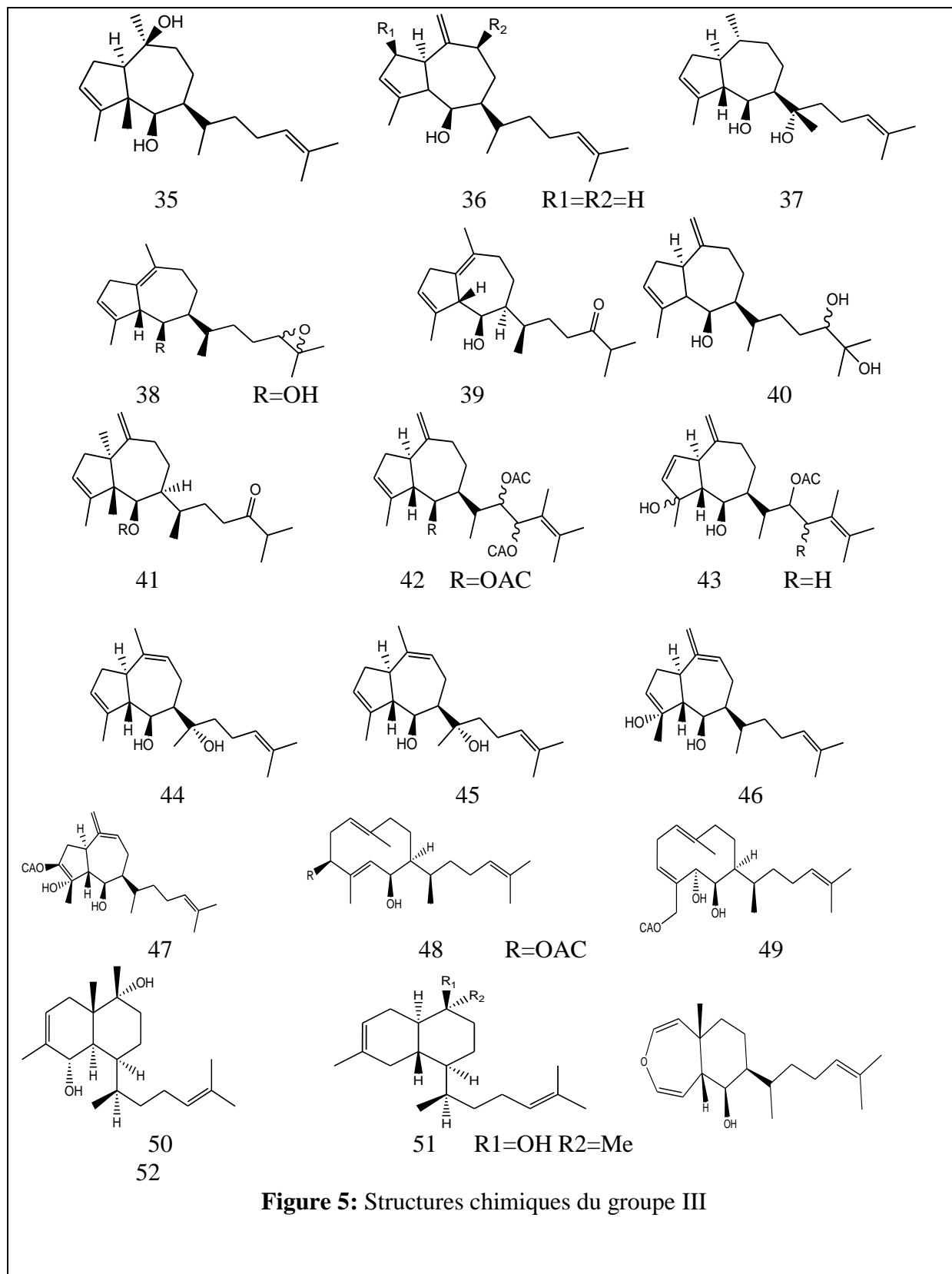
Les squelettes diterpènes de ce groupe comprennent le dolabellane, le dolastane, le sécodolastane ...etc. Au total, 120 diterpènes du groupe II, dont 69 dolabellanes, ont été isolés des espèces de *Dictyota* à la fin de 2017.





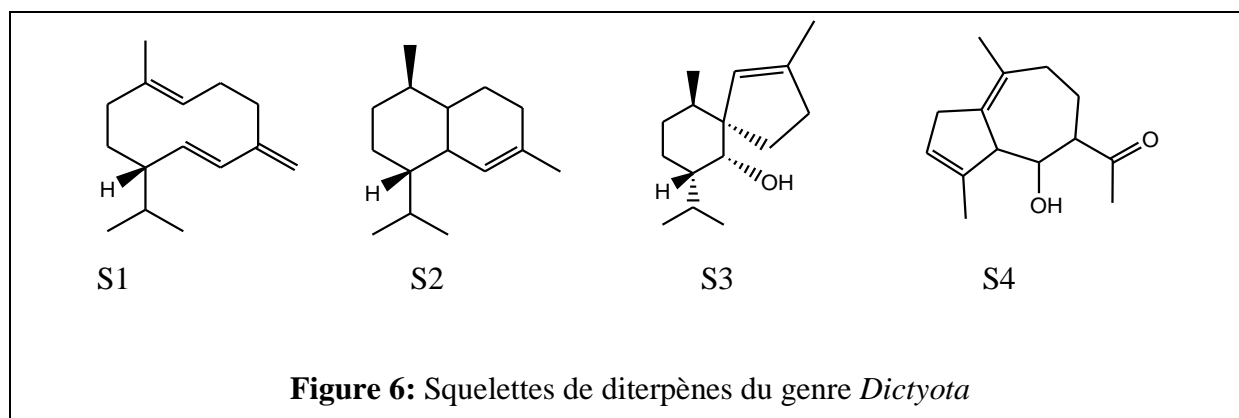
Diterpènes du groupe III

Les diterpènes du groupe **III** sont principalement des dérivés prénylés de squelettes sesquiterpéniques connus, y compris des guaiane-prénylés et des épi-élémanes prénylés.



III.1.2 Autres types de métabolites secondaires isolés du genre *Dictyota*

Outre les diterpènes cycliques, plusieurs sesquiterpènes cycliques ont également été isolés de *D. dichotoma* [48,49] même si les algues de la tribu des *Dictyoteae* sont particulièrement riches en diterpènes cycliques qui constituent la majorité des composés biosynthétisés.



Le composé S1 possède une structure cyclique correspondant au squelette dilophane non prénylé. Le composé S2 montre un squelette bicyclique qui découle directement du squelette précédent via une cyclisation. L'axénol S3 possède un atome de carbone spiranique, cette caractéristique structurale constitue un cas unique chez les algues du genre *Dictyota*. Ces trois composés (S1-S3) ont été préalablement isolés à partir de l'algue brune *Taonia atomaria*, qui appartient à la famille des *Dictyotaceae* [50]. Enfin, le composé S4 est un norsesquiterpène qui présente un squelette azulénique que l'on retrouve chez les dictyanes (groupe II). Ces hydrocarbures volatils ont en général des odeurs fortes qui contribuent à « l'odeur de plage ». D'autres types de molécules connus chez tous les algues brunes sont également rencontrés, on peut citer :

- le saringostérol et fucostérol (stérol majoritaire chez les algues brunes) [51].
- le β -carotène et la fucoxanthine, des caroténoïdes qui constituent généralement les deux principaux pigments chez les Phéophycées et plusieurs vitamines.
- les fucoïdanes ou les polyphénols présentant des activités antioxydantes [52]
- des hydrocarbures qui sont des phéromones jouant un rôle primordial au niveau de la reproduction et qui peuvent également intervenir dans la défense chimique [53].

III.1.3 Fractions volatiles isolées des espèces du genre *Dictyota*

III.1.3 .1 Généralités sur les fractions volatiles des algues marines

Dans les écosystèmes aquatiques, les algues peuvent libérer un large spectre de composés organiques volatiles (COV), notamment des terpénoïdes, des furannes, des composés sulfuriques, des alcanes, des alcènes, des alcools, des aldéhydes, des cétones et des esters [54], qui sont influencés par des facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, les conditions nutritionnelles et les stress abiotiques [55]. Ces composés jouent un rôle important dans les écosystèmes marins, y compris dans la communication chimique. Des composés volatils agissent comme des phéromones sexuelles, dans la défense contre les herbivores chimiques et des inhibiteurs de bactéries et de champignons. Certains composés volatils présents dans les algues brunes telles que l'ammoniac, la méthylamine, et la triméthylamine sont générées par des microorganismes ou par des réactions chimiques. Des procédés tels que la torréfaction sont responsables de la formation de composés volatils. D'autres composés volatils peuvent agir comme une protection pour les algues marines, par exemple, le holohedral diterpène, qui défend contre les algues et les poissons herbivores invertébrés [56]. Les composés volatils de certaines algues comestibles ont été analysés par des systèmes CG-SM, il a été montré que les composés volatils dépendent de l'espèce, de l'origine géographique, la méthode de traitement et les conditions environnementales. En ce qui concerne l'espèce, certaines études ont révélé que les algues brunes produisent des composés soufrés de C11, les hydrocarbures et les diterpènes. C'est ce qui explique les nombreuses études réalisées dans le but de déterminer les substances volatiles à l'aide de différentes méthodes chimiques d'analyse [57].

III.1.3 .2 Fractions volatiles de l'espèce *Dictyota dichotoma*

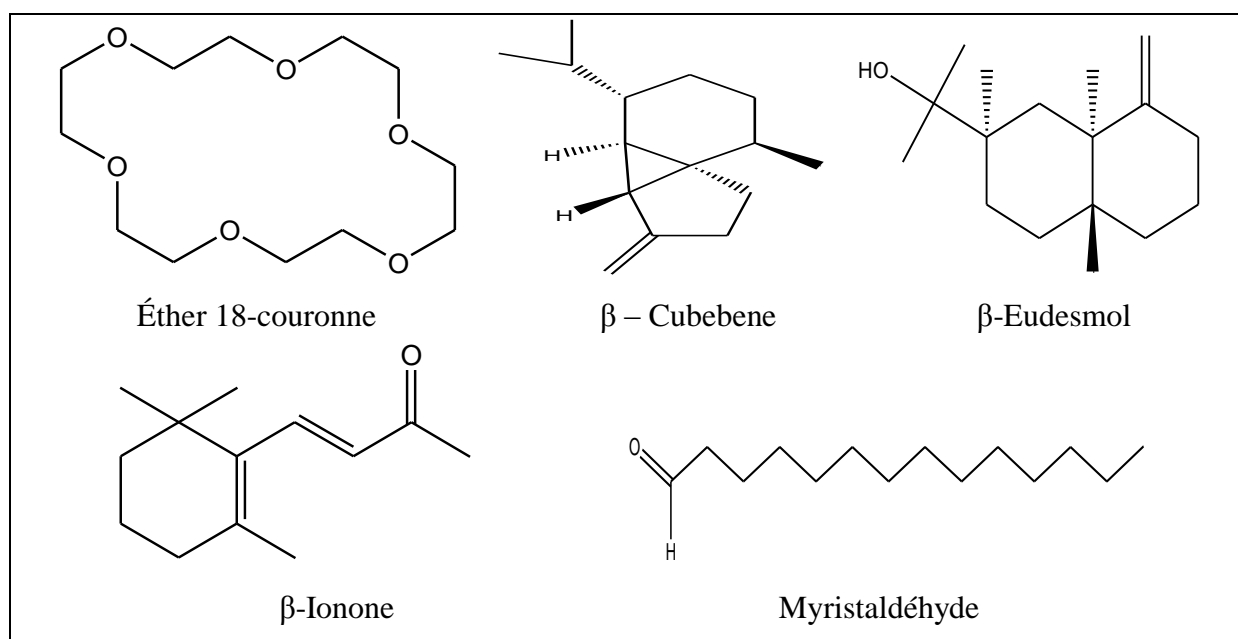
a. Composés volatils de l'espèce de tête (Headspace) de *Dictyota dichotoma*

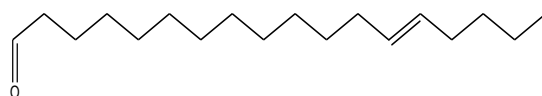
Les composés organiques volatils (COV) sont des composés à petite molécule ayant une hydrophilie faible à modérée [58] et une pression de vapeur élevée. Ils peuvent traverser les membranes cellulaires pour être libérés librement dans l'atmosphère [59]. Les COV agissent comme un langage utilisé par les plantes dans la communication et l'interaction avec le milieu ambiant [59], tel qu'un système de défense [59,60] ou pour permettre la reproduction [61]. On sait également que certains groupes de composés identifiés chez des espèces d'algues jouent un rôle important dans les relations entre les plantes supérieures et les insectes [61].

Les principaux composés organiques volatils identifiés dans l'espace de tête de l'algue *D. dichotoma* sont des sesquiterpènes. Le germacrène D est considéré comme produit majoritaire dans *D. Dichotoma* (28%) [48]. Le bicyclogermacène est également présent et aussi le bicyclo sesquiphellandrene. Les sesquiterpènes de type cadinényle sont abondants : δ -cadinène, γ -cadinène, β -cadinène et trans-cadina-1,4-diène. L'épizonarène est également rencontré, il peut être formé directement à partir du germacrène D ou d'autres cadinènes intermédiaires. Il a été proposé que la cyclisation du germacrène D ou de son isomère endocyclique à double liaison puisse entraîner la formation de squelettes de bourbonène et de copaène. Le β -bourbonène et l' α -copaène ont été aussi identifiés. (α muurolène, γ -muurolène et α -amorphène en petites quantités [51]).

b. Composés organiques volatiles de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

Des études antérieures sur l'huile essentielle de l'algue brune *D. dichotoma* ont été effectuées [62], différents groupes chimiques de 12 composés volatils ont été identifiés par CG/SM. Il a été noté la présence des hydrocarbures (n-Pentadécane), les couronne éther (éther 18-couronne), les terpènes (β - Cubebene, β -Eudesmol, β -Ionone, Dactylool, Pachydictol A), Aldéhydes (Myristaldéhyde, hexadécanal, (Z) -13-octadécénal) ; squelette naphthalénique (mélange de 1-isopropyl-4,6-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène et de 4-isopropyl-1,6-diméthyl) 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène) et de hexaéthylène glycol. La planche suivante regroupe quelques composés de l'huile essentielle de *D.dichotoma*.





13-octadécénal

Figure 7: composés organiques volatiles de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

III.2 Potentialités pharmacologiques des espèces du genre *Dictyota*

L'étude des algues brunes du genre *Dictyota* augmente en raison de son importance économique émergente en tant que source de diterpènes [38] et d'acides gras polyinsaturés [63]. Elle montre également un potentiel de bio sorption des métaux lourds [63]. Les diterpènes issus de *Dictyota* ont également été identifiés comme options thérapeutiques potentielles pour différentes pathologies comme [64] le VIH-1 et HSV-1, pour le traitement antiviral [65], anti-leishmania [66] et activité antipaludique [67] et leur rôle d'anticoagulants [68]. Des extraits bruts de *Dictyota* se sont révélés efficaces contre les cellules cancéreuses [69]. D'autres métabolites de *Dictyota*, tels que les fucoïdanes ou les polyphénols, ont également une activité antivirale démontrée, antitumorale [70], anti-nociceptive et anti-inflammatoire [71].

Les espèces d'algues brunes appartenant à la famille des *Dictyotaceae* se sont révélées être une source riche de diterpénoïdes biologiquement actifs appartenant à des classes chimiques très variées. *Dictyota dichotoma* représente la plus grande part des diterpènes, au moins 77 composés appartenant à 15 classes ont été décrits [72].

- **Diterpènes du groupe I**

Quarante diterpènes de type xénicane ont été isolés parmi les métabolites du genre *Dictyota* et la plupart d'entre eux ont montré des activités biologiques intéressantes : antivirales, anti-inflammatoires, cytotoxiques, antifongiques et autres. Les diterpènes de type crenulidanes, dichotomanes, crenulanes (tableau1)

Tableau 1 : Différents diterpènes du groupe I à activités biologiques

Métabolites II (Diterpènes)	Sources	Activités	Réf
Acetyldictyolal 'Diterpènes monocycliques' (1)	<i>D. dichotoma</i> , baie d'Oshoro, Hokkaido	Cytotoxicité élevée ; Activité antifongique faible	[73,24]

'Diterpènes bicycliques'(2)	<i>D. plectens</i> , côte de Xuwen, Chine	Activité antivirale ; Activité anti-inflammatoire faible	[74]
Dictyoepoxide 'Diterpènes tricycliques'(3)	<i>Dictyota</i> sp., Bahia de Los Angeles	Activité pesticides importante	[75]
Dictyotadimer A 'Bis-diterpene'(4)	<i>Dictyota</i> sp., Mediterranean Sea	Nd	[76]
Crenulacetal C 'Crenulidanes'(5)	<i>D. dichotoma</i> , Nagahamabeach, Ehime	Activité pesticides importante	[77]
(6) 'Dichotomanes'	<i>D. menstrualis</i> <i>D. pfaffii</i> , Brazil	Activité anti-VIH-1 significative ; Inhibiteur de thrombine ; Effet antifédant; Inhibiteur contre les mauvaises herbes de pâturage	[70,78-81]
Sanadaol 'Crenulanes' (7)	<i>D. dichotoma</i>	Forte activité algicide	[82]

• Diterpènes du groupe II

La plupart des diterpènes de ce groupe présentent des propriétés biologiques actives (Tableau 2).

Tableau 2 : Diterpènes du groupe II à activités biologiques

Métabolites II (Diterpènes)	Sources	Activités	Réf
Dolabellatrienol (8)	<i>D. dichotoma</i> var. <i>Implexa</i> , Mer Rouge	Cytotoxicité modérée	[83]
(9,10)	Île magnétique	Nd	[84-85]
(11,12,13,14)	Lièvre, océan indien. <i>D. bartayresiana</i>	Nd	[86]
Dolabelladienols A - B (15,16)	Atol das Rocas, nord-est du Brésil, <i>D. pfaffii</i>	Forte activité antivirale	[87]
(17,18)	<i>D. plectens</i> , mer de Chine méridionale	Activité antivirale spéciale	[88]
(19,20)	<i>Dictyota</i> sp, lagune du Brus	Activité antifouling	[89]

Amijiol (21) Acétate d'Amijiol (22, 23)	<i>D. dichotoma</i> var. Implexa, Mer Rouge	Activité antitumorale ; Activité anti-oxydante	[89]
24	<i>D. cervicornis</i> Brésil	Forte activité antipaludique; Antifouling	[20, 90- 91]
(25,26)	Les îles vierges. <i>D. divaricata</i>	Nd	[92]
(27) Dictinol (28) Dictindiol (29) Dictintriol (30)	Bulegi, mer d'Oman. <i>D. indica</i>	Nd	[93]
(31,32)	Mer de Chine méridionale. <i>D.</i> <i>plectens</i>	Activité anti-inflammatoire faible	[88]
(33)	Collections mixtes de <i>D. linearis</i> et <i>D. divaricata</i> , îles de la baie de Honduras	Forte activité inhibitrice réversible	[94]
Dichoténol B (34) "Dichoténols"	<i>D. dichotoma</i>	Activité antibactérienne et antifongique importante	[95]

- **Diterpènes du groupe III**

La plupart des composés montrent des propriétés biologiques : cytotoxiques, antitumorales, antivirales, antifouling et antioxydantes.

Tableau 3 : Diterpènes du groupe III à activités biologiques

Métabolites (Diterpènes)	Sources	Activités	Réf
Dictyol C (35) 'Dictyols'	<i>D. divaricata</i> , région de la grande barrière de corail, <i>D. dentata</i> , la plage des baby-boomers, Barbade <i>D. dichotoma</i> var. mer tyrrhénienne <i>D. dichotoma</i> , Patagonie	Protection contre les dommages à l'ADN ; Activité antitumorale ; Activité antioxydante ; Activité antifouling	[83,96-99]
Pachydictyol A (36) 'Dictyoxides'	<i>D. dichotoma</i> var. Implexa, nord de la mer Adriatique	Activité antithrombotique puissante ; Cytotoxicité	[100,83,96, 97,9]

	<i>D. menstrualis</i> , Brésil <i>D. dichotoma</i> , Patagonie <i>D. caribaea</i> <i>D. ciliolata</i> , côte caraïbe, péninsule du Yucatan <i>D. dichotoma</i> var. <i>implexa</i> , mer rouge	modérée ; Activité antifouling puissante	
Pachydictyol C (37) 'Pachydictyols'	<i>D. dichotoma</i> , mer Rouge, Égypte	Cytotoxicité faible	[69]
Acutilols A et B (38 ,39) 'Acutilols'	<i>D. acutiloba</i> , Tunnels Beach, Hawaï	Dissuasion alimentaire puissante	[101,102]
Dictytriol (40) 'Dictyroles'	<i>D. dichotoma</i> , Japon	Nd	[103]
Dictyone (41,42,43) 'Dictyones'	<i>D. dichotoma</i> , mer Rouge, Egypte	Cytotoxicité modérée	[104 ,102]
	<i>D. volubilis</i> , île magnétique, Queensland, Australie	Nd	[105]
9 α -hydroxydictyol (44) d'isodictyol E (45)	<i>D. plectens</i> , mer de Chine méridionale	Activité antivirale	[88]
Dictyotadiol (46)	Patagonie, <i>D.</i> <i>dichotoma</i>	Activité antifouling faible	[96]
(47)	<i>Dictyota</i> spp., Mer Méditerranée	Nd	[94]
3 β Acétoxydilophol (48) Acétoxypachydiol (49) 'Germacrane prénylée'	<i>D. plectens</i> , mer de Chine méridionale faible	activité antivirale	[88]
Dictyotines A-C (50,51) 'Cadinane- prénylé'	<i>D. dichotoma</i>	Nd	[93]
Dictyoxépine (52) 'Epi-élémane-prénylé'	<i>D. volubilis</i>	Nd	[9]

PARTIE II

Étude expérimentale

Partie expérimentale

Le travail expérimental porte sur l'étude chimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma*.

Cette étude est scindée en quatre parties :

- Préparation de l'huile essentielle ;
- Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ;
- Détermination de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle ;
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma*.

I. Matériels et méthodologies expérimentale

L'espèce *Dictyota dichotoma* appartient à l'ordre des Dictyotales de l'embranchement des Phaeophycées (algues brunes). *Dictyota* est le genre représentatif de la famille des dictyotacées.

Récolte de l'espèce

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre travail est l'algue brune *Dictyota dichotoma*, elle a été identifiée par le Professeur H. Seridi au niveau du laboratoire Houari Boumediène de Biologie marine de l'Université des Sciences et de la Technologie H, B.

L'algue a été récoltée au niveau du complexe la Corne d'Or (36° 37' 32, 91 N, 2° 24' 20.61 E) de la wilaya de Tipaza (Algérie).



Figure 8 : Photo originale de l'algue brune *Dictyota dichotoma*.

I.1. Préparation de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

L'algue brune *Dictyota dichotoma* a été triée manuellement pour éliminer les épiphytes et autres organismes susceptibles de contaminer la nature chimique des huiles essentielles. Ensuite elle est séchée pendant une semaine dans un lieu sec et aéré. L'algue est ensuite coupée en petits morceaux. L'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* est préparée par hydrodistillation. La méthode consiste à un entraînement des substances volatiles contenues dans l'algue par la vapeur d'eau. Les vapeurs arrivent dans le réfrigérant refroidi à une température de l'ordre de 15/°C. Elles se condensent puis se liquéfient dans l'erenmeyer où l'hydrolat est récupéré.

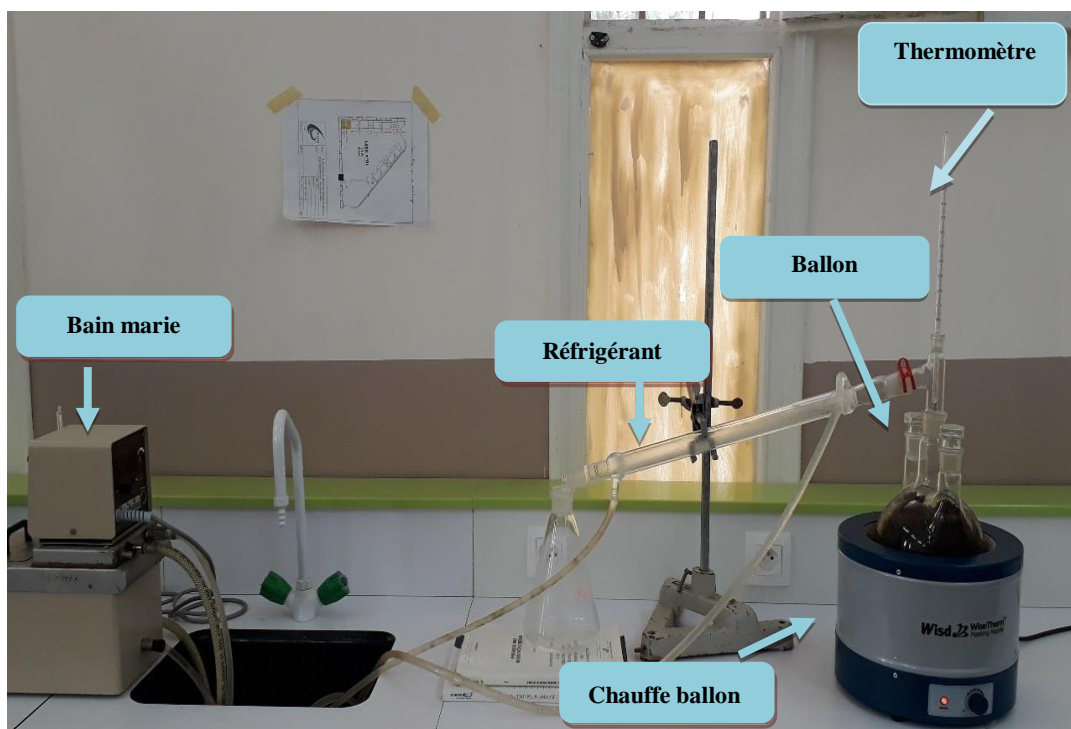


Figure 9 : Montage d'extraction de l'huile essentielle par Hydrodistillation.

- **Principe de l'hydrodistillation**

L'hydrolat est versé dans une ampoule à décanter à laquelle nous rajoutons un volume d'éther diéthylique. Après agitation et dégazage, on laisse décanter. Toute l'huile essentielle contenue dans la phase aqueuse passe dans la phase organique puisque l'huile essentielle est très soluble dans l'éther diéthylique. Il se forme deux phases, la phase supérieure organique contenant l'huile essentielle de l'algue et l'éther diéthylique, quant à la phase inférieure aqueuse contenant de l'eau et les produits solubles dans l'eau. Ainsi, on introduit dans un premier

temps la phase aqueuse est gardé dans un b cher, qui subit une autre extraction, tandis que la phase organique dans un autre b cher. Bien que l'eau soit non miscible avec l'éther diéthylique. Il y a toujours des traces d'eau dans l'éther diéthylique. Pour éliminer cette eau, nous avons utilisé des grains de sulfate de magnésium anhydre (poudre). Une fois la poudre introduite dans la phase organique, il ne reste plus qu'à filtrer le sulfate de magnésium.



Figure 10 : Extraction par solvant.

Le solvant d'extraction est évaporé à la pression normale afin de récupérer l'huile essentielle.



Figure 11 :  vaporation de solvant d'extraction.

L'huile obtenue est pesée, afin d'estimer le rendement, ensuite stockée à l'obscurité à 4 C pour des analyses ultérieures.

Le protocole général d'extraction utilisé est présenté sur la figure suivante

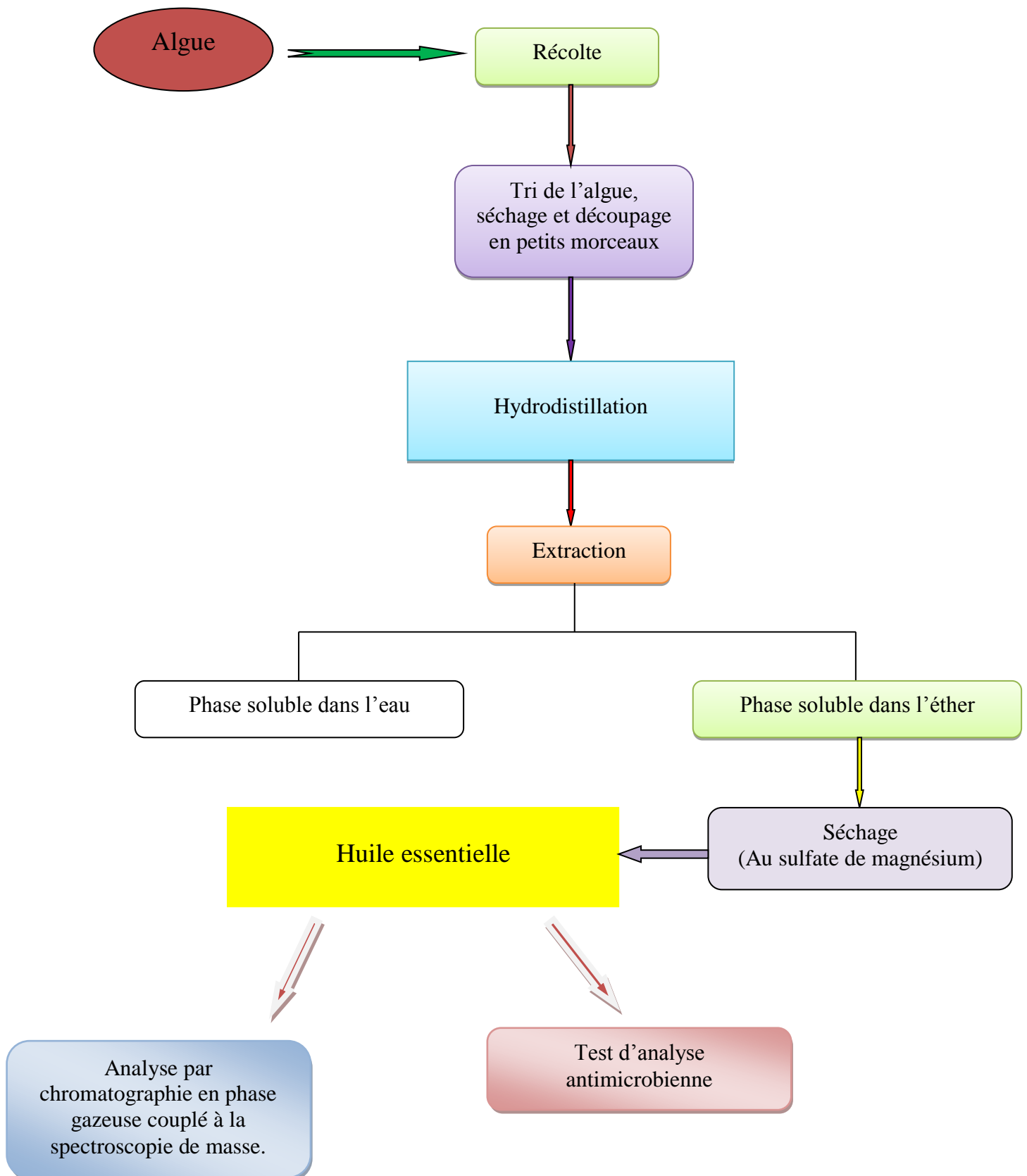


Figure 12. Protocole général d'extraction

I.2 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse « CG-SM »

1-Conditions opératoires

L'analyse est effectuée sur un chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse QP 2010 ultra EI SHIMADZU, dans les conditions suivantes :

2- Injection

T injecteur = 280 °C.

Mode d'injection : split / splittess.

Volume injecté = 0.5 µl.

3-Colonne

SLB-5ms (30 m x 0.25 mm 'Diamètre interne' x 0.25 µm 'épaisseur du film').

T four : 50 ° C jusqu'à 300 ° C à 3 ° C / min.

Débit du gaz vecteur = 5 ml/min.

4-Détecteur de masse

Mode d'analyse : Scan (40 à 550 amu).

T interface = 280 °C.

Type d'ionisation = ionisation électronique (IE) à 70 eV.

Type d'analyseur : Quadripôle.

T Quadripôle = 250 °C.

T Source = 280°C

I.3 Etude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle d'algue brune

Dictyota dichotma

I.3.1Antibiogramme (ATB)

Les activités antimicrobiennes d'huile essentielle été déterminé par la technique de diffusion sur milieu solide (gélose Muller-Hinton). Nous avons adapté un protocole opératoire développée dans une étude ultérieure [106].

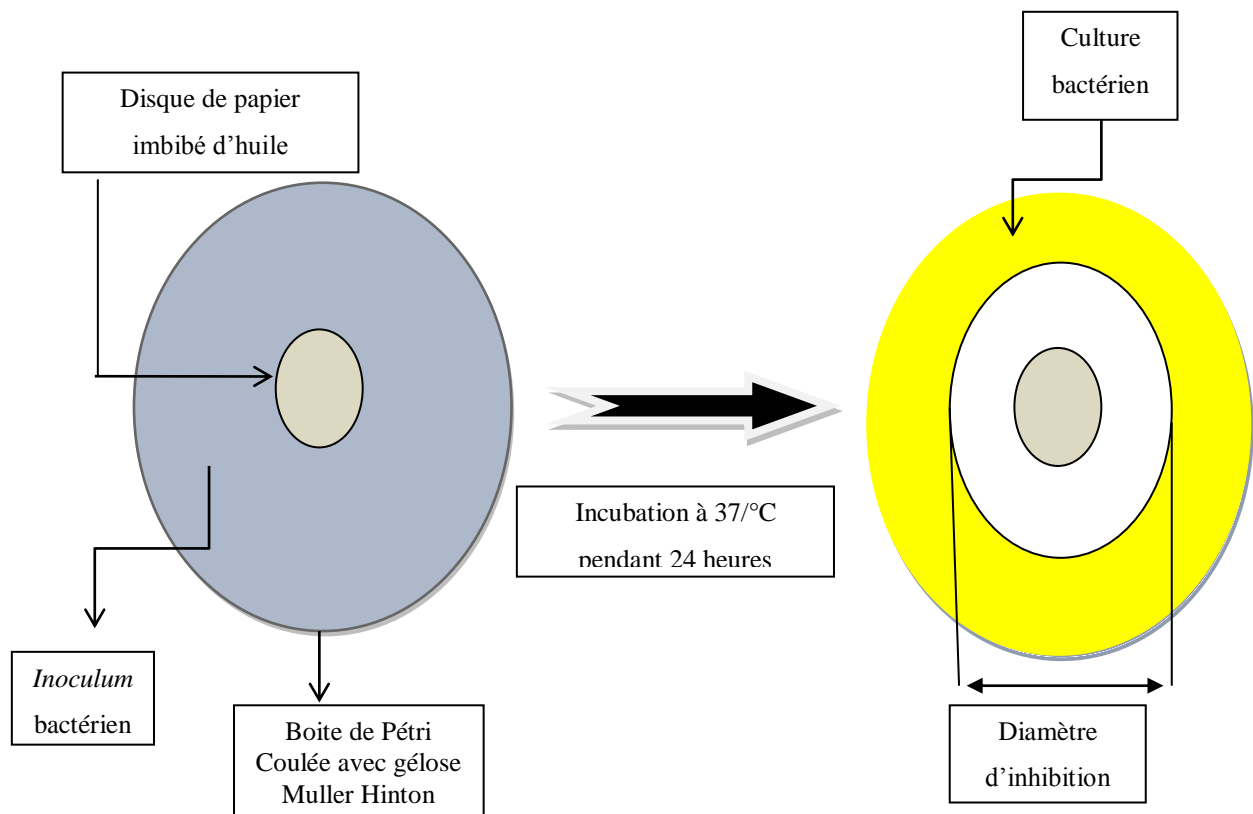


Figure 13 : Représentation de la méthode de diffusion de disque.

I.3.1.1 Souches utilisées

Les germes qui ont fait l'objet des tests antimicrobiens sont des souches ATCC qui englobent : des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*), des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*), et une levure (*Candida albicans*) (tableau 4).

Tableau 4 : Souches microbiennes utilisées.

Souches	Références
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25921
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 51559
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 44300
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	ATCC 23308

I.3.1.2 Préparation du milieu de culture

La préparation de milieu se fait selon les étapes suivantes :

- Faire fondre les milieux gélosés solides (Muller-Hinton) dans l'eau distillée sur une plaque chauffante thermostatée à 100°C.
- Couler aseptiquement les milieux de culture dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre à raison de 15mL par boîte,
- Laisser refroidir et solidifier sur la paille.

I.3.1.3 Ensemencement

Le principe d'ensemencement consiste à tremper un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne à une densité optique D.O= 0.8, l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne de la bouteille afin de la décharger au maximum. Ensuite, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée Mueller-Hinton de haut en bas. Les boîtes de

Pétri sont ensuite séchées pendant quelques minutes à température ambiante. Les couvercles des boîtes doivent être maintenus fermés.

I.3.1.4 Déposition des disques et incubation

Le disque imprégné dans l'huile essentielle pure de *Dictyota dichotoma*, légèrement séché, est placé dans le centre du /milieu Muller-Hinton/ préalablement inoculé avec la souche dans une boîte de Pétri, Les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 h à 37/°C pour les bactéries et à 30/°C pendant 48 h pour les levures.

I.3.1.5 Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en mm sur le fond de la boîte fermée.

I.3.2 Détermination de la Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

La concentration minimale inhibitrice ou CMI est la plus petite concentration de l'agent bactérien ayant l'habilité d'inhiber la croissance des bactéries testées. Cependant. La détermination des CMI d'huile essentielle d'algue étudiée vis-à-vis des sept souches testées précédemment est réalisée selon la technique de dilution dans des tubes à essai stériles, tel que recommandé par le comité national pour les normes de laboratoire cliniques [107].

I.3.2.1 Repiquage des souches

Les souches bactériennes utilisées ont étéensemencées à l'aide d'une anse en platine sur des boîtes de Pétri de 90 mm contenant respectivement le milieu Mueller-Hinton solide. Ces boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h.

I.3.2.2 Préparation et composition de milieux de culture

La plupart des bactéries peuvent être cultivées sur des milieux artificiels liquides ou solides. Les conditions permettant la croissance varient beaucoup selon la nature des bactéries. Il n'existe pas une condition de culture standard permettant la croissance de toutes les bactéries que l'on peut rencontrer en pathologie. Le milieu de culture utilisé est International Streptomyces Project (ISP2) liquide (4g de glucose, 10 g d'extrait de malt, et 4 g de l'extrait de levure / 1000 ml d'eau distillée), Il est préconisé par Shirling et Gottlieb [108].



Figure 14 : Préparation du milieu de culture.



Figure 15 : la stérilisation du milieu.

La stérilisation du milieu est réalisée à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min.

I.3.2.3 Préparation de la préculture

A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes sont raclées et déchargées dans 30 ml de milieu de culture stérile, puis agitées quelques minutes et incubées dans un bain marie pendant 24 h à 37 °C.



Figure 16 : Solution du préculture.

I.3.2.4 Préparation des concentrations d'huile essentielle

Afin de tester l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* ; une série de dilutions contient 10 tubes avec le milieu de culture liquide ont été préparé, le premier tube contenant 4 ml et les 9 autres 2ml de la solution de culture, une série de dilution a été réalisée pour l'huile essentielle testée, la gamme de concentration est indiqué dans le tableau :

Tableau 5 : Gamme de concentrations d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*.

N de tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
La concentration µl/ml	15	7.5	3.75	1.88	0.94	0.47	0.23	0.12	0.06	Témoin

Enfin, 100 μl de culture est ajoutée à deux ml des différentes concentrations ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures.

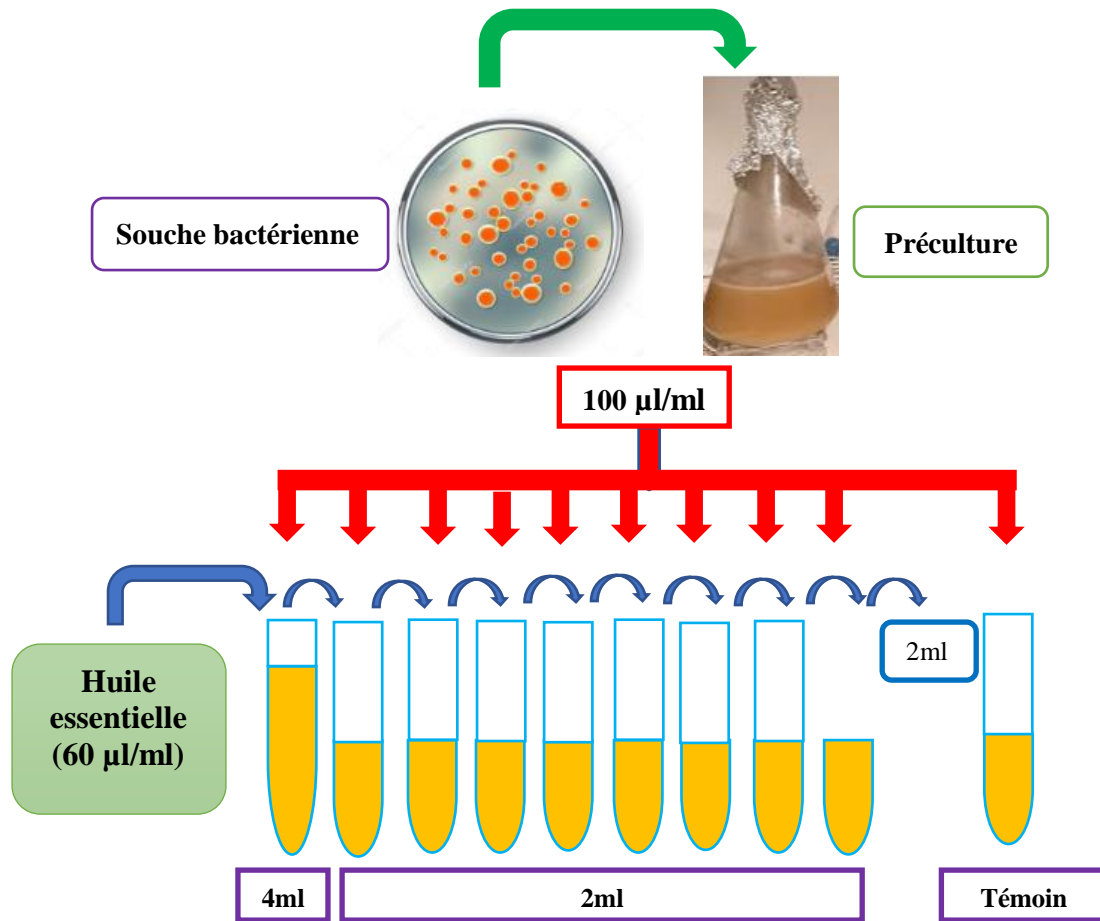


Figure 17 : Représentation graphique de la méthode de dilution de l'huile essentielle testée.

I.3.2.5 Lectures des résultats

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice sont déterminés directement à partir des tubes pour lesquels il n'y a pas de croissance visible après 24 h d'incubation.

II. Résultats et discussion

II.1 Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

Dans cette étude, trois critères ont été considérés pour évaluer la qualité organoleptique d'huile essentielle de l'espèce *Dictyota dichotoma* : l'aspect, la couleur, et l'odeur.

Tableau 6 : Propriétés organoleptiques d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

Caractéristiques organoleptiques	Huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>
Aspect	Liquide
Couleur	Jaune
Odeur	Caractéristique

II.2 Rendement en huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

L'extraction d'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma* après 3h d'hydrodistillation suivie par 3 extractions liquide/liquide successives nous a permis d'estimer le rendement en huile essentielle qui est défini comme étant le rapport de la masse d'huile obtenue sur la masse de l'algue sèche, exprimé en pourcentage (%). Il est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (m_{\text{huile essentielle}} / m_{\text{algue sèche}}) \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle (%)

m_{huile essentielle} : Masse de l'extrait en grammes

m_{algue sèche} : Masse de l'algue sèche en grammes

Le rendement moyen de plusieurs manipulations est de l'ordre de 0.8 %.

II.3 Analyse de l'huile essentielle par CG/SM

Une masse de l'ordre de 2mg de l'huile essentielle est dissoute dans l'acétate d'éthyle, la solution est injectée dans les conditions citées ci-dessus. L'analyse par CG/SM a permis la mise en évidence de 68 composés et identifier 56 regroupés dans le tableau (7). Le profil chromatographique d'huile essentielle est présenté par la figure (12) et des agrandissements (figures 13,14) :

Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma*.

N°	Tr	Nom des composés	IR (lit)	IR (cal)	% aire
1	4,20	Dimethyl disulfide	722	723	0,01
2	10,25	Benzaldehyde	960	963	0,02
3	10,85	Vinyl amyl carbinol	978	978	0,02
4	11,04	Hept-5-en-2-one <6-methyl->	986	983	0,2
5	18,23	Oxophorone	1148	1145	0,03
6	25,12	Benzo-2,3-pyrrole	1297	1295	0,05
7	27,50	Cubebene <alpha->	1349	1348	0,34
8	27,73	Eugenol	1357	1354	0,04
9	28,50	Cyclosativene	1367	1371	0,1
10	28,79	Copaene <alpha->	1375	1378	0,12
11	29,15	Bourbonene <beta->	1382	1386	0,96
12	29,31	Cubebene <beta->	1392	1390	4,2
13	29,52	Sativene	1394	1394	0,3
14	30,63	Ylangene<beta->	1422	1421	0,5
15	31,13	Copaene <beta->	1433	1432	0,4
16	31,83	NI	/	1443	9,4
17	31,95	Muurola-3,5-diene<trans->	1453	1452	0,1
18	32,42	Caryophyllene <9-epi-(E)->	1464	1463	0,2
19	32,75	Germacrene D	1480	1471	0,08
20	32,93	Gurjunene <gamma->	1476	1476	1,19
21	33,18	Albicanol	/	1481	15,54
22	33,32	Amorphene <gamma->	1490	1485	8,35
23	33,61	Tetradecene	/	1489	0,35
24	33,77	1H-Cycloprop[e]azulene	/	1496	8,52
25	34,39	Tridecanal <n->	1516	1511	1,68
26	34,68	Cubebol	1519	1518	4,24

27	34,79	Cadinene <delta->	1518	1521	0,62
28	35,01	Zonarene	1526	1527	8,01
29	35,88	Naphthalenone, 3,4-dihydro-4,7-dimethyl-	/	1548	0,5
30	36,90	Palustrol	1568	1574	0,08
31	37,11	1,6-Germacradien-5-ol	/	1583	0,75
32	37,50	Gleenol	1590	1590	2,64
33	39,11	Epicubenol	1631	1632	0,18
34	39,71	Cedreanol	/	1645	6,2
35	39,81	Muurolol <alpha->	1651	1651	1,6
36	40,16	NI	/	1668	1,27
37	40,29	NI	/	1676	0,56
38	41,26	Germacra-4(15),5,10(14) -trien-1-alpha-ol	1683	1689	1,09
39	41,45	Capnellane-8-one	/	1694	0,2
40	41,62	4S,5R) -5-Hydroxycaryophyll-8(13) -ene-4,12-epoxide	/	1718	0,1
41	41,73	E11-Hexadecenal	/	1725	0,2
42	42,21	Alcool oléylique		1745	0,1
43	42,49	NI	/	1748	0,2
44	42,84	NI	/	1753	1,66
45	43,28	Mintsulfide	/	1758	0,27
46	43,52	NI	/	1762	1
47	43,65	NI	/	1768	0,04
48	43,8	Tetradecanoic acid	1773	1770	0,02
49	44,3	NI	/	1776	1,3
50	44,86	NI	/	1816	0,6
51	46,35	Farnesyl acetate	1832	1832	0,04
52	46,64	Phytone	1841	1841	0,2
53	48,12	3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanone	/	1891	2,3
54	49,76	Cembrene	1959	1954	0,2
55	50,04	NI	/	1961	0,58
56	50,63	Hexadecanoic acid	1977	1967	0,22
57	51,62	Isopachydietylol A	/	1989	1,5
58	52,96	Methyl eicosa-5,8,11,17-pentaenoate	/	2033	0,37
59	53,14	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate		2038	0,4
60	53,5	NI	/	2057	0,69

61	54,01	NI	/	2063	0,06
62	55,3	NI	/	2081	0,5
63	55,88	Pachydictol A	/	2168	2,8
64	56,32	Dictyol J	/	2195	1,22
65	58,8	Dollailadene	/	2234	0,56
66	60,32	Sanadaol	/	2285	1,9
67	62,9	Isopachydictyolal	/	2341	0,2
68	75,73	Cholesterilene	2895	2895	0,04

NI : non identifié

IR (lit) : indice de rétention de la littérature.

IR (cal) : indice de rétention calculé.

L'identification des différents composés est réalisée en se basant sur les banques de données spectrales ainsi que sur les données de la littérature. Nous avons pu identifier avec exactitude 56 produits représentant 82.14% de la composition totale.

L'examen du tableau montre que la composition chimique est dominée par une fraction de sesquiterpènes assez fréquemment rencontrés dans le genre *Dictyota* [109] dont le produit majoritaire est l'albicanol suivi d'une fraction de diterpènes caractéristiques des espèces du même genre [110]

La fraction des sesquiterpènes est caractérisée par la présence des composés tels que le zonarene (8,01), amorphe <gamma> (8.35), azulene (8.52), Ces composés sont considérés comme les principaux composés organique volatiles identifiés dans l'algue *D. dichotoma* dans une récente étude phytochimique de l'espace de tête [111]

Cette fraction de sesquiterpènes est biosynthétiquement liés au germacrene D. Ils ont probablement dérivé de la protonation du germacrène D résultant en cations cadinényle, muurolényle et amorphényle qui vont réagir pour former des produits finaux [112].

Egalement, Il a été proposé que la cyclisation du germacène D ou de son isomère endocyclique à double liaison puisse entraîner la formation de squelettes de type bourbonène et de copaène [109]. Le β -bourbonène a été identifié avec (0,96%) et l' α -copaène avec un pourcentage inférieur (0.12%). L'existence d'un processus thermodynamiquement défavorable explique la formation des muurolenes en faible quantité, ce qui est en accord avec notre résultat le Muurola-3,5-diene a été identifié avec (0.1%) et le Muurolol <alpha> (1.6%) [112].

Concernant la fraction des diterpènes, nous avons noté la présence d'Isopachydictyol A, sanadaol, dictyol J, dollailadene, Pachydictol A, cette dernière classe est très caractéristique des espèces du genre *Dictyota* [109].

Des esters gras tels que le méthyl eicosa-5,8,11,14-tétraénoate et le méthyl eicosa-5,8,11,14,17-tétraénoate ont déjà été trouvés dans cette algue dans le cadre des recherches antérieures [112].

Le nombre de composés non identifiés représente un pourcentage relativement élevé. Cet état de fait est dû notamment à la complexité de la composition chimique ou lié à des considérations écologiques marines.

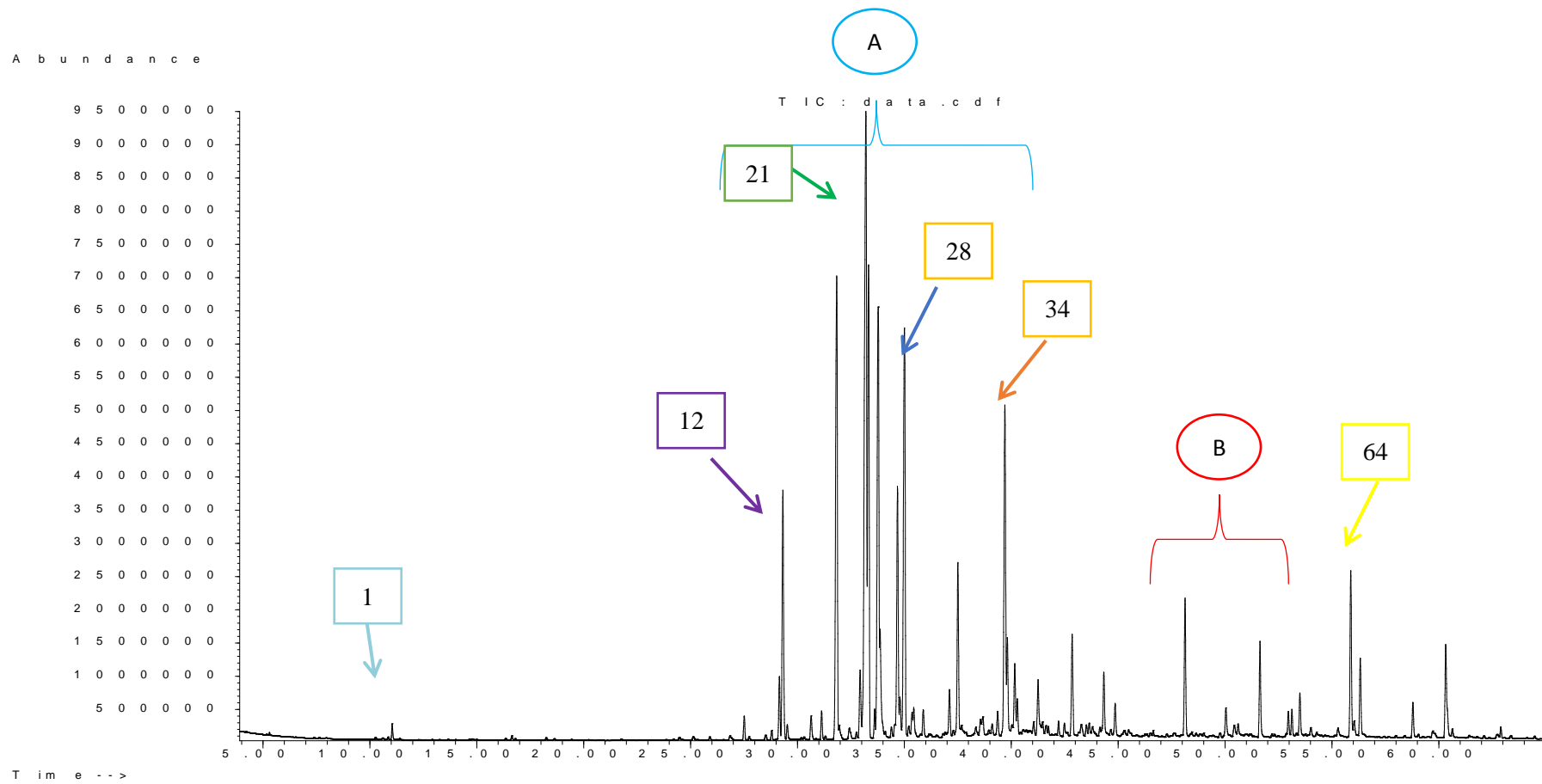


Figure 18 : Profil chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de *Dictyota dichotmoa*

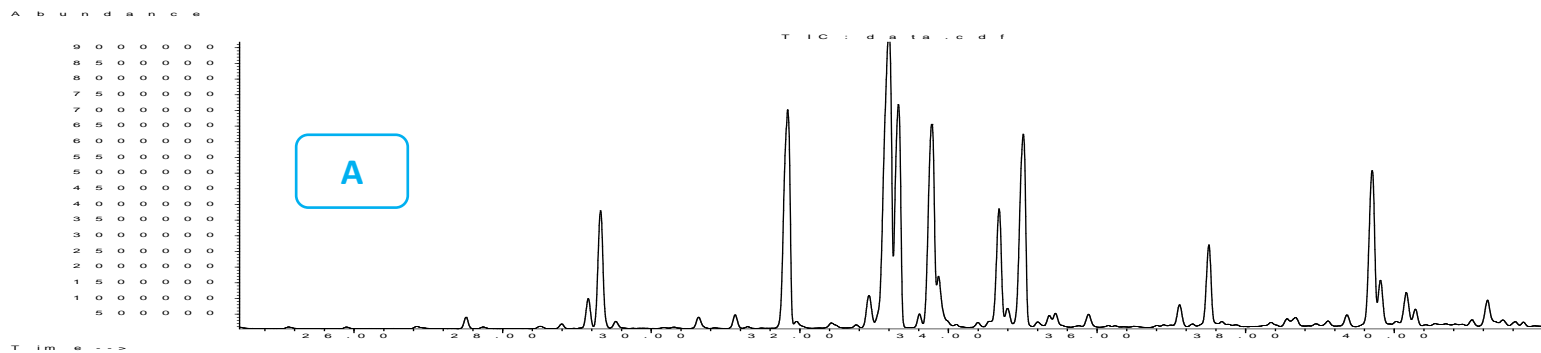


Figure 19 : Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* (partie A)

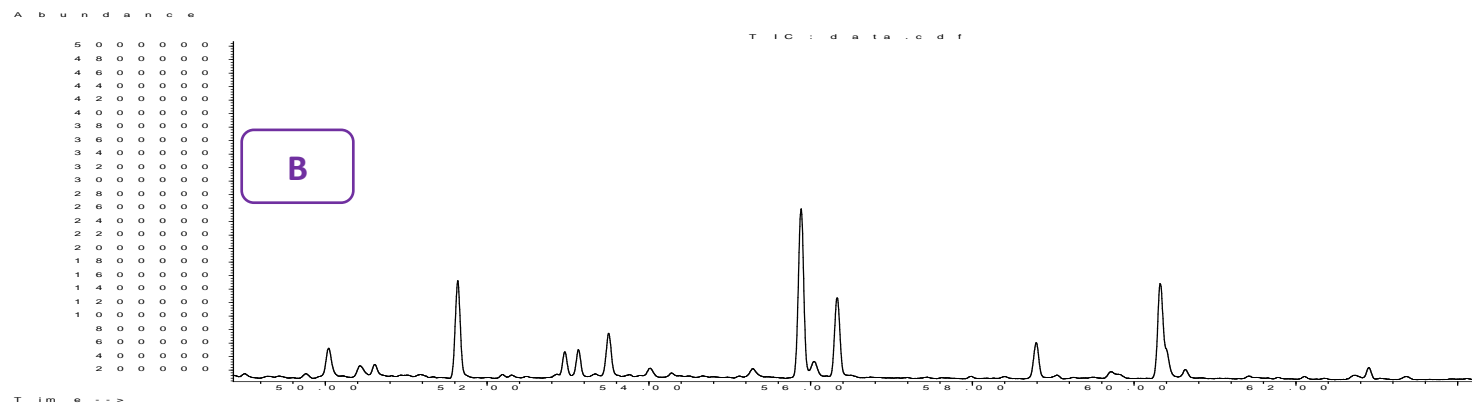


Figure 20 : Agrandissement des pics du chromatogramme de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* (partie B)

II.4 Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle par la méthode de l'antibiogramme

Les résultats de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* sur les souches de références ATCC par mesure de diamètre d'inhibition de la croissance des microorganismes sont donnés dans le tableau (8) et la figures (15).

Tableau 8 : Diamètre d'inhibition obtenu pour les différents microorganismes testés.

Souches	Gram	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Escherichia coli</i>	(-)	33
<i>Enterococcus faecium</i>	(+)	47
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	24
<i>Micrococcus luteus</i>	(+)	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	17
<i>Candida albicans</i>	Levure	12
<i>Enterobacter cloacae</i>	(-)	19
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	(-)	16

L'inhibition de la croissance microbienne est proportionnelle au diamètre de la zone d'inhibition [113].

- Très fortement inhibitrice : diamètre de la zone ≥ 30 mm
- Fortement inhibitrice : 21mm < diamètre de la zone < 30mm
- Modérément inhibitrice : 16mm < diamètre de la zone < 21mm
- Légèrement inhibitrice : 11mm < diamètre de la zone < 16mm

- Non inhibitrice : diamètre de la zone < 11 mm

Les diamètres d'inhibition, générés par l'huile essentielle, sont très variables selon les souches microbiennes utilisées. Avec un diamètre d'inhibition supérieur à 11 mm, l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma* montre une activité légère sur la levure testée *Candida albicans* (12 mm), l'huile essentielles a montré une activité modérément inhibitrice contre les souches *Agrobacterium tumefaciens* (16), *Staphylococcus aureus* (17mm), *Enterobacter cloacae* (19mm), En revanche une forte inhibition est constatée sur *Pseudomonas aeruginosa* (24mm), Une grande sensibilité est exprimée par une forte inhibition de l'huile essentielle vis-à-vis des souches *Micrococcus luteus* (32mm), *Escherichia coli* (33mm), *Enterococcus Faecium* (47mm).

D'après ces résultats nous avons trouvé que l'huile essentielle de *Dictoyota dichotoma* a une forte activité antibactérienne vis-à-vis la majorité des souches bactériennes testées.

II.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

La valeur de la CMI correspond à la première concentration qui inhibe la croissance bactérienne. L'inhibition de croissance se traduit par un éclaircissement de la couleur du milieu. Le tableau (9) et les figures (16-21) montrent les résultats obtenus de l'activité antibactérienne d'huile essentielle sur les souches bactérienne après la période d'incubation.

Tableau 9 : Les concentrations minimales inhibitrices d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*.

Souches	Gram	Concentration minimale inhibitrice (µl/ml)
<i>Escherichia coli</i>	(-)	0.93
<i>Enterococcus faecium</i>	(+)	0.93
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	3.75
<i>Micrococcus luteus</i>	(+)	0.93
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	0.45

<i>Candida albicans</i>	Levure	60
<i>Enterobacter cloacae</i>	(-)	1.87
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	(-)	7.5

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* a une très forte activité antibactérienne vis-à-vis des quatre bactéries : '*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus Faecium*, *Micrococcus luteus*' ce qui se traduit par des CMI de l'ordre de (0.45,0.93,0.93,0.93) µl/ml. Pour les deux bactéries à gram négatives '*Pseudomonas aeruginosa* et *Agrobacterium tumefaciens*', des CMI de l'ordre de (3.75,7.5) µl/ml sont enregistrées respectivement, l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* montre une légère activité contre '*Candida albicans*' ce qui correspond à une CMI de l'ordre de 60 µl/ml et confirme la résistance de la levure testée.

L'ensemble des souches testées dans notre étude ont montré un degré de sensibilité élevé vis-à-vis de l'huile essentielle. D'après les résultats représentés dans le tableau, on peut constater que l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* a exercé une importante activité contre les microorganismes testés. Cette forte activité antimicrobienne est fortement corrélée à la composition chimique de l'huile essentielle qui est caractérisée par la présence d'une fraction de sesquiterpènes possédant des activités biologiques, tels que le copaène, l'activité antibactérienne de ce composé a montré un effet inhibiteur contre *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa* et *Streptococcus pyogenes* [114].

Concernant la fraction des diterpènes, La plupart de ces composés présentent des propriétés biologiques, telles que les activités cytotoxiques [100], antitumorales [83], antivirales [88], antifouling [96] et antioxydantes.

Des travaux antérieurs sur l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et de dichlorométhane obtenu à partir de l'algue *Dictyota dichotoma* évaluée vis-à-vis d'un certain nombre de souches ont noté la présence d'une forte activité antibactérienne contre *Salmonella typhimurium* et *S. aureus*. En plus, Moreau et al. (1988) [115] ont signalé

l'effet inhibiteur d'extraits à l'hexane de certaines *Dictyotaceae*, en particulier de *D. dichotoma*, sur la croissance fongique

Conclusion

Générale

Conclusion

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la détermination de la composition chimique et l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyota dichotoma*, l'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement moyen de l'ordre de 0.8%.

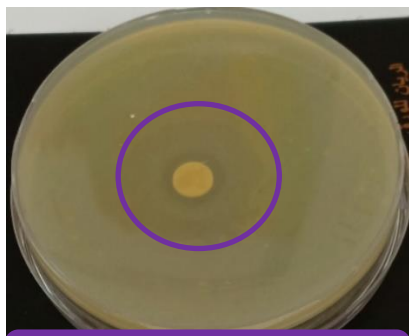
L'analyse de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/SM), et les banques de données spectrales ainsi que les données de la littérature, ont permis de relever 68 composés et d'identifier 56 dont le produit majoritaire est un sesquiterpène 'l'Albicanol' avec une teneur de 15.54%, elle se caractérise également par la présence d'autres produits comme 'l'Epicubenol' 'le Pachydictol A' et 'le Cedreanol' avec de grandes teneurs.

L'activité antimicrobienne a été évaluée vis-à-vis des huit souches bactériennes, des bactéries à des Grams négatives et positives de références ATCC « *Escherichia coli*, *Enterococcus Faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Agrobacterium tumefaciens* » et une levure « *Candida albicans* ».

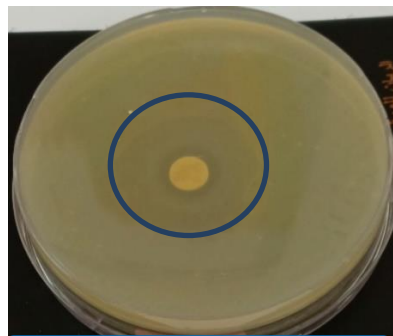
L'huile essentielle a montré un pouvoir très fortement inhibiteur vis-à-vis de l'*Escherichia coli*, et l'*Enterococcus Faecium* avec des zones d'inhibitions de 33 et 47 mm, En revanche elle représente une faible activité avec la levure *Candida albicans* testée avec une zone inhibitrice de 12 mm.

Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma* montrent une forte activité antibactérienne vis-à-vis aux quatre bactéries : '*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus Faecium*, *Micrococcus luteus*' ce qui est traduit par des CMI de l'ordre de (0.45,0.93,0.93,0.93) µl/ml. La présente étude donne un aperçu général sur la composition chimique et le potentiel antimicrobiennes d'huile essentielle d'algue brune marine *Dictyota dichotoma* ; afin d'améliorer et d'augmenter l'effet bactérienne de l'huile essentielle de cette algue nos perspectives de recherche à venir s'axeront sur :

- Extraction par autres méthodes ;
- Elargir la gamme des microorganismes cibles ;
- Préparation d'une nano-émulsion.



Escherichia coli



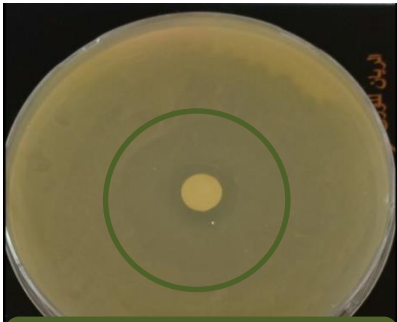
Enterococcus Faecium



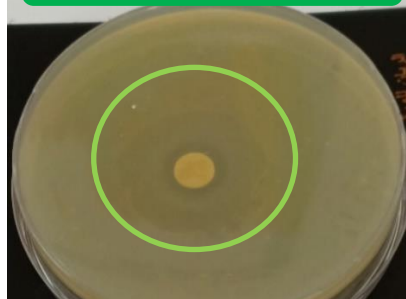
Agrobacterium tumefaciens



Enterobacter cloacae



Pseudomonas aeruginosa



Micrococcus luteus



Staphylococcus aureus



Candida albicans

Figure 21 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

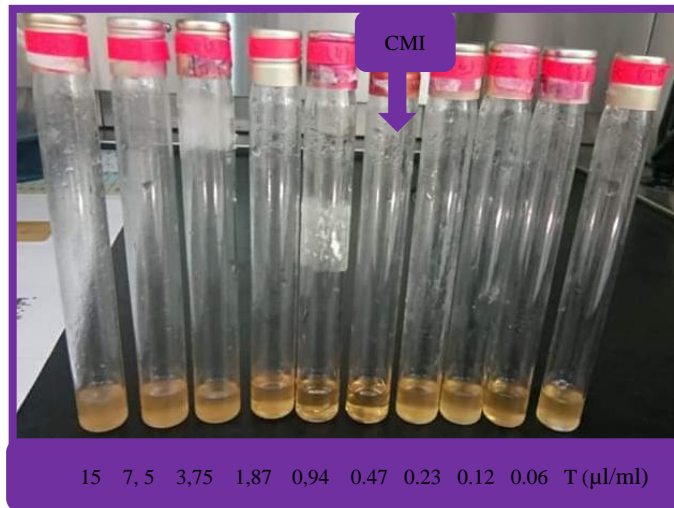


Figure 22 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Escherichia coli*.

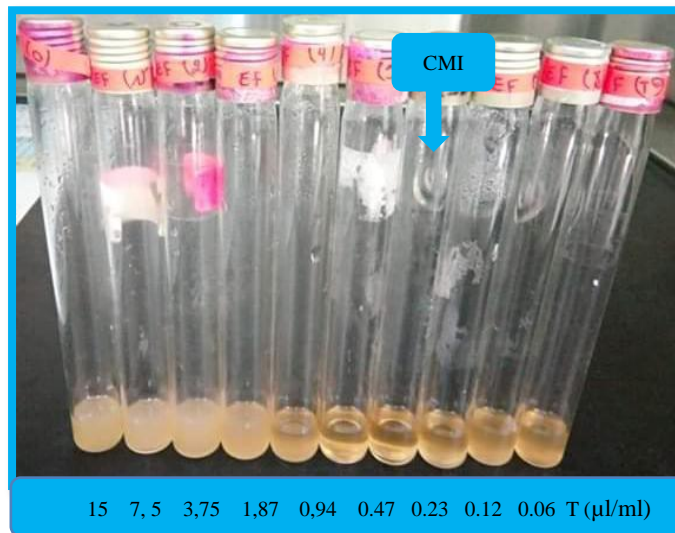


Figure 23 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Enterococcus Faecium*.

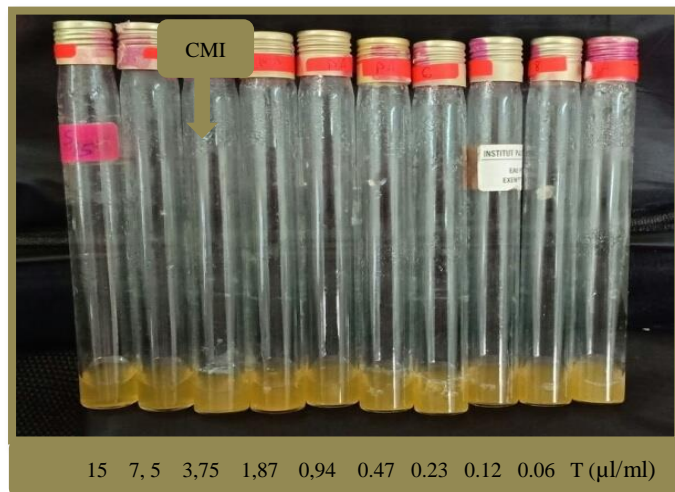


Figure 24 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Pseudomonas aeruginosa*..

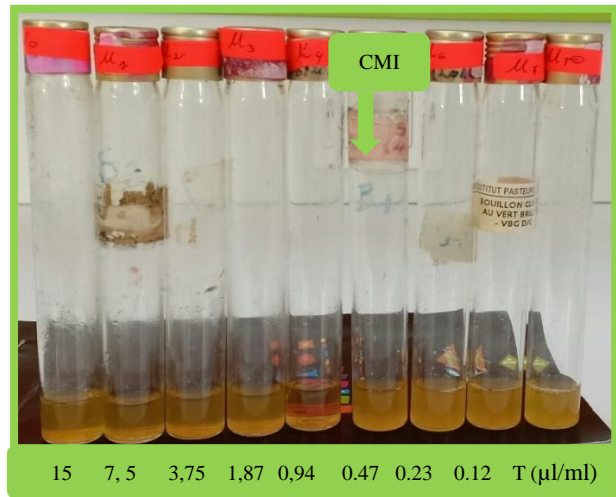


Figure 25 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Micrococcus luteus*..

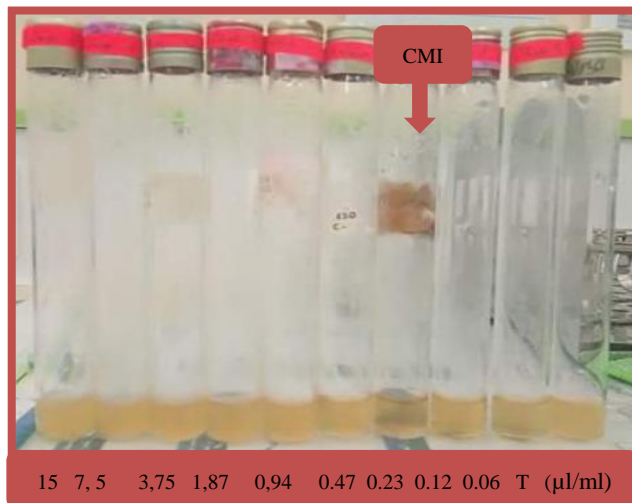


Figure 26 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Staphylococcus aureus*.

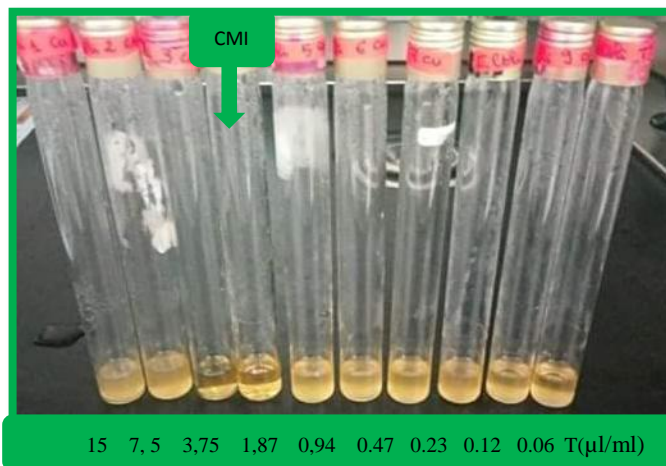


Figure 2 : Résultat d'inhibition après 24h d'incubation de l'HE contre *Enterobacter cloacae*.

Références Bibliographiques

1. Afli, A., Ben Mostapha, K., Jarboui, O., Bradai, N., Hattour, A., Langhar, H., & Sadok, S. (2005). La biodiversité marine en Tunisie.
2. Adaikalaraj, G., Patric, R. D., Johnson, M., Janakiraman, N., & Babu, A. (2012). Antibacterial potential of selected red seaweeds from Manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S1077-S1080.
3. Boukou, A., Itgarets, S., & Keramane, B. E. (2013). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois algues marines de la côte de Bejaïa.
4. SAHNOUN, A., & CHENINE, A. (2017). Contribution à l'étude de l'effet de la variation saisonnière (hiver-printemps) de l'activité antibactérienne et antioxydante de différents extraits de l'algue verte *Caulerpa racemosa* de la côte Mostaganémoise.
5. Faller, H. (2011). *Les applications et la toxicité des algues marines* (Doctoral dissertation).
6. Cheseaux, C. (1988). *Analyse des huiles essentielles de l'algue brune fucus vesiculosus de la Côte Nord du Saint-Laurent*. Université du Québec à Chicoutimi.
7. Ainane, T. (2011). *Valorisation de la biomasse algale du Maroc: Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes Cystoseira tamariscifolia et Bifurcaria bifurcata* (Doctoral dissertation).
8. Othmani, A. (2014). *Médiation chimique entre l'algue brune méditerranéenne Taonia atomaria et la communauté bactérienne associée à sa surface* (Doctoral dissertation, Université de Toulon).
9. Chen, J., Li, H., Zhao, Z., Xia, X., Li, B., Zhang, J., & Yan, X. (2018). Diterpenes from the marine algae of the genus *Dictyota*. *Marine drugs*, 16(5), 159.
10. Sze, P. (1993). *A Biology of the algae*, second ed. Wm. C. Brown Publishers.
11. Turvey, J.R., Christison, J., 1967. The hydrolysis of algal galactans by enzymes from a Cytophaga species. *Biochem. J.* 105, 311–316.
12. Guiry, M. D. (2012). How many species of algae are there?. *Journal of phycology*, 48(5), 1057-1063.
13. Gayral, P. (1975). *Les algues: morphologie, cytologie, reproduction, écologie* (No. 582.2 GAY).

13. De Reviere, B. (2002). *Biologie et phylogénie des algues*. Belin.
14. Augier, M. L. A. J. (1965). Biochimie et taxinomie chez les algues. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 112(sup1), 8-15.
15. Belkherraz, M., Hocini, R., & Ihamouchen, C. (2018). *Valorisation de la biomasse marine dans la conception de biomatériaux destinés à l'emballage alimentaire* (Doctoral dissertation, Université abderrahmane mira). Chaabani, E., Vian, M. A., Dakhlaoui, S., Bourgou, S., Chemat, F., Ksouri, R., ... & El Idrissi, I. S. OCL-Oilseeds and fats, Crops and Lipids.
16. AGRO-ALIMENTAIRES, P. E. C. (1995). VALORISATION DES ALGUES POUR LES INDUSTRIES AGRO-ALIMENTAIRES, PHARMACEUTIQUES ET COSMÉTIQUES. *par les*, 167.
17. Le Bras, Q., Lesueur, M., Lucas, S., & Guin, S. (2015). Quels produits aux algues pour demain? Produits imaginés par les consommateurs. Programme IDEALG Phase 3. Les publications du Pôle halieutique AGROCAMPUS OUEST n° 38.
18. Round, F. E. (1981). *The Ecology of the Algae* Cambridge University Press Cambridge, 573.
19. Bianco, É. M., Rogers, R., Teixeira, V. L., & Pereira, R. C. (2009). Antifoulant diterpenes produced by the brown seaweed *Canistrocarpus cervicornis*. *Journal of applied phycology*, 21(3), 341-346.
20. Ravi, B. N., & Wells, R. J. (1982). New nine-membered ring diterpenes from the brown alga *Dictyota prolificans*. *Australian Journal of Chemistry*, 35(1), 121-128.
21. Barbosa, J. P., Fleury, B. G., da Gama, B. A., Teixeira, V. L., & Pereira, R. C. (2007). Natural products as antifoulants in the Brazilian brown alga *Dictyota pfaffii* (Phaeophyta, Dictyotales). *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(8), 549-553.
22. Boudouresque, C. F., Meinesz, A., & Verlaque, M. (1992). Guide des algues des mers d'Europe: Manche. *DELACHAUX et NIESTLE, France*. 232p.
23. Enoki, N., Ishida, R., & Matsumoto, T. (1982). Structures and conformations of new nine-membered ring diterpenoids from the marine alga *Dictyota dichotoma*. *Chemistry Letters*, 11(11), 1749-1752.
24. Schnetter, R., Hörnig, I., & Weber-Peukert, G. (1987). Taxonomy of some North Atlantic *Dictyota* species (Phaeophyta). In *Twelfth International Seaweed Symposium* (pp. 193-197). Springer, Dordrecht.

25. Hörnig, I., & Schnetter, R. (1988). Notes on *Dictyota dichotoma*, *D. menstrualis*, *D. indica* and *D. pulchella* spec. nova (*Phaeophyta*). *Phyton (Austria)*, 28(2), 277-291.
26. Tronholm, A., Steen, F., Tyberghein, L., Leliaert, F., Verbruggen, H., Antonia Ribera Siguan, M., & De Clerck, O. (2010). Species Delimitation, Taxonomy, and Biogeography of *Dictyota* in Europe (*Dictyotales*, *Phaeophyceae*) 1. *Journal of phycology*, 46(6), 1301-1321.
27. Teixeira, V. L., Almeida, S. A. D. S., & Kelecom, A. (1990). Chemosystematic and biogeographic studies of the diterpenes from the marine brown alga *Dictyota dichotoma*. *Biochemical systematics and ecology*, 18(2-3), 87-92.
28. Wai, M. K., Nyunt, T., Kyaw, S. P. P., & Soe-Htun, U. (2009). Marine Algae of Mazin Coastal Areas, Thandwe Township, Rakhine State. *Jour. Myan. Acad. Arts & Sc*, 7(5), 2.
29. Cordero, P. A. (1975). Some epiphytic algae in the vicinity of the Seto Marine Biological Laboratory, Wakayama Prefecture, Japan I.
30. King, R. J., & Farrant, P. A. (1987). The phenology of the *Dictyotales* (*Phaeophyceae*) at a sheltered locality in Sydney Harbour, New South Wales, Australia. *Botanica marina*, 30(4), 341-350.
31. Hwang, I. K., Kim, H. S., & Lee, W. J. (2005). Polymorphism in the brown alga *Dictyota dichotoma* (*Dictyotales*, *Phaeophyceae*) from Korea. *Marine biology*, 147(4), 999-1015.
32. MOTTIER, D. M. (1900). Nuclear and cell division in *Dictyota dichotoma*. *Annals of botany*, 14(54), 163-192.
33. Crouan Frères, M. M. (1857). Observations Microscopiques sur L'Organisation, la Fructification et la Dissémination de Plusieurs Genres D'Algues Appartenant à la Famille des *Dictyotées*. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 4(1), 24-29.
34. Kühlenkamp, R., Franklin, L. A., & Lüning, K. (2001). Effect of solar ultraviolet radiation on growth in the marine macroalga *Dictyota dichotoma* (*Phaeophyceae*) at Helgoland and its ecological consequences. *Helgoland marine research*, 55(1), 77.
35. Maréchal, J. P., Culioli, G., Hellio, C., Thomas-Guyon, H., Callow, M. E., Clare, A. S., & Ortalo-Magné, A. (2004). Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (*Cystoseiraceae*) against cyprids of *Balanus amphitrite* and the marine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 313(1), 47-62.

36. Jo, J. H., Kim, D., Lee, S., & Lee, T. K. (2005). Total phenolic contents and biological activities of Korean seaweed extracts. *Food Sci. Biotechnol*, 14(6), 000-000.
37. Orhan, D. D., Özçelik, B., Özgen, S., & Ergun, F. (2010). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological research*, 165(6), 496-504.
38. Zubia, M., Fabre, M. S., Kerjean, V., Le Lann, K., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M., & Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some *Phaeophyta* from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116(3), 693-701.
39. Moreau, D., Thomas-Guyon, H., Jacquot, C., Jugé, M., Culioli, G., Ortalo-Magné, A., ... & Roussakis, C. (2006). An extract from the brown alga *Bifurcaria bifurcata* induces irreversible arrest of cell proliferation in a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line. *Journal of applied phycology*, 18(1), 87-93.
40. Ibtissam, C., Hassane, R., Jose, M., Francisco, D. S. J., Antonio, G. V. J., Hassan, B., & Mohamed, K. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 8(7).
41. Rhimou, B., Hassane, R., & Nathalie, B. (2010). Antiviral activity of the extracts of *Rhodophyceae* from Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), 7968-7975.
42. Pflugmacher, S., Olin, M., & Kankaanpää, H. (2007). Nodularin induces oxidative stress in the Baltic Sea brown alga (*Phaeophyceae*).
43. Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.
44. Kong, C. S., Kim, J. A., Yoon, N. Y., & Kim, S. K. (2009). Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47(7), 1653-1658.
45. Davis, T. A., Volesky, B., & Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water research*, 37(18), 4311-4330.
46. Teixeira, V. L., Tomassini, T., Fleury, B. G., & Kelecom, A. (1986). Dolastane and secodolastane diterpenes from the marine brown alga, *Dictyota cericornis*. *Journal of natural products*, 49(4), 570-575.
47. Faulkner, D. J. (1984). Marine natural products: metabolites of marine algae and herbivorous marine molluscs. *Natural Product Reports*, 1(3), 251-280.

48. Siamopoulou, P., Bimplakis, A., Iliopoulou, D., Vagias, C., Cos, P., Berghe, D. V., & Roussis, V. (2004). Diterpenes from the brown algae *Dictyota dichotoma* and *Dictyota linearis*. *Phytochemistry*, 65(14), 2025-2030.
49. Saleh, M. A., Abdel-Moein, N. M., & Ibrahim, N. A. (1984). Insect antifeeding azulene derivative from the brown alga *Dictyota dichotoma*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 32(6), 1432-1434.
50. De Rosa, S., De Giulio, A., Iodice, C., & Zavodink, N. (1994). Sesquiterpenes from the brown alga *Taonia atomaria*. *Phytochemistry*, 37(5), 1327-1330.
51. Grantham, P. J. (1986). The occurrence of unusual C27 and C29 sterane predominances in two types of Oman crude oil. *Organic geochemistry*, 9(1), 1-10.
52. Perez-Bermudez, P., Garcia-Carrascosa, M., Cornejo, M. J., & Segura, J. (1981). Water-depth effects in photosynthetic pigment content of the benthic algae *Dictyota dichotoma* and *Udotea petiolata*. *Aquatic Botany*, 11, 373-377.
53. Müller, D. G., Gassmann, G., Boland, W., Marner, F., & Jaenicke, L. (1981). *Dictyota dichotoma* (*Phaeophyceae*): Identification of the sperm attractant. *Science*, 212(4498), 1040-1041.
54. Xu, Q., Yang, L., Yang, W., Bai, Y., Hou, P., Zhao, J., ... & Zuo, Z. (2017). Volatile organic compounds released from *Microcystis flos-aquae* under nitrogen sources and their toxic effects on *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 135, 191-200.
55. Usov, A. I. (1989). Polysaccharides of algae. 41. Characterization of water-soluble polysaccharides from several representatives of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Bioorg. Khim.*, 15, 1259-1267.
56. Pohnert, G. (2000). Wound-activated chemical defense in unicellular planktonic algae. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(23), 4352-4354.
57. Kamenarska, Z., Dimitrova-Konaklieva, S., Stefanov, K., Najdenski, H., Tzvetkova, I., & Popov, S. (2002). Comparative study of the volatile compounds from some Black Sea brown algae. *Botanica marina*, 45(6), 502-509.
58. Fink, P. (2007). Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 40(3), 155-168.
59. Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. (2006). Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical reviews in plant sciences*, 25(5), 417-440.

60. Wiesemeier, T., Hay, M., & Pohnert, G. (2007). The potential role of wound-activated volatile release in the chemical defence of the brown alga *Dictyota dichotoma*: blend recognition by marine herbivores. *Aquatic Sciences*, 69(3), 403-412.
61. Kamenarska, Z., Ivanova, A., Stancheva, R., Stoyneva, M., Stefanov, K., Dimitrova-Konaklieva, S., & Popov, S. (2006). Volatile compounds from some Black Sea red algae and their chemotaxonomic application. *Botanica Marina*, 49(1), 47-56.
62. Kandhasamy, M., & Arunachalam, K. D. (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African journal of Biotechnology*, 7(12).
63. Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 315-326.
64. Laib E, Leghouchi E (2012) Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn concentrations in *Ulva lactuca*, *Codium fragile*, *Jania rubens*, and *Dictyota dichotoma* from Rabta Bay, Jijel (Algeria). *Environ Monit Assess* 184:1711–1718.[67]
65. Abou-El-Wafa, G., Shaaban, M., Shaaban, K., El-Naggar, M., Maier, A., Fiebig, H., & Laatsch, H. (2013). Pachydictyols B and C: new diterpenes from *Dictyota dichotoma* Hudson. *Marine drugs*, 11(9), 3109-3123.
66. Pereira, H., Leão-Ferreira, L. R., Moussatché, N., Teixeira, V. L., Cavalcanti, D. N., Costa, L. J., ... & Frugulhetti, I. C. P. P. (2004). Antiviral activity of diterpenes isolated from the Brazilian marine alga *Dictyota menstrualis* against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Antiviral research*, 64(1), 69-76.
67. Soares, D. C., Calegari-Silva, T. C., Lopes, U. G., Teixeira, V. L., de Palmer Paixão, I. C., Cirne-Santos, C., ... & Saraiva, E. M. (2012). Dolabelladienetriol, a compound from *Dictyota pfaffii* algae, inhibits the infection by *Leishmania amazonensis*. *PLoS neglected tropical diseases*, 6(9), e1787.
68. Jongaramruong, J., & Kongkam, N. (2007). Novel diterpenes with cytotoxic, anti-malarial and anti-tuberculosis activities from a brown alga *Dictyota sp.* *Journal of Asian natural products research*, 9(8), 743-751.
69. de Andrade Moura, L., Marqui de Almeida, A., Domingos, T., Ortiz-Ramirez, F., Cavalcanti, D., Teixeira, V., & Fuly, A. (2014). Antiplatelet and anticoagulant effects of diterpenes isolated from the marine alga, *Dictyota menstrualis*. *Marine drugs*, 12(5), 2471-2484.

70. Gomes, D., Telles, C., Costa, M., Almeida-Lima, J., Costa, L., Keesen, T., & Rocha, H. (2015). Methanolic extracts from brown seaweeds *Dictyota cilliolata* and *Dictyota menstrualis* induce apoptosis in human cervical adenocarcinoma HeLa cells. *Molecules*, 20(4), 6573-6591.
71. Aravindan, S., Delma, C. R., Thirugnanasambandan, S. S., Herman, T. S., & Aravindan, N. (2013). Anti-pancreatic cancer deliverables from sea: first-hand evidence on the efficacy, molecular targets and mode of action for multifarious polyphenols from five different brown-algae. *PloS one*, 8(4), e61977.
72. Albuquerque, I., Cordeiro, S., Gomes, D., Dreyfuss, J., Filgueira, L., Leite, E., ... & Rocha, H. (2013). Evaluation of anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of a heterofucan from *Dictyota menstrualis*. *Marine drugs*, 11(8), 2722-2740.
73. Bouaïcha, N., Tringali, C., Pesando, D., Malléa, M., Roussakis, C., & Verbist, J. F. (1993). Bioactive diterpenoids isolated from *Dilophus ligulatus*. *Planta medica*, 59(03), 256-258.
74. Zhao, M., Cheng, S., Yuan, W., Dong, J., Huang, K., Sun, Z., & Yan, P. (2015). Further new xenicanes from a Chinese collection of the brown alga *Dictyota plectens*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(12), 1081-1086.
75. Patil, A. D., Berry, D., Brooks, D. P., Hemling, M. E., Kumar, N. V., Mitchell, M. P., ... & Westley, J. W. (1993). A diterpene epoxide from the marine brown alga *Dictyota* sp.: Possible vasopressin V1 receptor antagonist. *Phytochemistry*, 33(5), 1061-1064.
76. Viano, Y., Bonhomme, D., Ortalo-Magné, A., Thomas, O. P., El Hattab, M., Piovetti, L. & Culioli, G. (2011). Dictyotadimer A, a new dissymmetric bis-diterpene from a brown alga of the genus *Dictyota*. *Tetrahedron Letters*, 52(9), 1031-1035.
77. Takikawa, M., Uno, K., Ooi, T., KUSUMI, T., AKERA, S., MURAMATSU, M., ... & HORITA, C. (1998). Crenulacetal C, a marine diterpene, and its synthetic mimics inhibiting *Polydora websterii*, a harmful lugworm damaging pearl cultivation. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 46(3), 462-466.
78. Pereira, R., Lourenço, A., Terra, L., Abreu, P., Laneuville Teixeira, V., & Castro, H. (2017). Marine diterpenes: Molecular modeling of thrombin inhibitors with potential biotechnological application as an antithrombotic. *Marine drugs*, 15(3), 79.
79. Abrantes, J. L., Barbosa, J., Cavalcanti, D., Pereira, R. C., Fontes, C. L. F., Teixeira, V. L., ... & Paixão, I. C. (2010). The effects of the diterpenes isolated from the

- Brazilian brown algae *Dictyota pfaffii* and *Dictyota menstrualis* against the herpes simplex type-1 replicative cycle. *Planta medica*, 76(04), 339-344.
- 80.** Pereira, R. C., Cavalcanti, D. N., & Teixeira, V. L. (2000). Effects of secondary metabolites from the tropical Brazilian brown alga *Dictyota menstrualis* on the amphipod *Parhyale hawaiiensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 205, 95-100.
- 81.** Fonseca, R. R., Villaça, R. C., & Teixeira, V. L. (2013). Inhibitory effects against pasture weeds in Brazilian Amazonia of natural products from the marine brown alga *Dictyota menstrualis*. *Natural product communications*, 8(12), 1669-1672.
- 82.** Bogaert, K., Beeckman, T., & De Clerck, O. (2016). Abiotic regulation of growth and fertility in the sporophyte of *Dictyota dichotoma* (Hudson) J.V. Lamouroux (*Dictyotales*, *Phaeophyceae*). *Journal of applied phycology*, 28(5), 2915-2924.
- 83.** Ayyad, S. E. N., Makki, M. S., Al-kayal, N. S., Basaif, S. A., El-Foty, K. O., Asiri, A. M., ... & Badria, F. A. (2011). Cytotoxic and protective DNA damage of three new diterpenoids from the brown alga *Dictoyota dichotoma*. *European journal of medicinal chemistry*, 46(1), 175-182.
- 84.** Wright, A. D., König, G. M., & Sticher, O. (1990). Two new dolabellane derivatives from the brown alga *Dictyota pardarlis*. *Tetrahedron*, 46(11), 3851-3858.
- 85.** König, G. M., & Wright, A. D. (1994). New dolabellanes from the marine alga *Dictyota pardalis* f. *pseudohamata*. *Tetrahedron*, 50(27), 8011-8018.
- 86.** Rao, C. B., Trimurtulu, G., Sreedhara, C., Rao, D. V., Bobzin, S. C., & Faulkner, D. J. (1994). Diterpenes from the brown alga *Dictyota bartayresiana*. *Phytochemistry*, 37(2), 509-513.
- 87.** Pardo-Vargas, A., de Barcelos Oliveira, I., Stephens, P., Cirne-Santos, C., de Palmer Paixão, I., Ramos, F., ... & Castellanos, L. (2014). Dolabelladienols A–C, new diterpenes isolated from Brazilian brown alga *Dictyota pfaffii*. *Marine drugs*, 12(7), 4247-4259.
- 88.** Cheng, S., Zhao, M., Sun, Z., Yuan, W., Zhang, S., Xiang, Z., ... & Yan, P. (2014). Diterpenes from a Chinese collection of the brown alga *Dictyota plectens*. *Journal of natural products*, 77(12), 2685-2693.
- 89.** Viano, Y., Bonhomme, D., Camps, M., Briand, J. F., Ortalo-Magné, A., Blache, Y., ... & Culioli, G. (2009). Diterpenoids from the Mediterranean brown alga *Dictyota* sp. evaluated as antifouling substances against a marine bacterial biofilm. *Journal of natural products*, 72(7), 1299-1304.

90. Garcia, D. G., Bianco, E. M., Santos, M. D. C. B. D., Pereira, R. C., Faria, M. V. D. C., Teixeira, V. L., & Burth, P. (2009). Inhibition of mammal Na⁺ K⁺-ATPase by diterpenes extracted from the Brazilian brown alga *Dictyota cervicornis*. *Phytotherapy Research*, 23(7), 943-947.
91. Dos Santos, A. O., Britta, E. A., Bianco, E. M., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B. P., Pereira, R. C., & Nakamura, C. V. (2011). 4-Acetoxydolastane diterpene from the Brazilian brown alga *Canistrocarpus cervicornis* as antileishmanial agent. *Marine drugs*, 9(11), 2369.
92. Sun, H. H., McConnell, O. J., Fenical, W., Hirotsu, K., & Clardy, J. (1981). Tricyclic diterpenoids of the dolastane ring system from the marine alga *Dictyota divaricata*. *Tetrahedron*, 37(6), 1237-1242.
93. Barbosa, J. P., Teixeira, V. L., & Pereira, R. C. (2004). A dolabellane diterpene from the brown alga *Dictyota pfaffii* as chemical defense against herbivores. *Botanica Marina*, 47(2), 147-151.
94. Crews, P., Klein, T. E., Hogue, E. R., & Myers, B. L. (1982). Tricyclic diterpenes from the brown marine algae *Dictyota divaricata* and *Dictyota linearis*. *The Journal of Organic Chemistry*, 47(5), 811-815.
95. Khan, A. M. (2010). An Update of Terpenoids, Steroids and Biodiversity of. *J. Chem. Soc. Pak*, 32(3), 379.
96. Siless, G. E., García, M., Pérez, M., Blustein, G., & Palermo, J. A. (2018). Large-scale purification of pachydictyol a from the brown alga *Dictyota dichotoma* obtained from algal wash and evaluation of its antifouling activity against the freshwater mollusk *Limnoperna fortunei*. *Journal of applied phycology*, 30(1), 629-636.
97. De Rosa, S., De Stefano, S., & Zavodnik, N. (1986). Hydroazulenoid diterpenes from the brown alga *Dictyota dichotoma* var. *Implexa*. *Phytochemistry*, 25(9), 2179-2181.
98. König, G. M., Wright, A. D., & Sticher, O. (1991). New xenicane and hydroazulenoid diterpenes from an Australian collection of *Dictyota divaricata*. *Tetrahedron*, 47(8), 1399-1410.
99. Alarado, A. B., & Gerwick, W. H. (1985). Dictyol H, a new tricyclic diterpenoid from the brown seaweed *Dictyota dentata*. *Journal of Natural Products*, 48(1), 132-134.
100. Caamal-Fuentes, E., Moo-Puc, R., Freile-Peigrín, Y., & Robledo, D. (2014). Cytotoxic and antiproliferative constituents from *Dictyota ciliolata*, *Padina sanctae-crucis* and *Turbinaria tricostata*. *Pharmaceutical biology*, 52(10), 1244-1248.

- 101.** Teixeira, V. L., Tomassini, T., & Kelecom, A. (1986). Cervicol, a further secodolastane diterpene from the marine brown alga *Dictyota cervicornis* Kützing (*Phaeophyceae, Dictyotaceae*). *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*, 95(4), 263-268.
- 102.** Hardt, I. H., Fenical, W., Cronin, G., & Hay, M. E. (1996). Acutilols, potent herbivore feeding deterrents from the tropical brown alga, *Dictyota acutiloba*. *Phytochemistry*, 43(1), 71-73.
- 103.** Pathirana, C., & Andersen, R. J. (1984). Diterpenoids from the brown alga *Dictyota binghamiae*. *Canadian journal of chemistry*, 62(9), 1666-1671.
- 104.** Gedara, S. R., Abdel-Halim, O. B., El-Sharkawy, S. H., Salama, O. M., Shier, T. W., & Halim, A. F. (2003). Cytotoxic hydroazulene diterpenes from the brown alga *Dictyota dichotoma*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(1-2), 17-22.
- 105.** König, G. M., Wright, A. D., Sticher, O., & Rügger, H. (1993). Four new hydroazulenoid diterpenes from the tropical marine brown alga *Dictyota volubilis*. *Planta medica*, 59(02), 174-178.
- 106.** Farid, Y., Etahiri, S., & Assobhei, O. (2009). Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc): Criblage et optimisation de la période de la récolte. *J. Appl. Biosci*, 24, 1543-1552.
- 107.** Genné, D., & Siegrist Hans, H. (2003, May). De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. In *Forum Med Suisse* (No. 20, pp. 464-468).
- 108.** Shirling E.B., Gottlieb D., 1966.-Methods for characterization of Streptomycesspecies. *International Journal of Systematic Bacteriology*,16: 313-340.
- Peng, Y., Hu, J., Yang, B., Lin, X. P., Zhou, X. F., Yang, X. W., & Liu, Y. (2015). Chemical composition of seaweeds. In *Seaweed Sustainability* (pp. 79-124). Academic Press.
- 109.** Jaeger, R., & Cuny, E. (2016). Terpenoids with special pharmacological significance: a review. *Natural product communications*, 11(9), 1934578X1601100946.
- 110.** Jerković, I., Marijanović, Z., Roje, M., Kuš, P. M., Jokić, S., & Čož-Rakovac, R. (2018). Phytochemical study of the headspace volatile organic compounds of fresh algae and seagrass from the Adriatic Sea (single point collection). *PloS one*, 13(5), e0196462.

111. Kim, S. K., & Chojnacka, K. (Eds.). (2015). *Marine algae extracts: processes, products, and applications*. John Wiley & Sons.
112. Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D., & Roussis, V. (2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of ethnopharmacology*, 123(1), 143-148.
113. Solís, C., Becerra, J., Flores, C., Robledo, J., & Silva, M. (2004). Antibacterial and antifungal terpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 49(2), 157-161.
114. Moreau, J., Pesando, D., & Caram, B. (1984). Antifungal and antibacterial screening of *Dictyotales* from the French Mediterranean coast. In *Eleventh International Seaweed Symposium* (pp. 521-524). Springer, Dordrecht.