Odabrane vrste smeđih alga porodice Dictyotacea: pregled istraživanja isparljivih organskih spojeva

Brajica, Lara

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:317817

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODABRANE VRSTE SMEĐIH ALGA PORODICE Dictyotaceae: PREGLED ISTRAŽIVANJA ISPARLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA

ZAVRŠNI RAD

Lara Brajica

Matični broj: 380

Split, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ

KEMIJA

ODABRANE VRSTE SMEĐIH ALGA PORODICE Dictyotaceae: PREGLED ISTRAŽIVANJA ISPARLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA

ZAVRŠNI RAD

Lara Brajica

Matični broj: 380

Split, rujan 2020.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY

CHEMISTRY

SELECTED SPECIES OF BROWN ALGAE FROM Dictyotaceae FAMILY: REVIEW ON STUDIES OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS

BACHELOR THESIS

Lara Brajica

Parent number: 380

Split, September 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija

Tema rada je prihvaćena na 28. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta

Mentor: Dr. sc. Marina Kranjac

ODABRANE VRSTE SMEĐIH ALGA PORODICE Dictyotaceae: PREGLED ISTRAŽIVANJA ISPARLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA

Lara Brajica, 380

Sažetak:

Alge čine raznoliku skupinu organizama te predstavljaju bogati izvor spojeva. U ovom radu je dan pregled istraživanja isparljivih organskih spojeva dviju smeđih morskih makroalga iz porodice Dictyotaceae: *Padina pavonica* i *Dictyopteris polypodioides*. Isparljivi spojevi identificirani u kemijskim profilima odabranih vrsta alga pripadaju različitim grupama organskih spojeva među kojima se mogu istaknuti C_8-spojevi, spojevi sa sumporom, viši alifatski alkoholi, terpeni, esteri, C_{11}-ugljikovodici, masne kiseline i aromatski spojevi. Pregledom literature glavni isparljivi spojevi identificirani u kromatografskim profilima alge *P. pavonica* su oktan-1-ol, oktanal, dimetil-sulfid, *trans*-fitol, pačidiktol A, (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol, heksadekan-1-ol, (*Z*,*Z*)-oktadeka-3,13-dien-1-ol, di-(2-etilheksil)-ftalat, benzil-acetat, benzil-formijat te palmitinska kiselina. Kod alge *D. polypodioides* glavni identificirani isparljivi spojevi su diktiopteren A, diktioptren B, diktiopteren C, diktiopteren D', undec-1-en-3-on, tribrommetan, 3-heksil-4,5-ditiacikloheptanon i albikanol. Za izolaciju isparljivih organskih spojeva najčešće je korištena hidrodestilacija (HD), a navedene su i druge metode kao što su istovremena destilacija-ekstrakcija (SDE), mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), superkritična ekstrakcija fluidima (SFE) i hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima (FMA-HD). Svi izolati isparljivih spojeva odabranih vrsta makroalga analizirani su uglavnom primjenom plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS). Unutar iste vrste morskih makroalga uočene su razlike u kemijskom sastavu isparljivih organskih spojeva što se može pripisati primijenjenoj metodi izolacije, kao i genetskim čimbenicima populacije ili različitim uvjetima u morskim staništima.

Ključne riječi: morske makroalge, porodica Dictyotaceae, *Padina pavonica, Dictyopteris polypodioides,* isparljivi organski spojevi

Rad sadrži: 26 stranica, 9 slika, 2 tablice, 36 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Prof. dr. sc. Igor Jerković - predsjednik
2. Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović - član
3. Dr. sc. Marina Kranjac, znanstvena suradnica - član - mentor

Datum obrane: 07. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR

THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology
Undergraduate study of Chemistry
Scientific area: Natural Sciences
Scientific field: Chemistry

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28
Mentor: Marina Kranjac, PhD
Pomoć pri izradi:

SELECTED SPECIES OF BROWN ALGAE FROM Dictyotaceae FAMILY: REVIEW ON STUDIES OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS

Lara Brajica, 380

Abstract:

Algae form a diverse group of organisms and represent rich source of compounds. This study represents rieview on studies of volatile organic compounds of two brown seaweeds from the family Dictyotaceae: *Padina pavonica* and *Dictyopteris polypodioides*. Volatile organic compounds identified in chemical profiles of selected species of algae belong to different groups of organic compounds among which C_8-compounds, sulphur compounds, higher aliphatic alcohols, terpenes, esters, C_{11}- hydrocarbons, fatty acids and aromatic compounds can be highlighted. According to literature the main compounds identified in chromatographic profiles of alga *P. pavonica* were octan-1-ol, octanal, dimethyl sulfide, *trans*-phytol, pachydictol A, (*Z*)-octadec-9-en-1-ol, hexadecan-1-ol, (*Z*,*Z*)-octadeca-3,13-dien-1-ol, di-2-(ethylhexyl)-phthalate, benzyl acetate, benzyl formate and palmitic acid. The main volatile compounds identified in the alga *D. polypodioides* are dictyopterene A, dictyopterene B, dictyopterene C, dictyopterene D', undec-1-en-3-on, tribromomethane, 3-hexyl-4,5-dithiacycloheptanone and albicanol. The most commonly used method for isolation of volatile organic compounds was hydrodistillation (HD), and also other methods were reported such as simultaneous distillation-extraction (SDE), headspace solid-phase microextraction (HS-SPME), supercritical fluid extraction (SFE) and focused microwave-assisted hydrodistillation (FMA-HD). The exctracts of volatile organic compounds of selected algal species were analysed mainly by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). Differences in chemical composition of volatile organic compounds were observed within the same species of seaweeds, which can be atribbuted to extraction method used, genetical factors of the populations or to different conditions of the habitats.

Keywords: marine macroalgae, family Dictyotaceae, *Padina pavonica*, *Dictyopteris polypodioides*, volatile organic compounds

Thesis contains: 26 pages, 9 figures, 2 tables, 36 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Igor Jerković, PhD, full prof. - chair person
2. Zvonimir Marijanović, PhD, assist. prof. - member
3. Marina Kranjac, PhD, research associate - supervisor

Defence date: September 7th 2020.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom dr. sc. Marine Kranjac, u razdoblju od svibnja do rujna 2020. godine.

Od srca zahvaljujem svojoj mentorici, dr. sc. Marini Kranjac na ukazanom povjerenju, trudu i pomoći tijekom pisanja ovog završnog rada.

Isto tako zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na podršci koju su mi pružili tijekom cijelog školovanja i bili uz mene.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Pregledati znanstvenu literaturu vezanu za istraživanja isparljivih organskih spojeva odabranih vrsta smeđih alga iz porodice Dictyotaceae *Padina pavonica* i *Dictyopteris polypodioides*.
- Dati pregled isparljivih organskih spojeva odabranih vrsta smeđih makroalga i navesti metode koje su primijenjene za izolaciju isparljivih organskih spojeva.
- Navesti glavne organske spojeve identificirane u kemijskim profilima isparljivih spojeva odabranih vrsta makroalga.
- Prikazati strukture glavnih organskih spojeva identificiranih u kemijskim profilima isparljivih spojeva odabranih vrsta makroalga.

SAŽETAK

Alge čine raznoliku skupinu organizama te predstavljaju bogati izvor spojeva. U ovom radu je dan pregled istraživanja isparljivih organskih spojeva dviju smeđih morskih makroalga iz porodice Dictyotaceae: *Padina pavonica* i *Dictyopteris polypodioides*. Isparljivi spojevi identificirani u kemijskim profilima odabranih vrsta alga pripadaju različitim grupama organskih spojeva među kojima se mogu istaknuti C_8-spojevi, spojevi sa sumporom, viši alifatski alkoholi, terpeni, esteri, C_{11}-ugljikovodici, masne kiseline i aromatski spojevi. Pregledom literature glavni isparljivi spojevi identificirani u kromatografskim profilima alge *P. pavonica* su oktan-1-ol, oktanal, dimetil-sulfid, *trans*-fitol, pačidiktol A, (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol, heksadekan-1-ol, (*Z,Z*)-oktadeka-3,13-dien-1-ol, di-(2-etilheksil)-ftalat, benzil-acetat, benzil-formijat te palmitinska kiselina. Kod alge *D. polypodioides* glavni identificirani isparljivi spojevi su diktiopteren A, diktiopteren B, diktiopteren C, diktiopteren D', undec-1-en-3-on, tribrommetan, 3-heksil-4,5-ditiaciklohеptanon i albikanol. Za izolaciju isparljivih organskih spojeva najčešće je korištena hidrodestilacija (HD), a navedene su i druge metode kao što su istovremena destilacija-ekstrakcija (SDE), mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), superkritična ekstrakcija fluidima (SFE) i hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima (FMA-HD). Svi izolati isparljivih spojeva odabranih vrsta makroalga analizirani su uglavnom primjenom plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS). Unutar iste vrste morskih makroalga uočene su razlike u kemijskom sastavu isparljivih organskih spojeva što se može pripisati primijenjonoj metodi izolacije, kao i genetskim čimbenicima populacije ili različitim uvjetima u morskim staništima.

Ključne riječi: morske makroalge, porodica Dictyotaceae, *Padina pavonica, Dictyopteris polypodioides,* isparljivi organski spojevi

SUMMARY

Algae form a diverse group of organisms and represent rich source of compounds. This study represents rieview on studies of volatile organic compounds of two brown seaweeds from the family Dictyotaceae: *Padina pavonica* and *Dictyopteris polypodioides*. Volatile organic compounds identified in chemical profiles of selected species of algae belong to different groups of organic compounds among which C_8-compounds, sulphur compounds, higher aliphatic alcohols, terpenes, esters, C_{11}-hydrocarbons, fatty acids and aromatic compounds can be highlighted. According to literature the main compounds identified in chromatographic profiles of alga *P. pavonica* were octan-1-ol, octanal, dimethyl sulfide, *trans*-phytol, pachydictol A, (*Z*)-octadec-9-en-1-ol, hexadecan-1-ol, (*Z,Z*)-octadeca-3,13-dien-1-ol, di-2-(ethylhexyl)-phthalate, benzyl acetate, benzyl formate and palmitic acid. The main volatile compounds identified in the alga *D. polypodioides* are dictyopterene A, dictyopterene B, dictyopterene C, dictyopterene D', undec-1-en-3-on, tribromomethane, 3-hexyl-4,5-dithiacycloheptanone and albicanol. The most commonly used method for isolation of volatile organic compounds was hydrodistillation (HD), and also other methods were reported such as simultaneous distillation-extraction (SDE), headspace solid-phase microextraction (HS-SPME), supercritical fluid extraction (SFE) and focused microwave-assisted hydrodistillation (FMA-HD). The extracts of volatile organic compounds of selected algal species were analysed mainly by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). Differences in chemical composition of volatile organic compounds were observed within the same species of seaweeds, which can be atribbuted to extraction method used, genetical factors of the populations or to different conditions of the habitats.

Keywords: marine macroalgae, family Dictyotaceae, *Padina pavonica, Dictyopteris polypodioides,* volatile organic compounds

SADRŽAJ

UVOD 1

1. OPĆI DIO 2

1.1. Morske alge 2

1.1.1. Smeđe alge (Phaeophyceae) 3

1.1.1.1. *Padina pavonica* 3

1.1.1.2. *Dictyopteris polypodioides* 4

1.2. Kemijski sastav morskih alga 5

1.3. Istraživanje isparljivih spojeva morskih alga 7

1.3.1. Isparljivi organski spojevi odabranih vrsta alga porodice Dictyotaceae 9

1.3.1.1. Isparljivi spojevi alge *Padina pavonica* 9

1.3.1.2. Isparljivi spojevi alge *Dictyopteris polypodioides* 16

2. ZAKLJUČAK 21

3. LITERATURA 23

UVOD

Morski okoliš, u kojem se nalazi mnoštvo organizama, predstavlja nedovoljno iskorišten biološki resurs.[1] Poznato je da se morske alge u azijskim zemljama tradicionalno koriste kao hrana. Danas je korištenje morskih alga kao hrane, posebice kao začina i delicija, raširenо i u zapadnim zemljama kako zbog promjene životnog stila tako i prehrambenih navika.[2] Velika biološka raznolikost vrsta makro- i mikroalga, zajedno sa specifičnim staništima koja nasaljevaju, čine ih predmetom interesa za istraživanje biološki aktivnih spojeva.[1] U literaturi se morske makro- i mikroalge navode kao izvori biološki aktivnih spojeva koji svoju primjenu nalaze kao sastojci funkcionalne hrane[1], te u proizvodnji farmaceutskih i medicinskih proizvoda.[2] U makroalgama je identificirano gotovo 3000 spojeva, a više od 1140 sekundarnih metabolita je identificirano u smeđim algama.[3] Smeđe alge oslobađaju isparljive spojeve koji pripadaju različitim grupama organskih spojeva kao što su alifatski i aromatski ugljikovodici, kiseline, esteri, fenoli, alkoholi, aldehidi, ketoni i terpeni.[4] Terpeni predstavljaju glavnu grupu spojeva u isparljivim uljima makroalga.[5] Isparljivi spojevi makroalga imaju važnu ulogu u kemijskoj komunikaciji u morskom ekosustavu.[6] Općenito, isparljivi organski spojevi (engl. *volatile organic compounds*, VOCs) su spojevi male molekulske mase, te niske do umjerene hidrofilnosti.[7] Među isparljivim spojevima se često nalaze biološki aktivni spojevi.[8]

Ovaj rad daje pregled dosadašnjih znanstvenih istraživanja isparljivih organskih spojeva odabranih vrsta smeđih alga porodice Dictyotaceae. Za istraživanje su odabrane dvije vrste morskih makroalga *Padina pavonica* i *Dictyopteris polypodioides.* Navedene vrste alga pripadaju različitim rodovima porodice Dictyotaceae i rasprostranjene su u Sredozemnom i Jadranskom moru. *P. pavonica* je široko rasprostranjena vrsta u Jadranskom moru.[9] Smeđe alge roda *Dictyopteris* spadaju među nekoliko mirisnih vrsta makroalga i zanimljive su zbog karakterističnog mirisa koji podsjeća na "miris oceana".[10] Karakteristični "miris oceana" osobito potječe od acikličkih i cikličkih neizoprenoidnih C_{11}-ugljikovodika koji djeluju kao feromoni i imaju važnu ulogu u kemijskoj komunikaciji.[11]

Cilj ovog rada je dati pregled isparljivih organskih spojeva, s naglaskom na najzastupljenije spojeve i grupe spojeva identificirane u kemijskim profilima odabranih

vrsta smeđih alga. Također, u radu su istaknute metode koje su primijenjene za izolaciju i identifikaciju isparljivih organskih spojeva u svrhu dobivanja isparljivih izolata, tj. isparljvih ulja, destilata i ekstrakata. Ovaj rad doprinosi poznavanju kemijske raznolikosti odabranih vrsta morskih makroalga koje se mogu pronaći u Jadranskom moru i predstavlja vrijedan literaturni pregled koji može poslužiti za buduća istraživanja.

1. OPĆI DIO

1.1. Morske alge

Alge čine raznoliku skupinu organizama, kako zbog svoje stanične strukture, različitih morfotipova, tako i zbog različitih dimenzija koje sežu od nekoliko centimetara do nekoliko desetaka metara.[2] Morske alge žive od dubina, na kojima još dobivaju dovoljno svjetlosti za fotosintezu, pa sve do kopna, odnosno do supralitoralnog pojasa (pojasa raspršivanja). U Sredozemnom moru granica do koje alge rastu je na dubini oko 200 metara. U moru prevladavaju jednostanične alge, koji su važan sastavni dio planktona i vrlo su važne kao primarni proizvođači hrane i kisika u procesu fotosinteze. Nazivamo ih i fitoplankton. Većina ostalih fotosintetskih organizama u moru pripada među bentonske makroalge. Alge se razlikuju po osnovnoj boji koja je svojstvena za pojedinu skupinu. Boje ovise o pigmentima u staničnim organelima koji se zovu plastidi i u kojima se odvija fotositeza. Sistematsko svrstavanje alga u pojedine razrede temelji se na razlikama u fotosintetskim plastidnim pigmentima. Glavni su razredi makrobentonskih alga: **zelene alge** (Chlorophyceae), **smeđe alge** (Phaeophyceae) i **crvene alge** (Rhodophyceae).[12]

Tijelo makrobentonskih alga zove se steljka ili talus. Steljke mogu biti različitih oblika i dijelimo ih na nitaste, vrpčaste, cjevaste, plosnate, grmolike, valjkaste, i okruglaste. Steljke imaju izrasline slične korijenju. Riječ je o rizoidima pomoću kojih se alge ukopavaju u podlogu, no nemaju razvijen sustav za crpljenje vode i hrane iz podloge. Dijelovi steljki slični lišću nazivaju se filoidi, a dijelovi slični stabljici kauloidi. Iz kauloidnog dijela steljke izrasta jedan ili više glavnih izdanaka. Ti se izdanci mogu različito razrasti i upravo je oblik njihova razrasta jedan od znakova za određivanje alga. Životna je dob alga od jedne do više godina. Pritom razlikujemo razdoblje rasta, razdoblje

razmnožavanja i razdoblje mirovanja. Većinom se pojavljuju sezonski i žive od nekoliko dana do nekoliko mjeseci.[12]

1.1.1. Smeđe alge (Phaeophyceae)

Phaeophyceae ili smeđe alge zastupljene su s oko 240 rodova i preko 1500 vrsta od kojih su 99,7% morske alge. Smeđe alge se obično razvijaju pričvršćene za stijene, ali također mogu biti pričvršćene i za nasipe, mekušce koji su i sami pričvršćeni za obalu, morske trave ili čak druge morske alge. Ove višestanične alge sadrže smeđi pigment, fukoksantin koji je odgovoran za njihovu karakterističnu smeđu boju po kojoj su dobile naziv smeđe alge. Fukoksantin je prisutan u velikoj količini i prekriva zelenu boju klorofilā. Ostali pigmenti uključuju klorofil *a*, klorofil *c*, β-karoten, violaksantin, flavoksantin i dr. Fotosintetski produkti su polisaharidi, masti, veoma male količine jednostavnih šećera i alkoholi.[13]

1.1.1.1. *Padina pavonica*

Padina pavonica, hrvatskog naziva paunov rep, pripada razredu Phaeophyceae, redu Dictyotales, *porodici* Dictyotaceae.[14] Steljka je plosnata i građena od više krpastih dijelova. Pričvršćena je za podlogu pomoću kratke peteljke, a prema vrhu se širi u obliku lijevka i završava uskim rubom.[12] Na rubu alge vidljivi su paperjasti produžeci. Površina joj je sluzava.[14]



Slika 1. Smeđa alga *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy, 1960
(Lokacija, dubina: Viška luka, 1 m; Fotografirao: Donat Petricioli)

Mekana steljka bijele do svjetlosmeđe boje visoka je do 150 mm i gotovo jednako toliko široka. Na cijelom talusu s obje površine ima karakteristične koncentrične tamne smeđe pruge u kojima se razvijaju organi za razmnožavanje.[12,15] Nalazimo je tijekom cijele godine na dobro osvijetljenim mjestima od donjeg pojasa plime i oseke pa do kraja obalnog pojasa.[12] Nalazi se obično u većim skupinama u rasponu dubina od 1 m do 25 m.[12,15]

Padina pavonica (Linnaeus) Thivy, 1960 (Slika 1.) je karakterističnog oblika talusa i boje te ju je teško zamijeniti s nekom drugom vrstom.[15] Ona je kozmopolitska vrsta, te se osim u Jadranskom moru, nalazi i u svim drugim morima i oceanima.[16]

1.1.1.2. *Dictyopteris polypodioides*

Rod *Dictyopteris* je važna skupina morskih makroalga i široko je rasprostranjena u tropskim, suptropskim i umjerenim područjima.[10] Smeđa alga *Dictyopteris polypodioides* je jedina vrsta iz roda *Dictyopteris* koja živi u Sredozemnom moru.[17] *Dictyopteris polypodioides*, poznata i po taksonomskom sinonimu *Dictyopteris membranacea*,[10] pripada razredu Phaeophyceae, redu Dictyotales, porodici Dictyotaceae.[18] Uzorak svježe alge *Dictyopteris polypodioides* (A.P.De Candolle) J.V.Lamouroux 1809 je prikazan na slici 2.



Slika 2. Uzorak svježe alge *Dictyopteris polypodioides* (A.P.De Candolle) J.V.Lamouroux 1809
(Lokacija, dubina: Čiovo, 2 m)

Steljka je u obliku vrpce, smeđa do maslinasto zelena, rašljasto razrasla i visoka do 200 mm. Grananje je dihotomno i nepravilno, a nove grane se regeneriraju pri dnu alge, blizu mjesta gdje je alga pričvršćena za morsko dno. Vrpce su gotovo jednolike širine po cijeloj dužini i zaobljene su na krajevima.[19] Po sredini vrpci, širokih do 10 mm, teku jaka središnja rebra koja su tamna i istaknuta te omogućuju jednostavnu identifikaciju vrste.[12,19] Na površini alge mogu se vidjeti tamne točkice.[19]

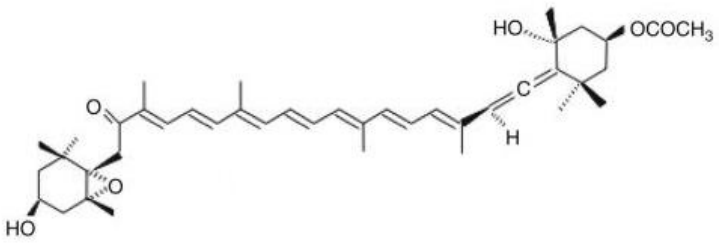
Smeđa alga *Dictyopteris polypodioides* naseljava stjenovita mjesta gornjeg obalnog pojasa, a pojedini grmići se mogu naći i dublje. Obično se nalazi u rasponu dubina od 3 do 25 m.[12] Rasprostranjena je u Južnoj Americi (Brazil), Atlantskim otocima, Sjevernoj Americi, Karipskim otocima, Africi, Aziji i Europi.[10]

1.2. Kemijski sastav morskih alga

Morske makroalge imaju visoku nutritivnu vrijednost zbog svog kemijskog sastava i pridonose nutrijentima (hranjivim tvarima) potrebnim za ljudski organizam kao što su proteini, minerali i vitamini. Također, morske makroalge sadrže bioaktivne sekundarne metabolite i mnoge druge spojeve koji imaju pozitivan učinak na zdravlje. Kemijski sastav morskih algi je promjenjiv te ovisi o vrsti, vremenu sakupljanja, geografskom staništu i mnogim vanjskim čimbenicima kao što su temperatura vode, intenzitet svijetla i koncentracija hranjivih tvari u vodi. Uobičajeno je da unutar istog roda morskih makroalga postoji velika razlika u kemijskom sastavu.[2]

Proteini su važni i esencijalni faktori nutritivne vrijednosti hrane.[2] Općenito se za crvene i zelene morske alge navodi da imaju relativno visoku koncentraciju proteina i prosjek doseže 10-30% suhe tvari. S druge strane, kod smeđih morskih alga sadržaj proteina je obično nizak i iznosi 5-15%.[2] Poznato je da su morske makroalge značajan izvor minerala zbog njihove sposobnosti da apsorbiraju anorganske tvari iz okoline.[2] Sadržaj minerala u morskim makroalgama je općenito visok i kreće se između 8-40%. Minerali uključuju natrij, kalcij, magnezij, kalij, klor, sumpor i fosfor.[20] Alge imaju visok udio joda, a najzastupljeniji je u smeđim algama.[21] U staničnim stijenkama nalaze se polisaharidi s kojima se povezuje sposobnost alga da apsorbiraju minerale. Polisaharidi imaju i ekonomski značaj. Agar i karagenan iz crvenih morskih algi i alginati iz smeđih alga koriste se u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji te u medicini i farmaciji. Polisaharidi iz morskih makroalga imaju važnu ulogu kao dijetalna vlakna.[2]

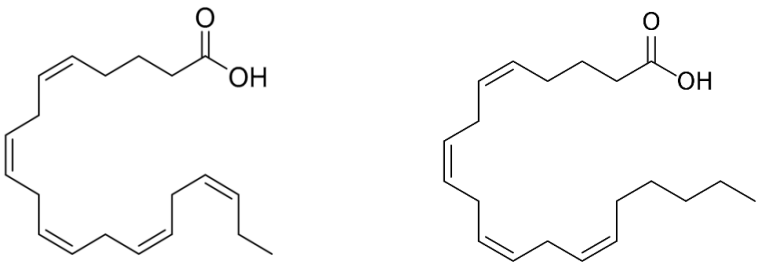
Morske makroalge su značajan izvor nekih vodotopljivih vitamina i vitamina topljivih u mastima.[2] Vitamini topljivi u vodi u morskim makroalgama predstavljeni su vitaminom C i vitaminima iz skupine B, osobito vitaminima B_1, B_2 i B_{12}. Zbog obilne količine L-askorbinske kiseline, biološki aktivnog oblika vitamina C, morske su se alge dugo vremena koristile u prevenciji skorbuta. Prema literaturi, neke zelene i smeđe morske makroalge sadrže visoke količine vitamina C – u prosjeku između 500 i 3000 mg kg^{-1} suhe tvari. Većina crvenih i smeđih makroalga sadrži druge vodotopljive vitamine iz skupine B i to uglavnom tiamin (B_1) i riboflavin (B_2). Morske makralge su značajan izvor vitamina E, kao i karotenoida. Vitamin E, vitamin topljiv u mastima, ima jaku antioksidacijsku aktivnost, a veće količine se nalaze u smeđim, nego u zelenim i crvenim morskim makroalgama. Karotenoidi predstavljaju pigmente koji algama, uz klorofil, daju karakterističnu boju. Karotenoidi su također veoma jaki oksidansi. Karotenoidi fukoksantin, β-karoten i violaksantin su pronađeni u smeđim morskim makroalgama. Glavni karotenoidi crvenih morskih algi su α- i β-karoten i njihovi derivati kao što su zeaksantin i lutein. Zelene alge imaju sličan sastav karotenoida kao više biljke.[2] Boja zelenih makroalga potječe od klorofila a i b u jednakom omjeru, β-karotena i različitih karakterističnih ksantofila.[20] Fukoksantin je glavni karotenoid u smeđim makroalgama, koji ima dokazane pozitivne učinke na zdravlje.[2] Kemijska struktura fukoksantina je prikazana na slici 3.



Slika 3. Fukoksantin- glavni karotenoid smeđih alga

Lipidi su u morskim makroalgama prisutni u vrlo malim količinama, između 1 i 5 % suhe tvari. Međutim, to su uglavnom višestruko nezasićene ω-3 i ω-6 masne kiseline. Crvene i smeđe makroalge pretežno sadrže višestruko nezasićene masne kiseline s 20 ugljikovih atoma i to eikosapentaensku kiselinu (EPA, ω-3, $C_{20:5}$) i arahidonsku kiselinu (AA, ω -6, $C_{20:4}$).[2]

Kemijske strukture EPA i AA su prikazane na slici 4.



a **b**

Slika 4. Kemijske strukture: a) eikosa-5,8,11,14,17-pentaenska kiselina (**EPA**) i b) - eikosa-5,8,11,14-tetraenska kiselina **(**arahidonska kiselina, **AA**)

1.3. Istraživanje isparljivih spojeva morskih alga

U posljednje vrijeme objavljen je sve veći broj istraživanja isparljivih spojeva podrijetlom iz nearomatičnog bilja i morskih alga. Primjenom plinske kromatografije – spektrometrije masa (engl. *gas chromatography-mass spectrometry*, GC-MS) i drugih tehnika identificirano je stotine spojeva. Neki od identificiranih isparljivih spojeva karakteristični su za odgovarajući organizam, a podaci o sastavu isparljivih spojeva srodnih organizama mogu biti korisni za taksonomska istraživanja.[8] Isparljivi spojevi makroalga u morskom ekosustavu mogu djelovati kao alelokemikalije, feromoni, atraktanti, zaštita od predatora, te inhibitori bakterija, kvasaca i plijesni.[6,8] Pored cikličkih i acikličkih terpena, u isparljivim uljima makroalga identificirani su benzaldehid, fenol, *p*-krezol, organske kiseline, alkoholi, aldehidi, amini, ketoni, spojevi sa sumporom i halogenirani spojevi.[5] Halogenirani ugljikovodici su uobičajeni spojevi u sastavu isparljivih spojeva morskih alga.[22] Crvene alge su impresivni proizvođači halogeniranih spojeva. Preko 90% spojeva identificiranih u crvenim algama sadrže brom ili klor, u usporedbi sa samo 7% takvih spojeva identificiranih u zelenim algama i manje od 1% u smeđim algama. U smeđim algama identificirani su C_{11}-ugljikovodici, spojevi sa sumporom, te niz diterpena. Mnoštvo C_8- i C_{11}-ugljikovodika je identificirano u smeđim algama rodova *Dictyopteris, Ectocarpus i Cutleria*. Navedeni metaboliti su često važni za reprodukciju algi, djeluju kao feromoni, te kemotaktični agensi. Linearne su i nerazgranate strukture, cikličke ili acikličke, te različitog stupnja nezasićenosti.[23] Karakterističan primjer spoja iz smeđih alga je diktiopteren C, koji ima ulogu feromona.[24]

Selinan i kadinan su dva glavna strukturna tipa seskviterpena identificirana u smeđim algama.[25]

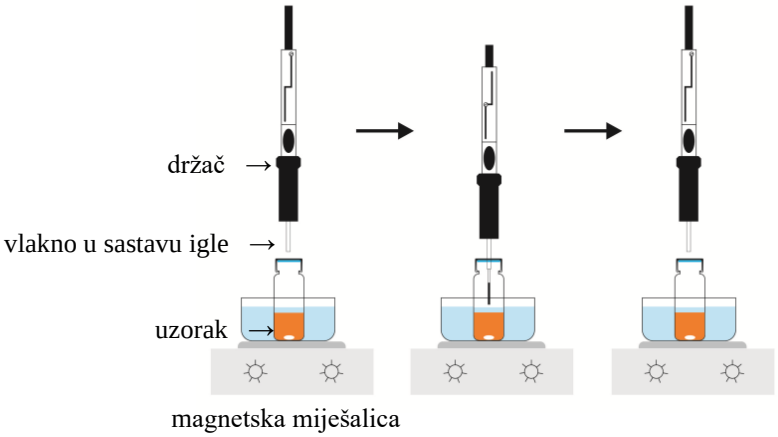
Gotovo trećina kemijskih spojeva identificiranih u smeđim algama potječe iz roda *Dictyota*, koji otkriva mnoštvo terpena. Drugi rod porodice Dictyotaceae, *Dictyopteris*, proizvodi C_{11}-cikličke ili acikličke spojeve koji se biosintetski izvode iz viših masnih kiselina. Primjeri uključuju ugljikovodike diktiopteren A i diktopteren D' koji također imaju ulogu feromona.[3] Ovi spojevi su kratkog životnog vijeka i lako podliježu oksidativnoj degradaciji pri čemu nastaju spojevi kao što su diktioprolen i dihidrotropon. Navedeni razgradni produkti imaju ulogu u kemijskoj obrani.[3]

Kemijski profil isparljivih spojeva različitih vrsta morskih makroalga može se veoma razlikovati.[26] Isparljivi spojevi pronađeni u morskim makroalgama ovise o vrsti, okolišnim uvjetima, geografskom podrijetlu vrste, procesu predobrade uzoraka kao što je sušenje, te o primijenjenoj metodi izolacije isparljivih spojeva.[6,26] Cilj izolacije isparljivih spojeva iz makroalga je dobivanje aromatskog profila vrste iz svježih ili predobrađenih uzoraka.[27] Za izolaciju isparljivih organskih spojeva iz morskih alga u literaturi se mogu pronaći različite metode kao što su ekstrakcija s otapalom (engl. *solvent extraction*, SE), destilacija s vodenom parom ili parna destilacija (engl. *steam distillation*, SD),[11,28] hidrodestilacija (engl. *hydrodistillation*, HD), hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima (engl. *focused microwave-assisted hydrodistillation*, FMA-HD), mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *headspace solid-phase microextraction*, HS-SPME), dinamička i statička izolacija vršnih para (engl. *static and dynamic headspace extraction*, SHE and DHE), istovremena destilacija-ekstrakcija (engl. *simultaneous distillation-extraction*, SDE), superkritična ekstrakcija fluidima (engl. *supercritical fluid extraction*, SFE), tlačna ekstrakcija otapalom (engl. *pressurized solvent extraction*, PSE) te višestruka sorpcijska ekstrakcija vršnih para (engl. *multiple headspace sorptive extraction*, MHSSE).[27,29] Isparljivi spojevi izolirani iz morskih alga obično se analiziraju vezanim sustavom plinska kromatografija – spektrometrija masa (GC-MS).

1.3.1. Isparljivi organski spojevi odabranih vrsta alga porodice Dictyotaceae

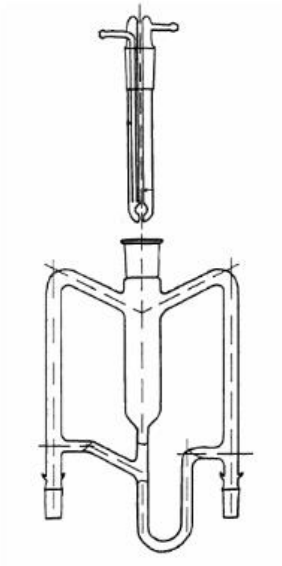
1.3.1.1. Isparljivi spojevi alge *Padina pavonica*

Isparljivi spojevi makroalge *Padina pavonica* predstavljaju složene smjese spojeva, od kojih neki spojevi mogu imati obrambenu ulogu.[8] Jerković i suradnici[9] su po prvi put istražili kemijski sastav vršnih para svježih uzoraka alge *P. pavonica* iz Jadranskog mora primjenom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME). Kod mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi uzorak se nalazi u hermetički zatvorenoj bočici, tzv. vijalici, a isparljivi spojevi se sakupljaju u praznom prostoru iznad uzorka.[30] Ova tehnika koristi silikonsko vlakno prekriveno polimernim filmom za ekstrakciju isparljivih spojeva iz uzoraka.[31] Odabirom najpogodnijeg vlakna utječe se na ekstrakciju spojeva različitih veličina, polarnosti i isparljivosti.[30] Za izolaciju isparljivih spojeva alge *P. pavonica* su upotrijebljena dva vlakna različite polarnosti polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) i divinilbenzen/ karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS).[9] Na slici 5 su shematski prikazani koraci mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi, koji uključuju bušenje septe na bočici i uvođenje vlakna u sastavu igle u vršne pare iznad uzorka, izlaganje SPME vlakna i ekstrakciju isparljivih spojeva te povlačenje vlakna u iglu.



Slika 5. Metoda izolacije isparljivih spojeva iz alga: Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (preuzeto i prilagođeno iz M. Kranjac)[30]

Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) predstavlja pogodnu metodu za istraživanje niskomolekularnih i lakoisparljivih spojeva vršnih para, dok je hidrodestilacija (HD) pogodna za izolaciju isparljivih i poluisparljivih spojeva. Primijećena je znatna razlika u kemijskom sastavu vršnih para i isparljivog ulja. Tako, glavni spojevi identificirani u vršnim parama su oktan-1-ol, oktanal i dimetil-sulfid (DMS), dok ulje sadrži većinom više alifatske alkohole, *trans*-fitol i pačidiktol A. Oktan-1-ol, oktanal i dimetil-sulfid se po prvi put navode za ovu vrstu alge, a identificirani su samo u vršnim parama. Međutim, C_8-ugljikovodici su prethodno identificirani u raznim vrstama morskih alga. DMS, lako isparljivi organosumporni spoj, služi kao kemoatraktnant za fitoplankton, bakterije, zooplankton, ribe i morske ptice.[9] U ranijem istraživanju isparljivih spojeva alge *P. pavonica* iz Jadranskog mora, primijenjena je metoda istovremene destilacije-ekstrakcije na toleuenski ekstrakt suhe alge. Isparljivi spojevi su iz destilata ekstrahirani sa dietil-eterom[8], a GC-MS analizom su u nižim postotcima identificirana tri spoja sa sumporom (metiletil-disulfid, dietil-disulfid i benzotiazol), ali ne i DMS. (*E*)-β-Farnezen je glavni seskviterpen identificiran u vršnim parama alge, a potom slijede β-bisabolen, α-farnezen i *cis*- i *trans*-kalamenen.[9] U vršnim parama su identificirani i diktopteren A i diktiopterena D', ali u niskim postotcima. U niskom postotku je identificiran i benzaldehid[9], a prethodno je identificiran nakon primjene SDE toluenskog ekstrakta suhe alge *P. pavonica*.[8] Prethodno su C_{11}-ugljikovodici diktiopteren A i D identificirani po prvi put u ovoj algi nakon primjene SDE u modificiranoj Likens-Nickerson aparaturi.[4] Likens i Nickerson su 1964. god. dizajnirali originalnu aparaturu za istovremenu destilaciju- ekstrakciju isparljivih spojeva (engl. *simultaneous distillation-extraction*, SDE), slika 6. Ova metoda omogućava izolaciju i koncentraciju isparljivih spojeva u jednom koraku, a zbog kontinuiranog recikliranja otapala i vode postižu se značajne uštede otapala. Danas postoje mnoge modifikacije ove originalne metode.[31]

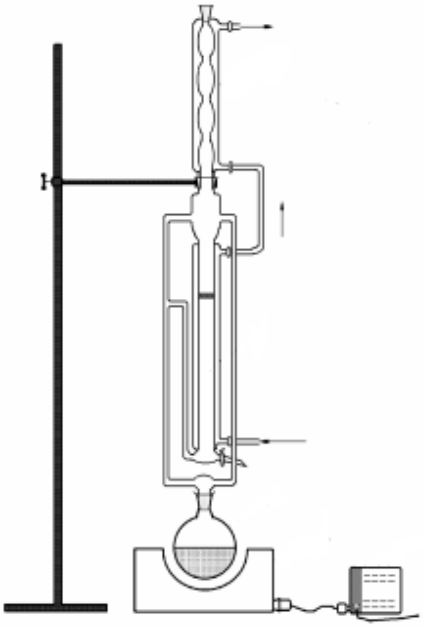


Slika 6. Metoda izolacije isparljivih spojeva iz alga: Likens-Nickerson aparatura za istovremenu destilaciju-ekstrakciju (preuzeto i prilagođeno iz I. Jerković)[31]

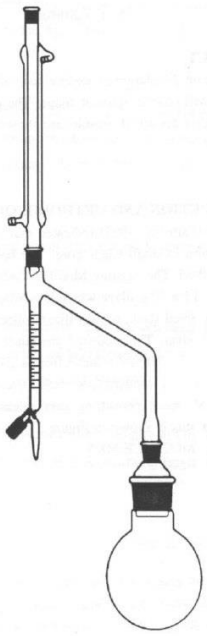
Jerković i suradnici[9] (2019) su za izolaciju isparljivog ulja alge *P. pavonica* primijenili hidrodestilaciju svježeg uzorka u modificiranoj aparaturi po Clevengeru. Za izolaciju isparljivih spojeva iz alga primjenom hidrodestilacije koriste se različite aparature kao što su aparatura po Clevengeru i Dean-Stark aparatura. Kod hidrodestilacije, tj. vodene destilacije zagrijana vodena para pospješuje isparavanje isparljivih organskih spojeva.[29] Sheme modificirane aparature po Clevengeru i modificirane Dean-Stark aparature za hidrodestilaciju su prikazane na slici 7. Glavni spojevi identificirani u isparljivom ulju alge su viši alifatski alkoholi: (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol, heksadekan-1-ol i (*Z,Z*)-oktadeka-3,13-dien-1-ol te u manjim postotcima tetradekan-1-ol, pentadekanal, heksadekan-2-on, pentadekan-1-ol, (*Z*)-heksadec-11-en-1-ol, (*E*)-heksadec-11-en-1-ol, oktadekanal i (*Z,Z*)-oktadeka-9,12-dien-1-ol. Uz *trans*-fitol i pačidiktol A, u manjem postotku je identificiran i izopačidiktol A. U isparljivom ulju su, u manjim postotcima identificirani i viši alifatski esteri, kao što su: metil-eikosa-5,8,11,14-tetraenoat, metil-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenoat i metil-eikosa-8,11,14,17-tetraenoat.[9] U ovoj algi su i u ranijim istraživanjima pronađeni viši esteri kao što su metil-eikosa-5,8,11,14-tetraenoat, metil-eikosa-5,8,11,14,17-tetraenoat te diterpen fitol.[4,9] U isparljivom ulju alge identificirano je i nekoliko seskviterpena: *trans*-α-bergamoten, epi-β-santalen, α-humulen, β-santalen, (*E*)-β-gvajen, β-bisabolen i (*E*)-α- bisabolen. Navedeni seskviterpeni, kao i dva diterpenska alkohola pačidiktol A i izopačidiktol A su pronađeni po prvi put u destilatu alge *P. pavonica*.[9] U usporedbi s prethodnim radovima

drugih autora postoji samo djelomična sličnost u kemijskim profilima isparljivih organskih spojeva alge *P. pavonica*.

a



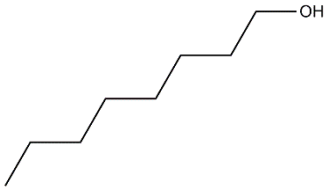
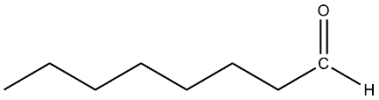
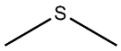
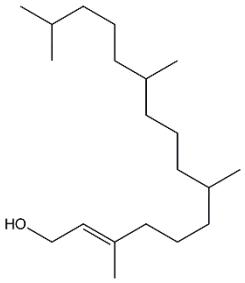
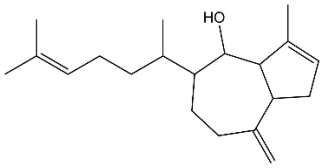
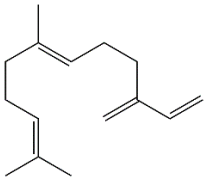
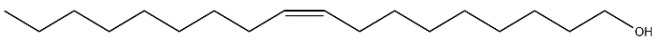
b

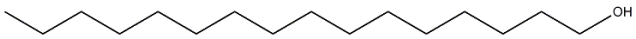
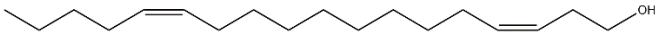
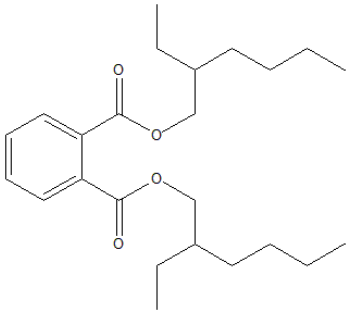
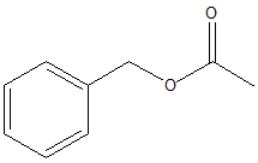
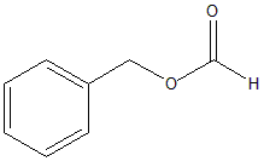
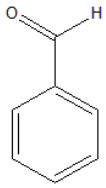
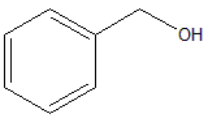
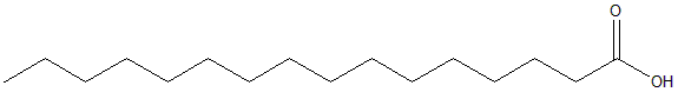


Slika 7. Različite aparature za hidrodestilaciju alga: a) modificirana aparatura po Clevengeru (preuzeto i prilagođeno iz M. Zekić)[32], b) modificirana Dean-Stark aparatura (preuzeto i prilagođeno iz N. T. Faithfull i V. Gressler i sur.)[29,33]

U istraživanju Awarda i suradnika[4] (2009) glavni spoj SDE izolata svježe alge *P. pavonica* iz Crvenog mora je di-(2-etilheksil)-ftalat. GC-MS analizom SDE izolata alge identificirana su 54 isparljiva spoja, a sastav isparljivih spojeva čine uglavnom esteri, ugljikovodici, alkoholi i masne kiseline.[4] Seskviterpenski spojevi β-kubeben, germakren D i santalol su pronađeni po prvi put u SDE izolatu alge *P. pavonica*, dok je u istraživanju Jerkovića i suradnika[9] (2019) nađeno nekoliko drugih seksviterpena. Također su u istraživanju Awarda i suradnika (2009) po prvi put u algi *P. pavonica* identificirani anetol i njegov izomer estragol.[4] Glavni spojevi identificirani nakon SDE toluenskog ekstrakta suhe alge *P. pavonica* iz Jadranskog mora su aromatski esteri benzil-acetat i benzil-formijat. Uz estere benzojeve kiseline u značajnom su postotku pronađeni biogenetski prekursori benzaldehid i benzil-alkohol. U isparljivoj frakciji smeđe alge *P. pavonica*, u većem postotku su identificirane i slobodne masne kiseline, te u nižim postotcima terpeni, fenoli i spojevi sa sumporom. Među identificiranim masnim kiselinama najzastupljenija je palmitinska kiselina.[8] Uz oleinsku kiselinu, palmitinska kiselina je u manjem postotku identificirana i u destilatu svježe alge *P. pavonica* iz Crvenog mora.[4] U literaturi se navodi da se antibiotska aktivnost nekih vrsta alga može pripisati sadržaju različitih organskih kiselina kao što su: kaprinska, laurinska, linolenska, miristinska, oleinska, palmitinska i stearinska kiselina.[8] 2-Formilbenzojeva kiselina je pronađena u niskom postotku u SDE izolatu toluenskog ekstrakta alge iz Jadranskog mora. Ova rijetka kiselina vjerojatno ima obrambenu ulogu, barem protiv određenih bakterija i gljivica. Identificirana su i dva fenola sa metilnom skupinom *o*-krezol i *p*-krezol. Takvi spojevi nedvojbeno imaju obrambenu ulogu budući da posjeduju antibakterijsku i antifugalnu aktivnost. U niskom postotku su identificirani uobičajeni terpeni morskih alga dihidroaktinidiolid i β-jonon.[8] U destilatu svježe alge Jerković i suradnici (2019) su identificirali C_{13}-norizoprenoid 3-okso-α-jonol.[9]

Tablica 1. Glavni organski spojevi identificirani u kemijskim profilima isparljivih i poluisparljivih spojeva alge *Padina pavonica*

Redni broj	**Naziv spoja**	**Struktura spoja**	**Metoda izolacije**
1.	oktan-1-ol		HS-SPME[9]
2.	oktanal		HS-SPME[9]
3.	dimetil-sulfid		HS-SPME[9]
4.	*trans*-fitol		HD[9]
5.	pačidiktol A		HD[9]
6.	(*E*)-β-farnezen		HS-SPME[9]
7.	(*Z*)-oktadec-9-en-1-ol		HD[9]

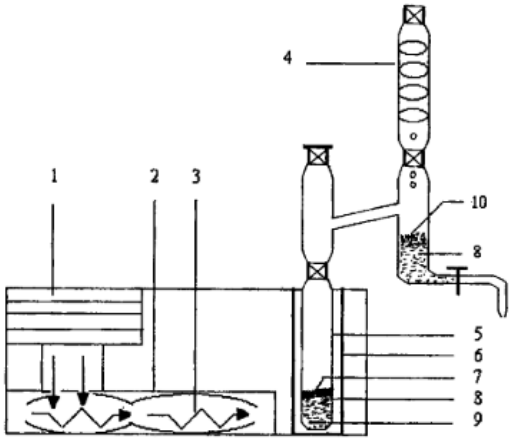
8.	heksadekan-1-ol		HD[9]
9.	(*Z*,*Z*)-oktadeka-3,13-dien-1-ol		HD[9]
10.	di-(2-etilheksil)-ftalat		SDE[4]
11.	benzil-acetat		SDE[8]
12.	benzil-formijat		SDE[8]
13.	benzaldehid		SDE[8]
14.	benzil-alkohol		SDE[8]
15.	palmitinska kiselina		SDE[8]

HS-SPME–mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi; HD–hidrodestilacija; SDE–istovremena destilacija-ekstrakcija

1.3.1.2. Isparljivi spojevi alge *Dictyopteris polypodioides*

Dictyopteris polypodioides je široko rasprostranjena vrsta. Međutim, kemijska i biološka istraživanja alge *D. polypodioides* odnose se uglavnom na uzorke iz Sredozemnog mora. Za ovu vrstu su opisana 83 spoja, a posebno se ističu tri grupe spojeva C_{11}-ugljikovodici, spojevi sa sumporom i terpeni.[10]

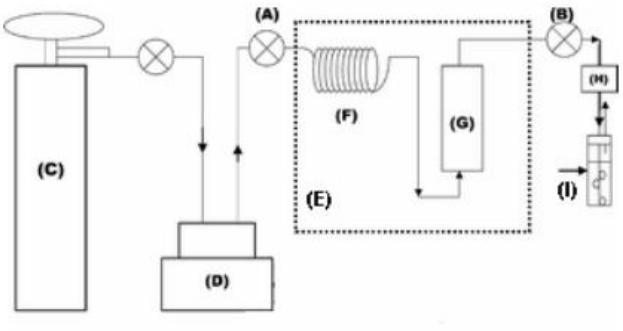
Prva istraživanja isparljivih spojeva alge *D. polypodioides* su proveli Boland i Müller (1987).[34] Uočene su značajne kvalitativne i kvantitativne razlike u sastavu isparljivih spojeva svježih uzoraka alga sa različitih morskih staništa. Spomenute razlike su pripisali genetskim čimbenicima populacije ili različitim uvjetima u morskim staništima.[10] Pored već poznatih glavnih spojeva (diktiopteren A, diktiopteren D', diktiopteren B, diktiopteren C) (Tablica 2.)[34], GC-MS analizom isparljivih spojeva alge po prvi put su identificirani undekan-3-on, diktioprolen, 4-((*E*)-heks-1-enil)ciklopenten i 6-((*E*)-but-1-enil)ciklohepta-2,5-dien.[34] Hattab i suradnici[11,35,36] (2020, 2002 i 2007) su istraživali isparljive spojeve suhih uzoraka alge *D. polypodioides*. Uz konvencionalnu metodu hidrodestilacije, za izolaciju isparljivog ulja alge sakupljene uz atlantsku obalu (Ujedinjeno Kraljevstvo) primijenjena je hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima (FMA-HD).[35] Navedene metode su primijenjene na kruti eterski ekstrakt suhe alge. Kod FMA-HD alga ili ekstrakt alge se miješa s vodom u Clevenger ili Dean-Stark aparaturi koja je povezana sa uređajem za mikrovalno zagrijavanje. Energija mikrovalova uzrokuje puno brže isparavanje isparljivih organskih spojeva u usporedbi sa uobičajenom hidrodestilacijom.[29] Shema FMA-HD sustava je prikazana na slici 8. GC-MS i GC-FID (plamenoionizacijski detektor engl. *flame ionization detector*, FID) analizom isparljivih ulja dobivenih primjenom HD i FMA-HD identificirana su 23 spoja. Glavnu grupu organskih spojeva u oba ulja čine C_{11}-ugljikovodici i derivati, među kojima su najzastupljeniji diktiopteren A i undec-1-en-3-on. U FMA-HD izolatu identificirani su halogenirani metaboliti tribrommetan (bromoform) i 8,8-dibromokt-5-enska kiselina. Prisustvo halogeniranih spojeva nije uobičajeno za smeđe alge, što se dijelom može objasniti niskom aktivnošću bromoperoksidaza.[10,35] Međutim, u literaturi se navode spojevi sa bromom za alge roda *Dyctiopteris*.[10] C_{11}-ugljikovodik diktiopteren C je glavni spoj isparljivog ulja suhih uzoraka alge *D. membranacea* iz Sredozemnog mora (Turska).[28]



Slika 8. Metoda izolacije isparljivih spojeva iz alga: hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima: (1) magnetron, (2) valovod, (3) usmjereni mikrovalovi, (4) hladilo, (5) pyrex tuba, (6) kvarcna tuba, (7) uzorak, (8) voda, (9) magnet za miješanje, (10) isparljivi spojevi (preuzeto i prilagođeno iz Hattab i sur.)[35]

U svom drugom istraživanju[36], Hattab i suradnici (2007) su za izolaciju isparljivih spojeva alge *D. polypodioides* iz Sredozemnog mora (Alžir) primijenili tri različite metode: hidrodestilaciju, hidrodestilaciju potpomognutu usmjerenim mikrovalovima i superkritičnu ekstrakciju fluidima (SFE). Isparljivi spojevi su izolirani iz krutog eterskog ekstrakta alge primjenom navedenih metoda.[36] SFE se temelji na povećanju moći otapanja fluida iznad njihove kritične točke. Većina SFE metoda za ekstrakciju koristi CO_2 zbog niske toksičnosti i kemijske inertnosti. Promjenom tlaka i temperature, kao procesnih parametara, mijenja se moć otapanja superkritičnog CO_2 (visokokomprimirani CO_2 ($t > t_k$ i $p > p_k$)), bez mijenjanja sastava otapala.[31] Za vrijeme SFE uzorak se postavlja u ekstrakcijsku posudu, superkritični fluid prolazi kroz uzorak, otapa spojeve od interesa i nosi ih u posudu za sakupljanje.[29,31] Kako bi se ostvario veći ekstrakcijski iscrpak potrebno je optimizirati tlak, temperaturu i vrijeme ekstrakcije.[29] Hattab i suradnici[36] su u svom istraživanju koristili sljedeće vrijednosti tlaka, temperature i vremena ekstrakcije: eksperimentalna temperatura: 40 °C, vrijeme ekstrakcije: 30 min i tlak: 91 i 104 bar.[29] Usporedbom rezultata GC-MS analize različitih izolata primjećene su razlike u kemijskom sastavu isparljivih spojeva ovisno o primijenjonoj metodi izolacije. Tako su C_{11}-ugljikovodici glavna grupa spojeva identificirana GC-MS analizom HD izolata. Kod primjene FMA-HD metode glavnu grupu spojeva čine seskviterpeni, dok su spojevi sa

sumporom najzastupljenija grupa spojeva u SFE izolatu.[36] Među C_{11}-ugljikovodicima identificiranim u HD izolatu najzastupljeniji je diktiopteren A. Spoj sa sumporom 3-heksil-4,5-ditiaciklohептanon predstavlja glavni spoj identificiran u SFE ekstraktu, dok je u FMA-HD izolatu najzastupljeniji seskviterpen albikanol. Strukture najzastupljenijih spojeva identificiranih u HD, SFE i FMA-HD izolatima prikazane su u tablici 2.

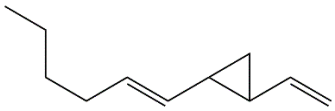
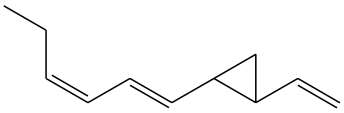
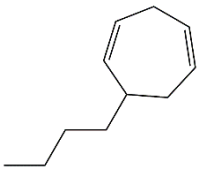
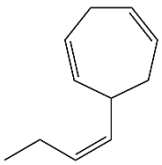


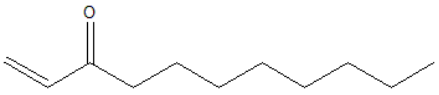
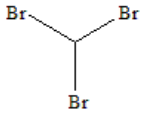
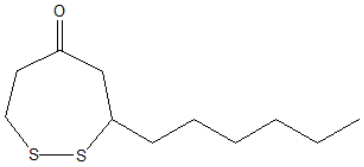
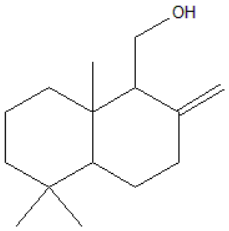
Slika 9. Metoda izolacije isparljivih spojeva iz alga: superkritična ekstrakcija s fluidima: A i B-ventili; C-spremnik plina, D-pumpa; E-peć; F-svitak za termičko ujednačavanje; G-ekstrakcijska posuda; H-termostat; I-posuda za sakupljanje (preuzeto i prilagođeno iz I. Jerković)[31]

U novijem istraživanju alge *D. polypodioides* s iste lokacije (Sredozemno more, Alžir) dana je usporedba kemijskog sastava i antibakterijske aktivnosti dva isparljiva izolata. Isparljiva frakcija (engl. *volatile fraction*, VF) je dobivena parnom destilacijom krutog eterskog ekstrakta, dok je eterično (isparljivo) ulje (engl. *essential oil*, EO) dobiveno hidrodestilacijom suhog uzorka alge. GC-MS analizom VF i EO dobiveni su različiti kromatografski profili. Glavne grupe spojeva identificirane u oba izolata (VF i EO) su C_{11}-ugljikovodici, terpeni, masne kiseline, spojevi sa sumporom, alkani i drugi. Glavni sastojci identificirani u oba isparljiva izolata su C_{11}-spoj sa sumporom 3-heksil-4,5-ditiaciklohептanon i diktiopteren A. Najzastupljeniju grupu spojeva identificiranu u EO alge čine spojevi sa sumporom u usporedbi sa svim drugim grupama organskih spojeva u oba izolata.[11] Sadržaj terpena je približno isti u oba izolata, dok su C_{11}-ugljikovodici važnija grupa spojeva u VF u usporedbi sa EO. Postotak masnih kiselina je veći u VF nego u EO. Također, ispitivanje antibakterijske aktivnosti izolata je pokazalo da je antibakterijska aktivnost EO prema svim testiranim mikroorganizmima veća u usporedbi sa VF. Jaka antibakterijska aktivnost EO alge se može povezati sa visokim

postotkom spojeva sa sumporom, poznatih po njihovom širokom spektru biološke aktivnosti.[11]

Tablica 2. Glavni organski spojevi identificirani u kemijskim profilima isparljivih i poluisparljivih spojeva alge *Dictyopteris polypodioides*

Redni broj	**Naziv spoja**	**Struktura spoja**	**Metoda izolacije**
1.	diktiopteren A		CLSA[34] SE, FMA-HD[35] HD[11,35,36] SE, HD[11,35,36] SE, SD[11]
2.	diktiopteren B		CLSA[34]
3.	diktiopteren C		CLSA[34] SE, FMA-HD[35] SD[28]
4.	diktiopteren D'		CLSA[34]

5.	undec-1-en-3-on		SE, HD[35] SE, FMA-HD[35]
6.	tribrommetan		SE, FMA-HD[35]
7.	3-heksil-4,5-ditiaciklohepta-non		SE,SFE[36] HD[11] SE, SD[11]
8.	albikanol		SE, FMA-HD[36]

CLSA–*closed-loop stripping* analiza; FMA-HD–hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima; HD–hidrodestilacija; SFE–superkritična ekstrakcija s fluidima; SD–destilacija s vodenom parom; SE–ekstrakcija s otapalom

2. ZAKLJUČAK

- Pregledom literature glavni spojevi identificirani u kromatografskim profilima isparljivih spojeva alge *Padina pavonica* su oktan-1-ol, oktanal i dimetil-sulfid (HS-SPME), (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol, heksadekan-1-ol i (*Z*,*Z*)-oktadeka-3,13-dien-1-ol, *trans*-fitol i pačidiktol A (HD), di-(2-etilheksil)-ftalat (SDE), benzil-acetat, benzil-formijat i palmitinska kiselina (SDE toluenskog ekstrakta).

- Pregledom literature glavni spojevi identificirani u kromatografskim profilima isparljivih spojeva alge *Dictyopteris polypodioides* su diktiopteren A, diktiopteren D', diktiopteren B, diktiopteren C (CLSA), diktiopteren A, undec-1-en-3-on (HD i FMA-HD), tribrommetan (FMA-HD), diktiopteren C (SD), diktiopteren A (HD), 3-heksil-4,5-ditiaciklohептanon (SFE), albikanol (FMA-HD), 3-heksil-4,5-ditiaciklohептanon i diktiopteren A (SD eterskog ekstrakta i HD).

- Za izolaciju isparljivih organskih spojeva odabranih vrsta makroalga porodice Dictyotaceae u literaturi se najčešće navodi metoda hidrodestilacije (HD), a koriste se i novije metode kao što su hidrodestilacija potpomognuta usmjerenim mikrovalovima (FMA-HD), mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) te superkritična ekstrakcija fluidima (SFE). Svi izolati isparljivih spojeva odabranih vrsta makroalga analizirani su primjenom plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS).

- Usporedbom različitih istraživanja uočena je samo djelomična sličnost u kemijskim profilima isparljivih organskih spojeva za istu vrstu alge. Razlike u kemijskom sastavu isparljivih organskih spojeva za istu vrstu alge autori pripisuju primijenjonoj metodi izolacije, kao i genetskim čimbenicima populacije ili različitim uvjetima u morskim staništima.

- Kemijski profili različitih vrsta makroalga porodice Dictyotaceae otkrivaju mnoštvo isparljivih spojeva koji pripadaju različitim grupama organskih spojeva.

Kvantitativno važni spojevi i grupe spojeva identificirani u kemijskim profilima alge *P. pavonica* su C_8–spojevi, dimetil-sulfid, viši alifatski alkoholi, *trans*-fitol, pačidiktol A, esteri, ugljikovodici, masne kiseline i aromatski spojevi.

- Kvantitativno važne grupe spojeva identificirane u kemijskim profilima isparljivih spojeva alge *D. polypodioides* su C_{11}-ugljikovodici i derivati, terpeni/ seskviterpeni, spojevi sa sumporom, masne kiseline i alkani.

3. LITERATURA

1. *M. Hayes*, u M. Hayes (ur.), Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications. Springer, New York, 2012.
2. *L. Mišurcová*, Chemical Composition of Seaweeds, u Se-K. Kim (ur.), Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. , WILEY-BLACKWELL, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2011, str. 171-192.
3. *J.A. Maschek, B.J. Baker*, The Chemistry of Algal Seconary Metabolism, u C.D. Amsler (ur.), Algal Chemical Ecology. Springer, Berlin, Heielberg, 2008, str. 1-24.
4. *N.E. Awad, H.M. Motawe, M.A. Selim, A.A. Matloub,* Volatile Constituents of the Brown Algae *Padina pavonia* (L.) Gaill and *Hydroclathrus clathratus* (C. Agardh) Howe and their Antimicrobial Activity, Med. Aromat. Plant Sci. Biotech. **3** (2009) 12-15.
5. *K.G. Ramawat, J.M. Mérillon*, Volatile Oils from Marine Macroalgae, u K.G. Ramawat and J.M. Mérillon (ur.), Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids,Phenolics and Terpens. Springer, Berlin, Heielberg, 2013, str. 2883-2912.
6. *O. López-Pérez, A. Picon, M. Nuñez,* Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehyrated edible seaweeds, Food Res. Int. **99** (2016) 1002-1010, doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.013.
7. *P. Fink,* Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems, Mar. Freshwater Behav. Physiol **40** (2007) 155-168, doi: 10.1080/10236240701602218.
8. *Z. Kamenarska, M.J. Gasic, M. Zlatović, A. Rasovic, D. Sladić, Z. Kljajic, K. Stefanov, K. Seizova, H. Najdenski, A. Kujumgiev, I. Tsvetkova, S. Popov,* Chemical Composition of the Brown Alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea, Bot. Mar. **45** (2002) 339-345, doi: 10.1515/BOT.2002.034.
9. *I. Jerković, M. Kranjac, Z. Marijanović, M. Roje, S. Jokić,* Chemical Diversity of Headspace and Volatile Oil Composition of Two Brown Algae (*Taonia atomaria* and *Padina pavonica*) from the Ariatic Sea, Mol. **24** (2019) 495, doi:10.3390/molecules24030495.
10. *G.A. Zatelli, A.C. Philippus, M. Falkenberg,* An overview of odoriferous marine seaweeds of the *Dictyopteris* genus: insights into their chemical diversity, biological potential and ecological roles, Braz. J. Pharm. **28** (2018) 243-260, doi: http://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.005.

11. *N. Riad, E. Trovato, M.R. Zahi, N. Bouzidi, Y. Daghbouche, M. Utczás, L. Monello, M. El Hattab,* Chemical screening and antibacterial activity of essential oil and volatile fraction of Dictyopteris polypodioides, Microchem. J. **152** (2020), DOI: 10.1016/j.microc.2019.104415.
12. *T. Turk,* u T. Turk (ur.), Pod površinom Mediterana. Školska knjiga, 2011.
13. *K.M. Zia, M. Zuber, M. Ali,* u K.M. Zia, M. Zuber, M. Ali (ur.), Algae Based Polymers, Blends, and Composites: Chemistry, biotechnology and material science. Elsevier, 2017.
14. URL: http://dalibor-andres.from.hr./uw/jm_alge.htm# (09.08.2020.)
15. *M. Prvan, Z. Jakl,* u M. Prvan and Z. Jakl (ur.), Priručnik za zaštitu mora i prepoznavanje živog svijeta Jadrana. Jafra print d.o.o., Split, 2016.
16. URL: http://www.bioteka.hr/modules/zivisvijet/index.php/zivi-svijet.%C4%8Clanci.56/Zanimljiv-svijet-morskih-algi.html (13.08.2020.)
17. *Lj. Šimunić,* Alga Dictyopteris polypodioides (A. P. De Candolle) J.V. Lamouroux, Diplomski rad, Odjel za studij mora, Split, 2005.
18. URL: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=13180 (19.08.2020.)
19. URL: https://www.blue-ecosystems.com/racheliSeaWeed/English/Dictyopteris-membranacea-%28Stackhouse%29-Batters- (19.08.2020.)
20. *N. Hamid, Q. Ma, S. Boulom, T. Liu, Z. Zheng, J. Balbas, J. Robertson*, Seaweed minor constituents, u B. K. Tiwari and D. J. Troy (ur.), Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications, Elsevier Inc., 2015, str. 193-242.
21. *V. Botić,* Utjecaj primjenjene metode ekstrakcije na izolaciju bioaktivnih komponenti iz jadranskih algi *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica,* Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2018.
22. *Z. Zuo,* Why Algae Release Volatile Organic Compounds- The Emission and Roles, Front. Microbiol. **10** (2019) 1-7, doi: 10.3389/fmicb.2019.00491.
23. *K. Albizati, V.A. Martin, M.R. Agharahimi, D.A. Stolze,* u P.J. Scheuer (ur.), Synthesis of Marine Natural Proucts: Nonterpenoids. Vol. 6, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1992.
24. *L.M.L. Nollet,* Marine Animal and Plant Products, u T. Boyston, F. Chen, P. Coggins, G. Hydlig, L. H. McKee and C. Kerth (ur.), Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Vol. 2, WILEY-BLACKWELL, 2012, str. 156-172.

25. *J. Hu, B. Yang, X. Lin, X-F. Zhou, X-W. Yang, Y. Liu,* Bioactive Metabolites from Seaweeds, u Se-K. Kim (ur.), Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. Wiley-Blackwell, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2011, str. 262- 284.
26. *N. Narain,* Volatile Components in Seaweeds, Examines, Mar. Biol. Oceanogr. **2** (2018) 195-201, DOI: 10.31031/EIMBO.2018.02.000535.
27. *E. G. Vilar, M.G. O´Sullivan, J.P. Kerry, K.N. Kilcawley,* Volatile compounds of six species of edible seaweed: A review, Algal Res. **45** (2020) 1-11, doi: https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101740.
28. *G. Ozdemir, Z. Horzum, A. Sukatar, N.U. Karabay-Yavasoglu,* Antimicrobial Activities of Volatile Components and Various Extracts of *Dictyopteris membranaceae.* and *Cystoseira barbata.* from the Coast of Izmir, Turkey, Pharm. Biol. **44** (2006) 183-188, doi: https:// doi.org/10.1080/13880200600685949.
29. *V. Greesler, P. Colepicolo, E. Pinto,* Useful Strategies for Algal Volatile Analysis, Curr. Anal. Chem. **5** (2009) 271-292, doi: 10.2174/157341109788680255.
30. *M. Kranjac,* Bioorgansko istraživanje kemijskih profila i markera odabranih vrsta meda, Doktorska disertacija, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2018.
31. *I. Jerković,* Kemija aroma, recenzirana skripta, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2011.
32. *M. Zekić,* Glukozinolati odabranih samoniklih biljaka porodice brassicaceae, Doktorska disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.
33. *N. Faithfull,* Determination of dry matter in small silage samples, J. Uni. Wal. Agricult.Soc. **78** (1998) 101-114.
34. *W. Boland, D. G. Müller,* On the odor of the Meiterranean seaweed *Dictyopteris membranacea:* New C11 hydrocarbons from marine brown algae – III., Tetrahedron Lett. **28** (1987) 307-310, doi: https:// doi.org/10.1016/S0040-4039(00)95714-9.
35. *M. El Hattab, G. Culioli, A. Ortalo-Magné, L. Pioveti, S. E. Chitour*, Isolation of the Volatile Compounds from the Brown Alga *Dictyopteris membranacea* by Focuse Microwave-Assiste Hydrodistillation, J. Essent. Oil Res. **14** (2002) 422-424, doi: https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699909.
36. *M. El Hattab, G. Culioli, L. Piovetti, S.E. Chitour, R. Valls,* Comparison of various extraction methods for identification and determinaton of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea*, J. Chromatogr. A **1143** (2007) 1-7, doi: 10.1016/j.chroma.2006.12.057.