Utjecaj primijenjene metode ekstrakcije na izolaciju bioaktivnih komponenti iz jadranskih algi Ulva lactuca, Dictyota dichotoma i Padina pavonica

Botić, Viktorija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:167:032586

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

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

UTJECAJ PRIMIJENJENE METODE EKSTRAKCIJE NA IZOLACIJU BIOAKTIVNIH KOMPONENTI IZ JADRANSKIH ALGI *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* I *Padina pavonica*

ZAVRŠNI RAD

VIKTORIJA BOTIĆ
Matični broj: 17

Split, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

UTJECAJ PRIMIJENJENE METODE EKSTRAKCIJE NA IZOLACIJU BIOAKTIVNIH KOMPONENTI IZ JADRANSKIH ALGI *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* I *Padina pavonica*

ZAVRŠNI RAD

VIKTORIJA BOTIĆ

Matični broj: 17

Split, rujan 2018.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

THE EFFECT OF THE APPLIED EXTRACTION METHOD ON ISOLATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF THE ADRIATIC SEAWEEDS *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* AND *Padina pavonica*

BACHELOR THESIS

VIKTORIJA BOTIĆ

Parent number: 17

Split, September 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet
Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 3. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić

UTJECAJ PRIMIJENJENE METODE EKSTRAKCIJE NA IZOLACIJU BIOAKTIVNIH KOMPONENTI IZ JADRANSKIH ALGI *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* I *Padina pavonica*

Viktorija Botić, 17

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti optimalne uvjete ekstrakcije ukupnih fenola, flavonoida i tanina iz jadranskih algi *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma i Padina pavonica.* U postupku ekstrakcije korištena su tri otapala: destilirana voda, etanol i aceton te različite temperature: 20°C, 40°C i 60°C. Pripravljenim ekstraktima određen je sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tanina. Najveći ekstrakcijski prinos ukupnih fenola dokazan je u acetonskim ekstraktima. Za izolaciju flavonoida iz istraživanih smeđih algi također su se najboljim pokazali acetonski ekstrakti pripremljeni pri 20°C, dok je kod alge *Ulva lactuca* najbogatiji flavonoidima bio vodeni ekstrakt pripremljen pri 20°C. Kod alge *Dictyota dichotoma* najveću količinu ukupnih tanina sadržavao je acetonski ekstrakt pripravljen pri 20°C, dok je kod *Padina pavonica* i *Ulva lactuca* najoptimalnija ekstrakcija provedena pri 40°C s acetonom kao otapalom.

Ključne riječi: ekstrakcija, alge, fenoli, flavonoidi, tanini

Rad sadrži: 39 stranica, 39 slika, 5 tablica, 28 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek –predsjednik Povjerenstva za obranu
2. Doc. dr. sc. Danijela Skroza – član
3. Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić - mentor

Datum obrane: 27. rujna 2018. g.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology
Undergraduate study of Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 3

Mentor: Ph.D. Ivana Generalić Mekinić, Assistant Professor

THE EFFECT OF THE APPLIED EXTRACTION METHOD ON ISOLATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF THE ADRIATIC SEAWEEDS *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* AND *Padina pavonica*

Viktorija Botić, 17

Abstract:

The aim of this study was to optimize the extraction procedure for isolation of total phenols, flavonoids and tannins from the Adriatic seaweeds *Ulva lactuca*, *Dictyota dichotoma* and *Padina pavonica*. For the extraction, three different solvents were used: distilled water, ethanol and acetone as well as different temperatures: 20°C, 40°C and 60°C. The extracts were analysed for total phenolics, flavonoids and tannins. The highest extraction yield of total phenolics was detected in acetone extracts. In case of flavonoids, the best solvent for brown algae species was also acetone and the extraction at 20°C, while for seaweed *Ulva lactuca* the best solvent was water at 20°C. The acetone extract prepared at 20°C of *Dictyota dichotoma* contained the highest yield of tannins, while the optimal extraction method for seaweeds *Padina pavonica* and *Ulva lactuca* was at 40°C in acetone.

Keywords: extraction, seaweeds, phenolics, flavonoids, tannins

Thesis contains: 39 pages, 39 figures, 5 tables, 28 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Ph.D. Mario Nikola Mužek,Assist. Prof.– chair person
2. Ph.D. Danijela Skroza, Assist. Prof. – member
3. Ph.D. Ivana Generalić Mekinić, Assist. Prof. - supervisor

Defence date: 27th September 2018.

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 prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivane Generalić Mekinić, u razdoblju od veljače do rujna 2018. godine.

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2014-09-6897.

Od srca zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Ivani Generalić Mekinić na ukazanom povjerenju, trudu i pruženoj pomoći tijekom izrade ovog rada.

Također, zahvaljujem se svojoj obitelji i prijateljima koji su me podržavali i bili uz mene.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada bio je odrediti utjecaj primijenjene metode ekstrakcije na izolaciju bioaktivnih komponenti iz jadranskih algi *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica,* te u pripravljenim ekstraktima odrediti sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tanina.

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti optimalne uvjete ekstrakcije ukupnih fenola, flavonoida i tanina iz jadranskih algi *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica.* U postupku ekstrakcije korištena su tri otapala: destilirana voda, etanol i aceton te različite temperature: 20°C, 40°C i 60°C. Pripravljenim ekstraktima određen je sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tanina. Najveći ekstrakcijski prinos ukupnih fenola dokazan je u acetonskim ekstraktima. Za izolaciju flavonoida iz istraživanih smeđih algi također su se najboljim pokazali acetonski ekstrakti pripremljeni pri 20°C, dok je kod alge *Ulva lactuca* najbogatiji flavonoidima bio vodeni ekstrakt pripremljen pri 20°C. Kod alge *Dictyota dichotoma* najveću količinu ukupnih tanina sadržavao je acetonski ekstrakt pripravljen pri 20°C, dok je kod *Padina pavonica* i *Ulva lactuca* najoptimalnija ekstrakcija provedena pri 40°C s acetonom kao otapalom.

Ključne riječi: ekstrakcija, alge, fenoli, flavonoidi, tanini

Summary

The aim of this study was to optimize the extraction procedure for isolation of total phenols, flavonoids and tannins from the Adriatic seaweeds *Ulva lactuca*, *Dictyota dichotoma* and *Padina pavonica* . For the extraction, three different solvents were used: distilled water, ethanol and acetone as well as different temperatures: 20°C, 40°C and 60°C. The extracts were analysed for total phenolics, flavonoids and tannins. The highest extraction yield of total phenolics was detected in acetone extracts. In case of flavonoids, the best solvent for brown algae species was also acetone and the extraction at 20°C, while for seaweed *Ulva lactuca* the best solvent was water at 20°C. The acetone extract prepared at 20°C of *Dictyota dichotoma* contained the highest yield of tannins, while the optimal extraction method for seaweeds *Padina pavonica* and *Ulva lactuca* was at 40°C in acetone.

Keywords: extraction, seaweeds, phenols, flavonoids, tannins

SADRŽAJ

UVOD.....1

1. OPĆI DIO.....2

1.1. MORSKE ALGE.....2

1.1.1. ZELENE ALGE (CHLOROPHYTA).....3

1.1.1.1. *Ulva lactuca*.....5

1.1.2. SMEĐE ALGE (PHAEOPHYTA).....5

1.1.2.1. *Dictyota dichotoma*.....7

1.1.2.2. *Padina pavonica*.....7

1.1.3. CRVENE ALGE (RHODOPHYTA).....8

1.2. KEMIJSKI SASTAV ALGI.....9

1.3. ALGE U PREHRANI ČOVJEKA.....12

2. EKSPERIMENTALNI DIO.....13

2.1. MATERIJALI I UREĐAJI.....13

2.2. POSTUPAK EKSTRAKCIJE.....13

2.3. METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA.....14

2.4. METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH FLAVONOIDA.....15

2.5. METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH TANINA.....17

3. REZULTATI.....19

3.1. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA.....19

3.2. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH FLAVONOIDA.....24

3.3. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH TANINA.....29

4. RASPRAVA.....34

5. ZAKLJUČAK.....37

6. LITERATURA.....38

UVOD

Makroalge su uglavnom višestanični vodeni fotosintetski organizmi, koje se mogu naći na raznim staništima koja zadovoljavaju uvjete vlažnosti i svjetla koje omogućuje neometano odvijanje procesa fotosinteze. Morske alge se razlikuju prema vrstama pigmenata koje se nalaze u njihovim stanicama, skladišnim molekulama, broju i izgledu bičeva te načinu razmnožavanja. Azijske zemlje poput Kine, Japana i Koreje koriste morske alge u prehrambene svrhe već tisućama godina, a tijekom posljednjih nekoliko desetljeća njihova potrošnja se povećala i u europskim zemljama. Obzirom da su alge bogati izvori spojeva s izraženom biološkom aktivnošću, osim u prehrambenoj industriji koriste se i u medicini, farmaceutskoj, kozmetičkoj te brojnim drugim industrijama. Morske alge su poznat izvor vitamina i minerala, a bogate su i ugljikohidratima, proteinima i vlaknima. Udio hranjivih sastojka u morskim algama se razlikuje i ovisi o vrsti, geografskom području, sezoni i temperaturi vode.

U ovom radu pozornost je posvećena vrstama koje su rasprostranjene u Jadranu, i to dvjema smeđim algama, *Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica* iz porodice Dictyotaceae, te jednoj zelenoj algi, *Ulva lactuca.*

1. OPĆI DIO

1.1. MORSKE ALGE

Pod pojmom alge podrazumijeva se velik broj različitih, uglavnom vodenih fotosintetskih organizama, koje imaju različito podrijetlo i kemijski sastav. Morske alge su zapravo biljke jer se u njima odvija proces fotosinteze, ali su znatno jednostavnije od kopnenih biljaka jer apsorbiraju potrebne nutrijente iz vode koja ih okružuje, stoga nemaju potrebu za korijenjem, stabljikom, lišćem i složenim provodnim tkivom. Morskim algama nužna je prisutnost morske vode, dovoljno svjetla za odvijanje procesa fotosinteze i točka za koju se mogu pričvrstiti, pa se kao rezultat tih zahtjeva, najčešće nastanjuju u priobalnoj zoni. Alge koje lebde ili plutaju u vodi čine plankton, a one koje su pričvršćene za dno čine bentos (1).

Podjela morskih algi se temelji na različitim svojstvima kao što je pigmentacija, kemijski sastav, skladištenje fotosintetskog produkta, organizacija fotosintetskih membrana te ostalim morfološkim značajkama. Tradicionalna i najčešća podjela je ona u četiri različite grupe obzirom na pigmente koji sadrže: plavo-zelene alge (Cyanophyta), crvene alge (Rhodophyta), smeđe alge (Phaeophyceae) i zelene alge (Chlorophyta) (2). Boja morskih algi određuje njihovu kvalitetu i tržišnu vrijednost. Klorofili i karotenoidi su pigmenti koje se nalaze u svim vrstama morskih algi, dok su fikobilini karakteristični samo za crvene alge, klorofil b se nalazi samo u zelenim algama, a klorofil c i fukoksantin u smeđim algama (3).

Zelene alge se nalaze na staništima najbliže obali, u plitkoj vodi i one najčešće rastu poput niti, nepravilnih listova ili grančica. Smeđe alge posjeduju smeđi pigment koji maskira klorofil i obično ih se može naći na dubini 15-23 m dubine, dok se crvene alge nalaze na većim dubinama (do 260 m), jer posjeduju fikobilin koji apsorbira plavu i ljubičastu svjetlost koju ne može apsorbirati klorofil (1).

Tablica 1. Podjela makroalgi s obzirom na pigmente (4)

Koljeno	Razred	Rod
Chlorophyta	Ulvophyceae	*Caulerpa, Enteromorpha, Monostroma, Ulva*
Phaeophyta	Phaeophyaceae	*Ascophyllum, Chorda, Durvillea, Ecklonia, Eisenia, Fucus, Laminaria, Lessonia, Macrocystis, Sargassum, Undaria*
Rhodophyta	Bangiophyceae Florideophyceae	*Porphyra, Ahnfeltia, Anatheca, Caloglossa, Dilsea, Eucheuma, Furcellaria, Gelidiella, Gelidium, Gigartina, Gloiopeltis, Gracilaria, Gynmogongrus, Hypnea, Iridaea*

1.1.1. Zelene alge (Chlorophyta)

Zelene alge se mogu naći na svježim morskim staništima, ali i na kori vlažnog drveća, stijenama, vlažnom tlu, te u simbiozi s gljivama (lišaji) (5). Poznato je preko 4000 različitih vrsta zelenih morskih algi u koje spadaju jednostanični, višestanični i kolonijalni oblici (1). Jednostanične alge su kišna alga (*Pleurococcus*) i klamidomonas (*Chlamidomonas*), dok se u višestanične ubraja spirogira, kladofora (*Cladophora glomerata*), kaulerpa (*Caulerpa sp*), klobučić (*Acetabularia mediterranea*), halimeda (*Halimeda tuna*) i morska salata (*Ulva sp.*), a u kolonijalne Volvoks (*Volvox*) (6).



Slika 1. Zelene alge (7)

Od zelenih algi najrasprostranjenije su *Chlorodendrophyceae* (46 vrsta), *Chlorophyceae* (3046 vrsta), *Ulvophyceae* (1610 vrsta) i *Trebouxiophyceae* (672 vrsta) (4). Pretežno su autotrofni organizmi, ali sekundarno mogu biti i heterotrofi. Imaju jednu ili više jezgara. Kloroplasti im mogu biti vrčasti, okrugli, pločasti, vrpčasti, zvjezdasti i mrežasti. Često posjeduju i pirenoide, bjelančevinasta zrnca oko kojih se skuplja škrob. Zelene alge posjeduju fotosintetske pigmente kao što su klorofil a i b, koji su sadržani u posebnoj staničnoj strukturi poznatoj kao kromatofore, ali i druge pigmente kao što su α i β karotini i ksantofili (lutein), te hematokrom (vrsta crvenog karotenoida). Pričuvne tvari u zelenim algama su škrob i kapljice ulja. Primitivniji oblici imaju gole stanice dok je kod ostalih unutarnji sloj membrane građen od celuloze, a vanjski od pektina (8). Razmnožavaju se nespolno (vegetativno, sporama) i spolno. Vegetativan tip razmnožavanja imaju jednostanične zelene alge (diobom stanica, raspadanjem kolonija), dok se pojedine višestanične alge razmnožavaju fragmentacijom talusa. Razmnožavanje sporama najčešće se odvija zoosporama ili aplanosporama. Spolni način razmnožavanja je gametogamija, također postoji oblik spolnog razmnožavanja poznat kao konjugacija (9). Zelene alge čija je upotreba u prehrambene svrhe poznata su *Ulva sp., Enteromorpha sp., Monostroma sp., Caulerpa sp., Codium sp*. *Monostroma sp.* i *Enteromorpha sp.,* a mogu se jesti sirove, sušene ili kuhane (2).

Pojedine dijelove svjetskog mora, a time i Jadranskog, napadaju dvije vrste algi roda Caulerpa koje su izrazito agresivne, a istraživanja pokazuju da uništavaju ekološku ravnotežu i biološku raznolikost podmorja na kojima su pronađene. To su *Caulerpa taxifolia* i *Caulerpa racemosa.* Ove alge sadrže otrov koji nije opasan za ljude, ali ih zbog njega većina morskih organizama izbjegava. Prilikom širenja alga potpuno prekriva dno te pritom uništava spužve, koralje i ježince, potiskuje sve ostale organizme, a njome se ne hrani niti jedna vrsta riba ili glavonožaca. Najdjelotvornija metoda uklanjanja ovih algi je prekrivanje crnom plastičnom folijom koja biljci krade svjetlost presudnu za život. Važno je da alge budu prekrivene najmanje tri mjeseca kako bi se spriječio njihov daljnji razvoj i širenje (10).

1.1.1.1. *Ulva lactuca*

Morska salata (*Ulva lactuca*) je jestiva, zelena alga, široko rasprostranjena na stjenovitim obalama mora i oceana. Talus morske salate podsjeća na list zelene salate zbog čega je dobila i ime, a veličina mu varira između 15 i 60 centimetara. *Ulva lactuca* je pokazatelj onečišćenja vode, a često se koristi u japanskoj i mediteranskoj kuhinji. Alga sadrži veliku količinu bjelančevina, vlakana i antioksidansa, te je bogata željezom i jodom. Također obiluje i brojnim vitaminima i mineralima te je dokazano da njena konzumacija pozitivno utječe na probavni i imunološki sustav (11).



Slika 2. *Ulva lactuca* (12)

1.1.2. Smeđe alge (Phaeophyta)

Smeđe alge su isključivo morski organizmi. Prisutne su u različitim oblicima, od jednostavnih, slobodno razgranatih niti do visoko diferenciranih oblika. Stanica smeđih algi je izgrađena od dva sloja; vanjski sloj je sluzav i ljepljiv zbog prisutnosti alginata, a unutrašnji sloj sadrži celulozu. Jezgre smeđih algi su obično velike, a citoplazma sadrži organele poput mitohondrija, golgijevog tijela, endoplazmatskog retikuluma, kromatofora, vakuola i fukozanskih vezikula (6).

Pigmenti prisutni kod smeđih algi su: klorofil a i c, β karoten, ksantofili (fukokstantin, lutein, violaksantin), a dominira fukoksantin (3). Nekoliko vrsta smeđih algi ima komercijalnu vrijednost, kao što su rodovi *Laminaria*, *Undaria*, *Macrocystis*, *Sargassum* i *Fucus* (4).

Pojedine vrste jestivih smeđih algi su važan resurs azijskih zemalja, posebice Kine i Japana, gdje se konzumiraju sirove, kuhane ili pak osušene (2). Jadranski bračić (*Fucus virsoides*) je smeđa alga koja je endem Jadranskog mora i jedan je od najvažnijih bioindikatora čistog mora (13).



Slika 3. Jadranski bračić (*Fucus virsoides*) (14)

Druga značajna smeđa alga u Jadranu je *Laminaria digitata* (porodica Laminariaceae), koja ima relativno visoku stopu rasta u odnosu na druge alge. *Laminaria digitata* se tradicionalno koristi kao organsko gnojivo, ali i za ekstrakciju alginske kiseline, proizvodnju zubnih pasta i kozmetike, te u prehrambenoj industriji za dobivanje aditiva koji se koriste kao veziva, za zgušnjavanje i oblikovanje (15).

1.1.2.1. *Dictyota dichotoma*

Česta smeđa alga u Jadranskom moru je *Dictyota dichotoma* koja pripada porodici Dictyotaceae. Alge iz ovog biljnog razreda proizvode sulfatirane polisaharide. Vrste roda Dictyota najčešće naseljavaju tropska i umjereno topla mora. Ova smeđa alga ima plosnatu, viličastu steljku, a poznata je njena uporaba kao ljudska hrana, stočna hrana te za proizvodnju alginata (28).



Slika 4. *Dictyota dichotoma* (16)

1.1.2.2. *Padina pavonica*

Padina pavonica, ili u prijevodu paunov rep, je vrsta smeđe alge iz porodice Dyctiotaceae. Rasprostranjena je u Atlantskom oceanu i Sredozemnom moru. Talus joj je tanak, pričvršćen je za stijenu rizoidima, a gornja površina je pokrivena tankim slojem mulja, dok je donja svjetlo-smeđe, tamno-smeđe ili maslinasto-zelene boje. Na donjoj površini nalaze se koncentrične linije koje su sastavljene od tankih, bijelih niti (17).



Slika 5. *Padina pavonica* (17)

1.1.3. Crvene alge (Phodophyta)

Osim nekoliko vrsta, crvene alge su isključivo morski organizmi koji se međusobno razlikuju po veličini i obliku. Poznato je više od 6000 vrsta crvenih algi za čiju boju su zaslužni fikobilini. Crvene alge mogu živjeti na većim dubinama od smeđih i zelenih algi, a posebna skupina crvenih algi koje tvore koraljne grebene nazivaju se koraljne alge (1). Crvene alge uglavnom žive pričvršćene za kamenitu podlogu ili školjke, a vrlo rijetko kao epifiti-pričvršćene za druge alge (npr. *Polysiphonia lanosa*). Glavni izvor biomase crvenih algi diljem svijeta pružaju Corallinaceae i Gigartinaceaea, a za proizvodnju agara koriste se crvene alge *Gelidium, Gracilaria* i *Pterocladis. Eucheuma* je crvena alga koja se koristi u proizvodnji karagenana, važnog proizvoda koji se koristi u prehrambene i kozmetičke svrhe (2).

Porphyra je rod lisnatih crvenih algi iz porodice Bangiaceae koji broji preko 115 vrsta, a raste u međuplimnim područjima obala širom svijeta. U kuhinji istočne Azije koristi se kao *nori* (Japan) koja se osušena i prešana u listove koristi u pripremi tradicionalnog japanskog sushija, gdje se omotava s vanjske strane kuhane riže i sirove ribe (18).



a)



b)

Slika 6. *Porphyra tenera* (a) i njena primjena u pripremi japanskog sushija (b) (19,20)

1.2. KEMIJSKI SASTAV ALGI

Morske alge su bogat izvor biološki aktivnih spojeva. Smatraju se izvrsnim izvorom proteina, čija koncentracija ovisi o vrsti i okolišnim uvjetima. Crvene i zelene morske alge imaju relativno visoku koncentraciju ovih spojeva (10-30% suhe tvari), dok je sadržaj proteina u smeđim algama relativno nizak (3-15% suhe tvari) (4). Nadalje, neke bioaktivne aminokiseline, kao što je laminin, pronađene su u algama roda *Laminaria* i *Chondria* (21).

Morske alge imaju vrlo mali sadržaj masti, od 1 do 5% suhe tvari. Zelene alge, čiji je sastav masnih kiselina najsličniji onom kod viših biljaka, imaju mnogo veći sadržaj oleinske i α-linolenske kiseline nego ostale vrste algi, dok crvene alge imaju visok sadržaj omega-3 masne kiseline (EPA) (1) .



Slika 7. Struktura EPA (22)

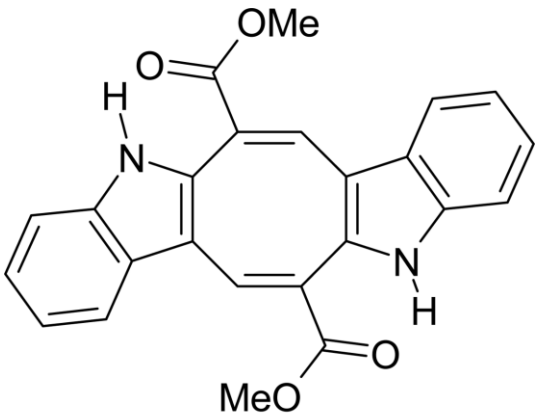
Alge također obiluju vlaknima, koji čine od 32% do 50% suhe tvari. Kod smeđih algi čine uglavnom celuloza i netopljivi alginati (1).

Alge imaju i visok sadržaj polisaharida, koji su većinom dio stanične stijenke. Hidrokoloidi kao što su alginat, agar, karageneni i fukoidan prisutni su u velikim količinama. Mnogi od tih polisaharida se koriste u hrani kao zgušnjivači, sredstva za želiranje te kao stabilizatori emulzija. Agar se koristi u različitim proizvodima kao što su slastice, meso i proizvodi od peradi, za pripremu namaza, krema, glazura, itd. Karagenan se koristi u salatnim umacima, dijetetskoj hrani i kao konzervans u mesnim i ribljim proizvodima, mliječnim i pekarskim proizvodima (1). Tipični ugljikohidrati u smeđim algama su fukoidan, laminaran, celuloza, alginati i manitol (2).

Morske alge su poznate i kao prirodan izvor vitamina i minerala. Sadržaj minerala u morskim algama je općenito visok (8-40%), a smeđe i crvene alge su glavni izvor minerala esencijalnih za ljudsku prehranu. Sadrže natrij, kalcij, magnezij, kalij, klor, sumpor i fosfor. Alge imaju veliki udio joda, minerala koji je neophodan za normalnu funkciju štitne žlijezde, a najveći sadržaj joda imaju smeđe alge (4). Morske alge su dobar izvor vitamina topivih u vodi (B1, B2, B12, C) i vitamina topivih u mastima (A i njegovi provitamini-karotenoidi, vitamini E, D i K). Vitamini iz algi su važni zbog raznih biokemijskih funkcija i antioksidacijske aktivnosti, ali imaju bitnu ulogu i u smanjenju krvnog tlaka (vitamin C), sprječavanju kardiovaskularnih bolesti (β-karoten) ili smanjenju rizika od raka (vitamini E i C, karotenoidi) (21).

U morskim algama se mogu naći i hormoni kao što je melatonin, kojeg se može naći u izobilju u brojnim vrstama. Melatonin je regulator dnevno-noćnog ritma i njegovo izlučivanje ovisi o izmjenjivanju dana i noći. Luči se isključivo za vrijeme noći i tame. To je razlog zašto alge koje se beru noću imaju veću koncentraciju melatonina od onih sakupljenih danju. Smeđe morske alge su i poznati izvor tiroidnog hormona (1). Uz navedeno sadrže i terpene, diterpene, usneidon E, sulfatirane polisaharide, etanolne ekstrakte, itd. (23).

Mnoge alge proizvode antibiotske tvari koje inhibiraju rast bakterija, virusa i gljivica. Polifenoli koji se nalaze u smeđim algama potencijalni su antioksidansi, te su poznati pod nazivom florotanini. Dokazano je da pojedini alkaloidi izolirani iz morskih algi posjeduju protuupalna svojstva, na primjer kaulerpin izoliran iz alge *Caulerpa racemosa* (21).



Slika 8. Struktura kaulerpina (24)

Tablica 2. Utjecaj algi na zdravlje (23)

VRSTA ALGE	FUNKCIONALNI SASTOJCI	UTJECAJ NA ZDRAVLJE
Sargassum vulgare	alginska kiselina, ksilofukani	antivirusno djelovanje
Himanthalia elongate	PUFAs, α-tokoferol steroli, topiva vlakna	Smanjuje se rizik od srčanih bolesti, antioksidacijski djeluje, smanjuje količinu kolesterola
Undaria pinnatifida	PUFAs, steroli, topiva vlakna, folati, sulfatirani polisaharidi, fukoksantin	smanjuje rizik od srčanih bolesti, smanjuje kolesterol, smanjuje rizik od dobivanja raka, antivirusno djeluje, preventivno utječe na krvožilni sustav
Porphyra spp.	PUFAs, steroli, topiva vlakna	smanjuju rizik od srčanih bolesti, smanjuju kolesterol
Chondrus crispus	PUFAs (*n-3*) masnekiseline, steroli, topiva vlakna, sulfatirani polisaharidi (porfirani)	smanjuje rizik od srčanih bolesti, smanjuje kolesterol, ima apoptičnu aktivnost
Cystoseira spp.	terpeni, steroli, sulfatirani polisaharidi	vrijedna ljekovita svojstva, smanjuju kolesterol, reguliraju aktivnost faktora rasta i citokina

1.3. ALGE U PREHRANI ČOVJEKA

Morske alge se koriste diljem svijeta tisućama godina za različite svrhe. Zemlje poput Kine, Japana i Koreje koriste morske alge u prehrambene svrhe preko 2000 godina. U Maleziji i Indoneziji jedu se svježe u salatama, dok su se u Mediteranskim zemljama koristile u medicinske svrhe. Najpoznatije makroalge koje se koriste u Azijskim zemljama su *Ulva, Laminaria* i *Porphyra* (Nori) koja se koristi u pripremi tradicionalnog japanskog jela sushi. Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća potrošnja morskih algi se znatno povećala, čak i u europskim zemljama, jer se zbog bogatog sadržaja proteina, vitamina, minerala, polisaharida, enzima, sve češće koriste kao dodatak prehrani (4). Sve su popularnije u prehrani ljudi jer su niskokalorične, a bogate su mineralima, vitaminima i prehrambenim vlaknima. Proteini su važan sastojak prehrane ljudi i dok većina ovaj vitalni nutrijent dobiva jedenjem mesa, vegetarijanci i vegani ga moraju dobavljati na drugi način, a upravo su alge najbolja alternativa. Alge su bogati izvor fitokemikalija koje imaju antioksidacijska i antimikrobna svojstva. Dodavanje algi i njihovih ekstrakata u prehrambene proizvode može pomoći u smanjenju korištenja kemijskih konzervansa (2).

Stoga se alge koriste u medicini, farmaciji i kozmetici, zbog dokazanog antibakterijskog, antiviralnog, antifugalnog, antioksidacijskog te antikancerogenog djelovanja. Izvor su ugljikohidrata, proteina, vlakana, vitamina uključujući vitamine B-kompleksa, vitamin A, E i C, i bogate su jodom, kalijem, željezom, magnezijem i kalcijem (5).

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. MATERIJAL I UREĐAJI

U eksperimentalnom dijelu ovog rada kao biljni materijal korištene su dvije smeđe alge *Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica* iz porodice Dictyotaceae, te jedna zelena alga, *Ulva lactuca.* Alge su prikupljene na lokaciji Lučka kapetanija (Split) početkom veljače 2018. godine kada je temperatura mora iznosila 11°C. Dubina uzorkovanja biljnog materijala bila je 1 metar.

Sva korištena otapala i reagensi bili su potrebne analitičke čistoće, a proizvođači istih su Kemika (Zagreb, Hrvatska), T.T.T. d.o.o. (Sv. Nedjelja, Hrvatska)i Sigma-AldrichGmbH (St. Louis, Missouri, SAD). Proizvođač standarda koje su korišteni za spektrofotometrijska mjerenja i izradu baždarnih pravaca (galne kiseline, kvercetina i (+)-katehina) je Sigma-AldrichGmbH (St. Louis, Missouri, SAD). Suhi uzorci algi su homogenizirani u ručnom mlincu (Model 980, Moulinex, Francuska), ekstrakcija se provodila u vodenoj kupelji (BandelinSonorex, Berlin, Njemačka), a spektrofotometrijska određivanja na spektrofotometru SPECORD 200 Plus, Edition 2010 (AnalytikJena AG, Jena, Njemačka).

2.2.POSTUPAK EKSTRAKCIJE

Za ekstrakciju se biljni materijal, odnosno osušene alge *Dictyota dichotoma, Padina pavonica* i *Ulva lactuca*, homogeniziraju u ručnom mikseru do finog praha. U epruvetu se precizno izvaže 1 g praškastog uzorka svake vrste alge. U postupku ekstrakcije korištena su tri otapala: destilirana voda, etanol i aceton pri različitim temperaturama: 20°C, 40°C i 60°C. Vrijeme ekstrakcije bilo je 1 sat.

2.3.METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA

Ukupni fenoli određeni su spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu. Metoda se temelji na oksidaciji fenolnih grupa dodatkom Folin-Ciocalteu reagensa, pri čemu nastaje plavo obojenje čiji je intenzitet direktno proporcionalan udjelu fenolnih spojeva uzorku. Mjerenja se provode na valnoj duljini od 765 nm (25).

Reagensi:

- Folin-Ciocalteu reagens
- Otopina natrijeva karbonata, w (Na_2CO_3) = 20%
- Matična otopina galne kiseline, c = 5000 mg/L

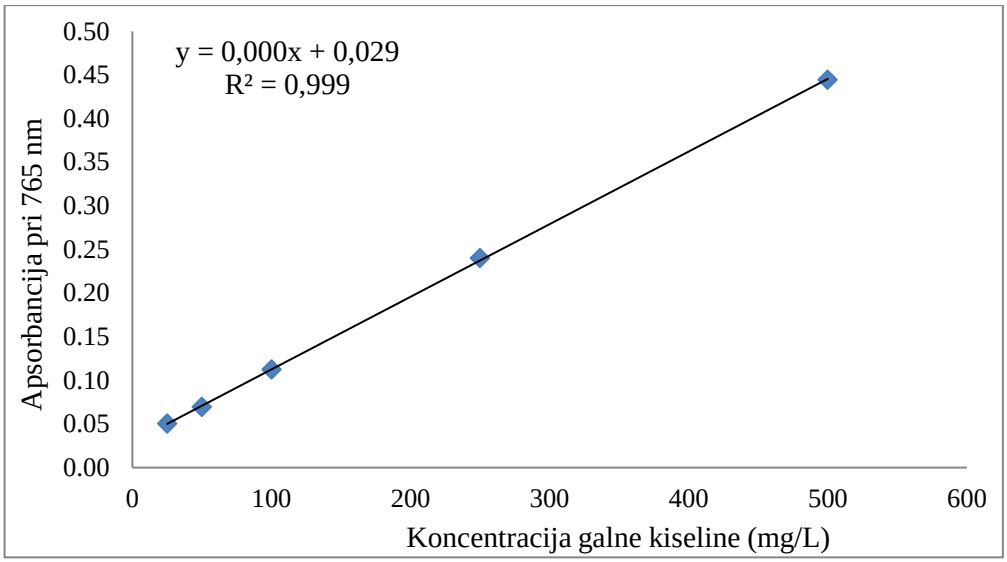
Postupak:

U kivetu se otpipetira 25 µL uzorka, 1,975 mL destilirane vode i 125 µL Folin-Ciocalteu reagensa te se smjesi nakon 5 minuta doda 375 µL otopine natrijevog karbonata. Otopina se ostavi stajati 2 h u mraku nakon čega joj se očita absorbancija. Rezultati sadržaja ukupnih fenola u biljnim uzorcima se izračunaju preko jednadžbe baždarnog pravca, a rezultati se izražavaju u mg ekvivalenata galne kiseline po 1 L ekstrakta (mg GAE/L).

Za izradu baždarnog pravca testiraju se otopine galne kiseline koncentracija od 25 do 500 mg/L.

Tablica 3. Odnos koncentracije galne kiseline i absorbancije pri 765 nm korišten za izradu baždarnog pravca za određivanje ukupnih fenola

Koncentracija galne kiseline (mg/L)	**Absorbancija (765 nm)**
500	0,444 ± 0,002
250	0,240 ± 0,000
100	0,112 ± 0,006
50	0,069 ± 0,001
25	0,050 ± 0,003



Slika 9. Baždarni pravac galne kiseline korišten za određivanje ukupnih fenola

2.4. METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH FLAVONOIDA

Koncentracija ukupnih flavonoida u ekstraktima određena je korištenjem kolorimetrijske metode kod koje su kao reagensi korišteni aluminijev klorid i natrijev nitrit. Intenzitet nastalog žutog obojenja mjeri se pri valnoj duljini od 510 nm. (26)

Reagensi:

- otopina natrijeva nitrita, w ($NaNO_2$) = 5%:
- otopina aluminijeva klorida, w ($AlCl_3$) = 10%
- otopina NaOH, c (NaOH) = 1 mol/L

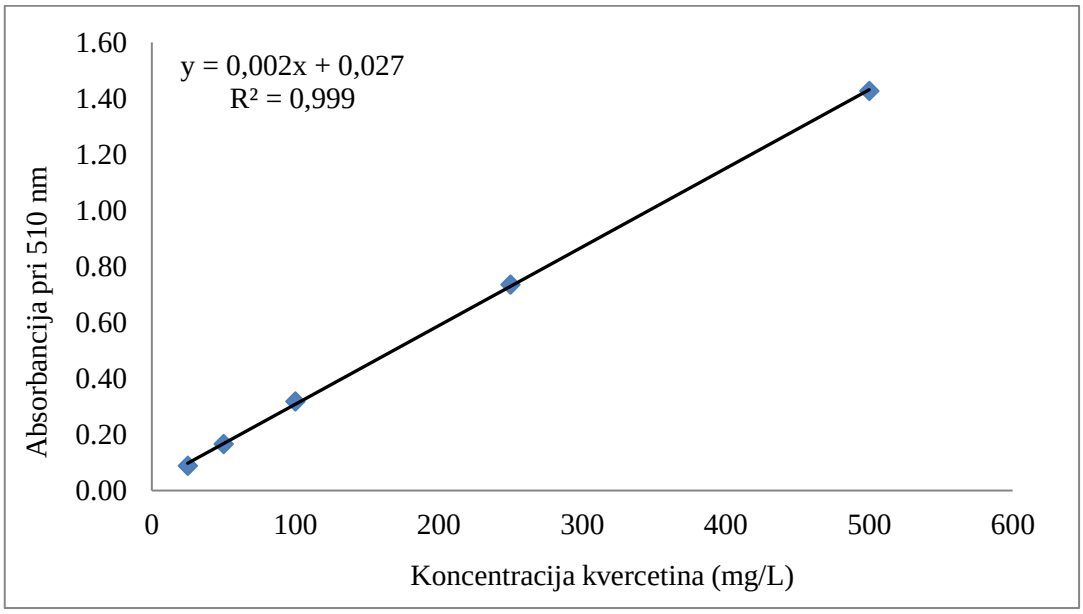
Postupak:

U kivetu se otpipetira 250 µL uzorka, 1,525 mL vode i 75 µL otopine $NaNO_2$. Otopina se ostavi 6 minuta nakon čega se doda 150 µL $AlCl_3$ i ponovno ostavi da odstoji 5 minuta. Zatim se doda 500 µL otopine NaOH i 775 µL destilirane vode kako bi ukupni volumen smjese bio 3 mL. Apsorbancija uzoraka se mjeri odmah po dodatku vode. Količina flavonoida u uzorcima se izračuna preko jednadžbe baždarnog pravca, a rezultati se izražavaju u mg kvercetina po 1 L ekstrakta (mg QE/L).

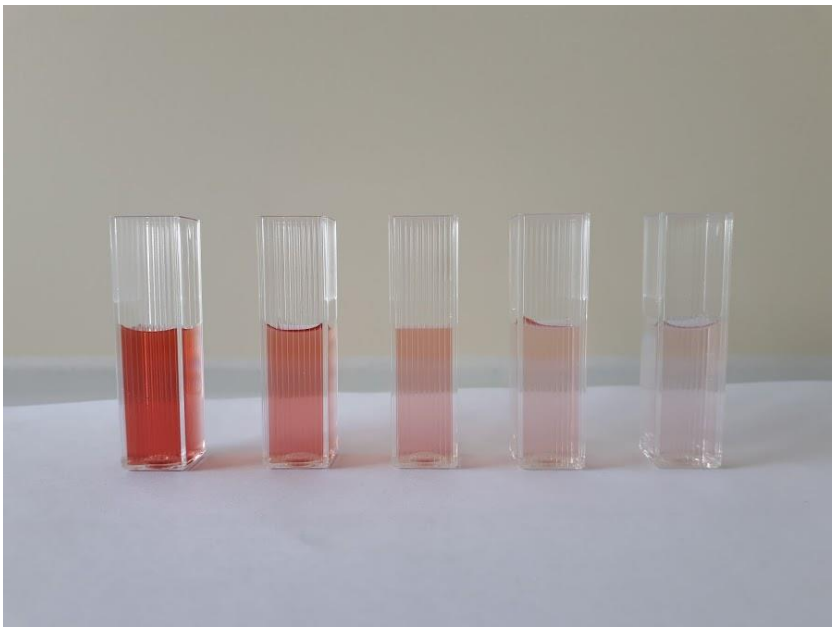
Za izradu baždarnog pravca testiraju se otopine kvercetina različitih koncentracija, od 25 do 500 mg/L prema opisanom postupku.

Tablica 4. Odnos koncentracije kvercetina i absorbancije pri 510 nm za otopine kvercetina korištene za izradu baždarnog pravca

Koncentracija kvercetina (mg/L)	**Absorbancija (500 nm)**
500	1,427 ± 0,059
250	0,735 ± 0,118
100	0,318 ± 0,008
50	0,166 ± 0,002
25	0,088 ± 0,002



Slika 10. Baždarni pravac za kvercetin korišten za određivanje ukupnih flavonoida



Slika 11. Izgled otopina standarda (kvercetina) korištenih za određivanje flavonoida metodom s aluminijevim kloridom.

2.5. METODA ODREĐIVANJA UKUPNIH TANINA

Ukupni tanini određeni su metodom s vanilinom koju je opisao Julkunen-Titto (27). Kao standard je korišten katehin, a mjerenja su urađena pri valnoj duljini od 500 nm.

Reagensi:

- otopina vanilina, w (vanilina) = 4%

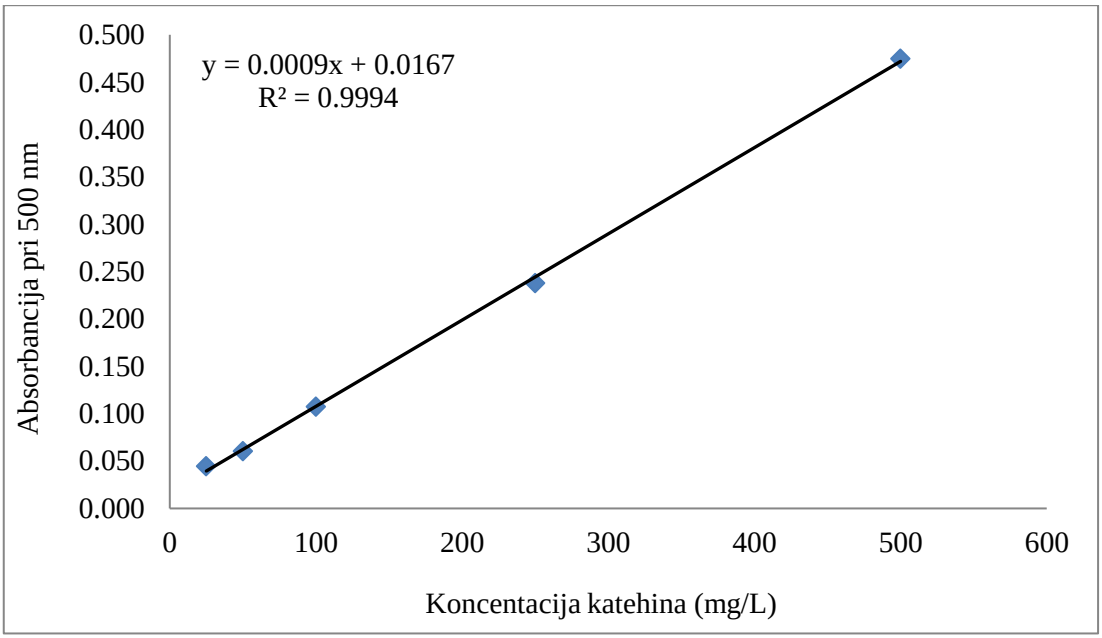
Postupak:

U kivetu se doda 50 µL uzorka, 1,5 mL otopine vanilina i 750 µL koncentrirane klorovodične kiseline. Nakon što se otopina promiješa, ostavi se 20 minuta u tami, nakon čega joj se izmjeri absorbancija. Otopine katehina se koriste za izradu baždarnog pravca, a rezultati se izražavaju u miligramima ekvivalenata katehina po litri ekstrakta (mg KE/L).

Za izradu baždarnog pravca testiraju se otopine katehina različitih koncentracija, od 25 do 500 mg/L prema opisanom postupku.

Tablica 5. Odnos koncentracije katehina i absorbancije reakcijske smjese pri 500 nm korišten za izradu baždarnog pravca za određivanje ukupnih tanina

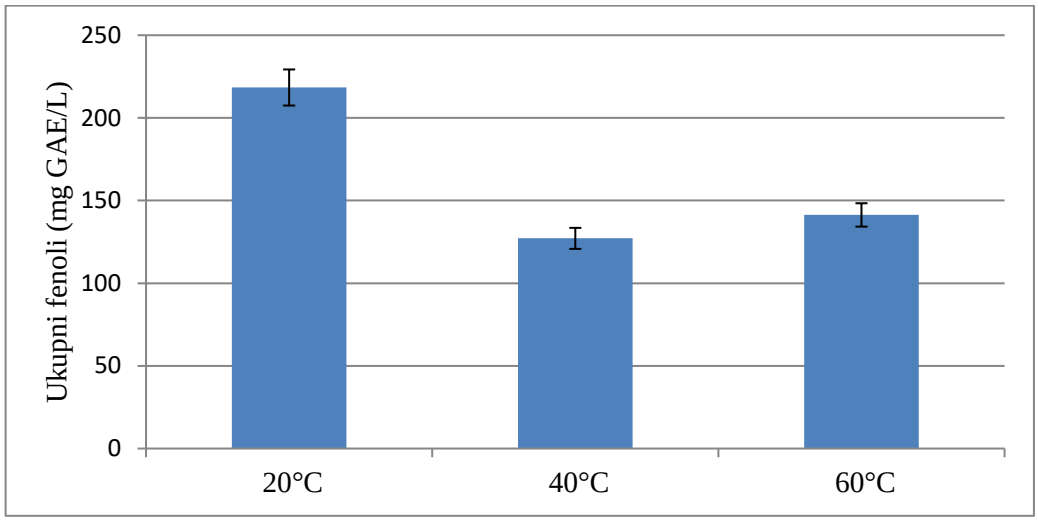
Koncentracija katehina (mg/L)	**Absorbancija (500 nm)**
500	0,475 ± 0,013
250	0,238 ± 0,019
100	0,108 ± 0,017
50	0,061 ± 0,008
25	0,045 ± 0,002



Slika 12. Baždarni pravac za katehin korišten za određivanje ukupnih tanina

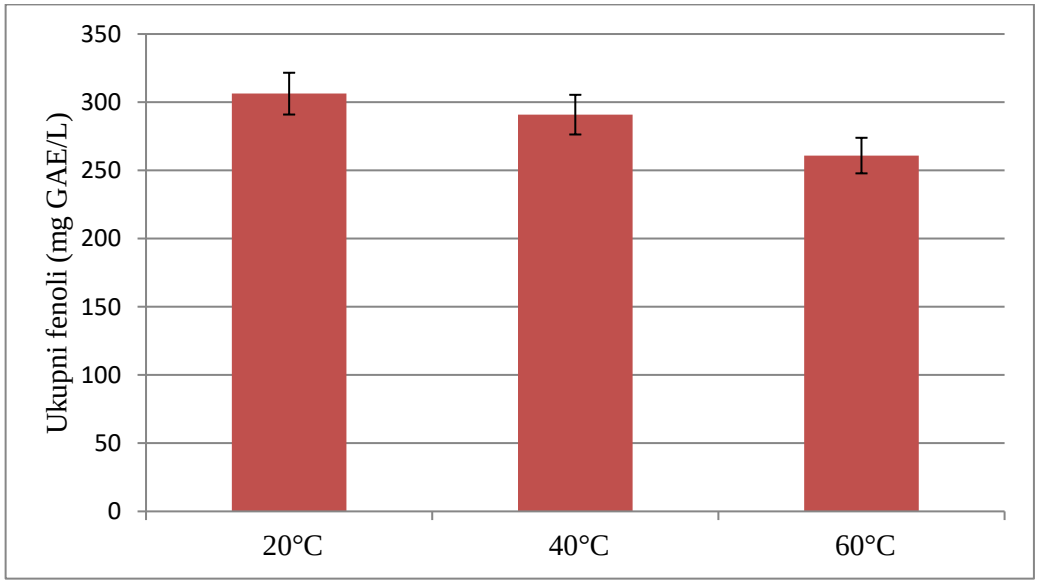
3. REZULTATI

3.1. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA



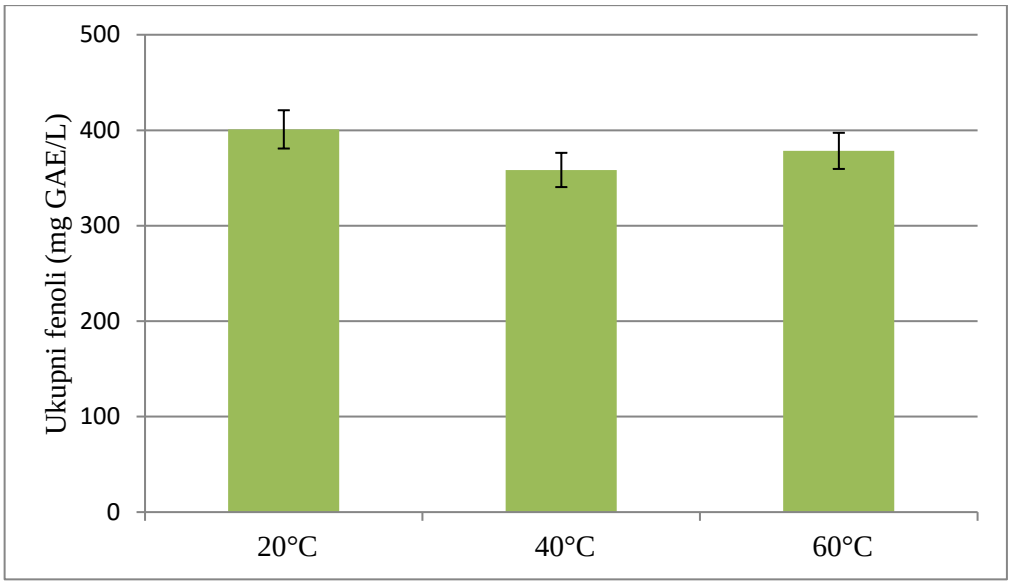
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 13. Sadržaj fenola u vodenima ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



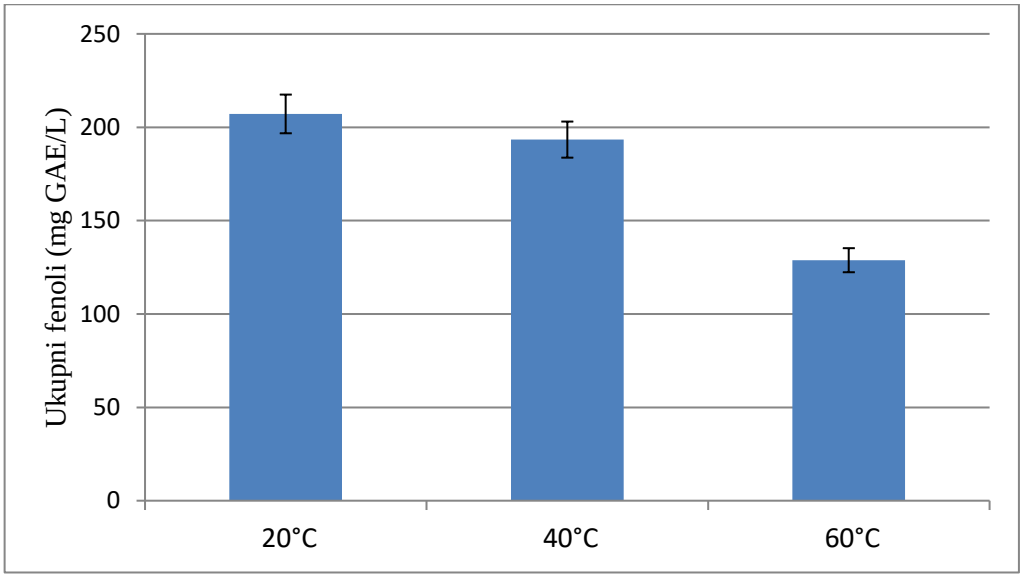
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 14. Sadržaj fenola u etanolnim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



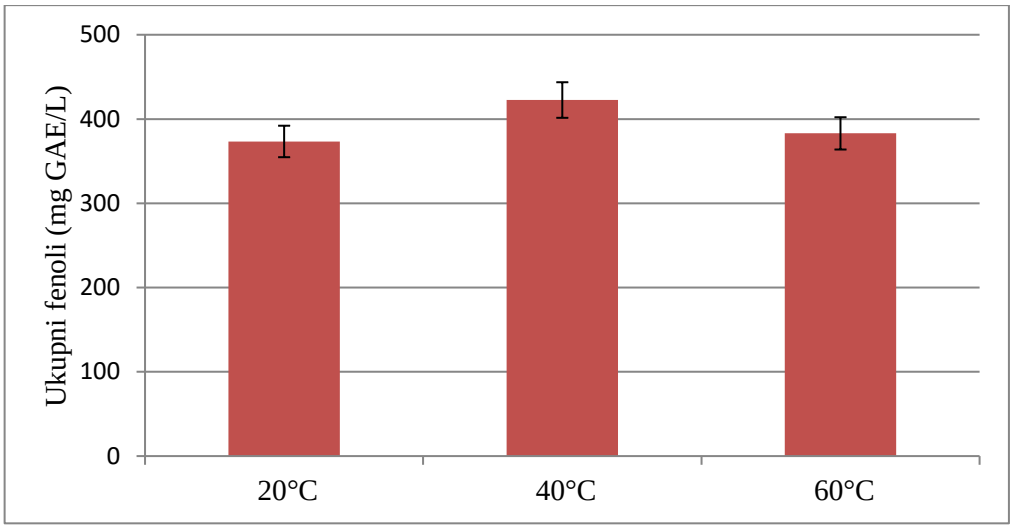
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 15. Sadržaj fenola u acetonskim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



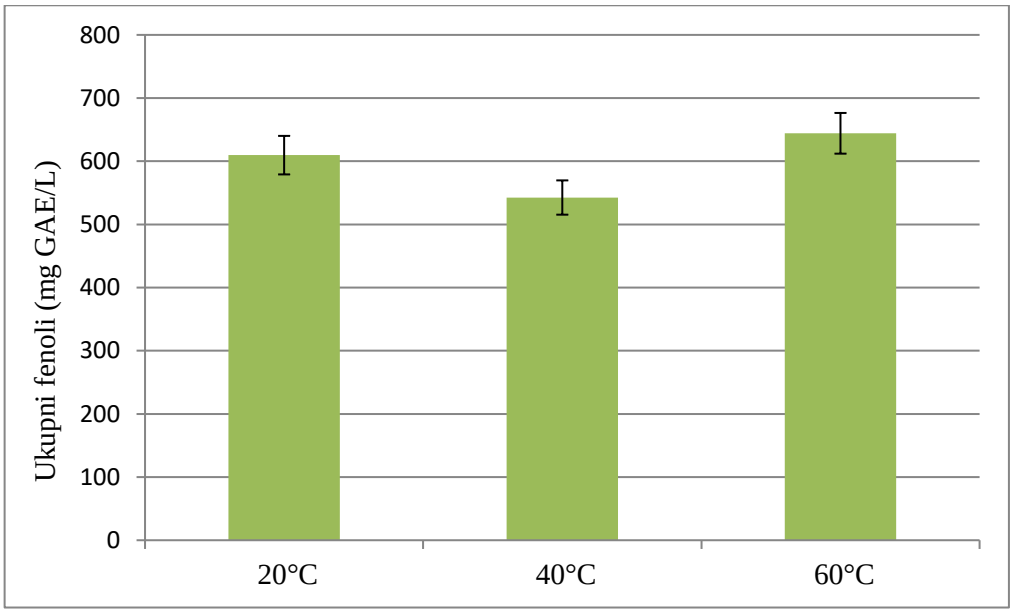
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 16. Sadržaj fenola u vodenim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



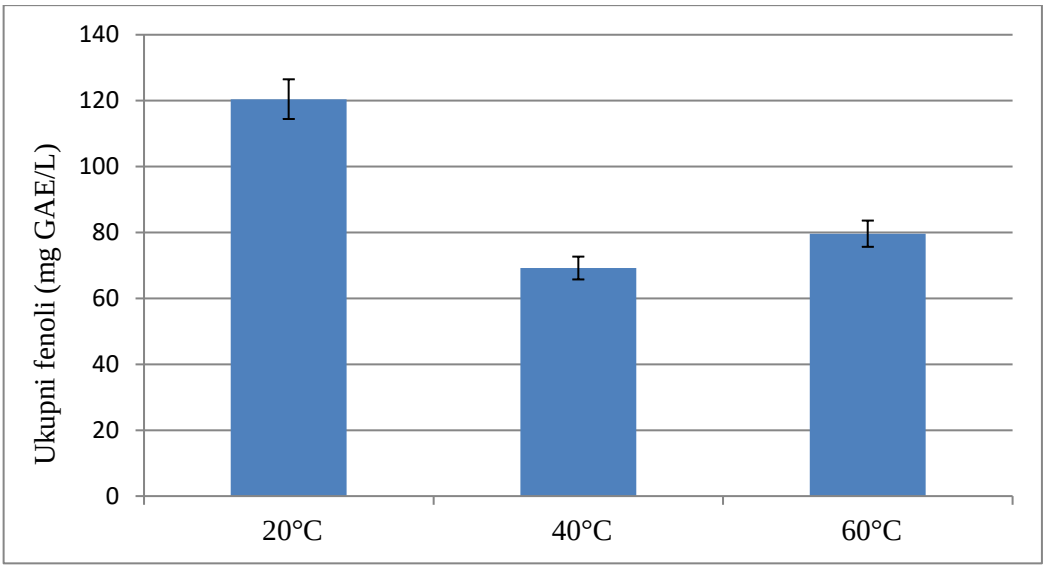
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 17. Sadržaj fenola u etanolnim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



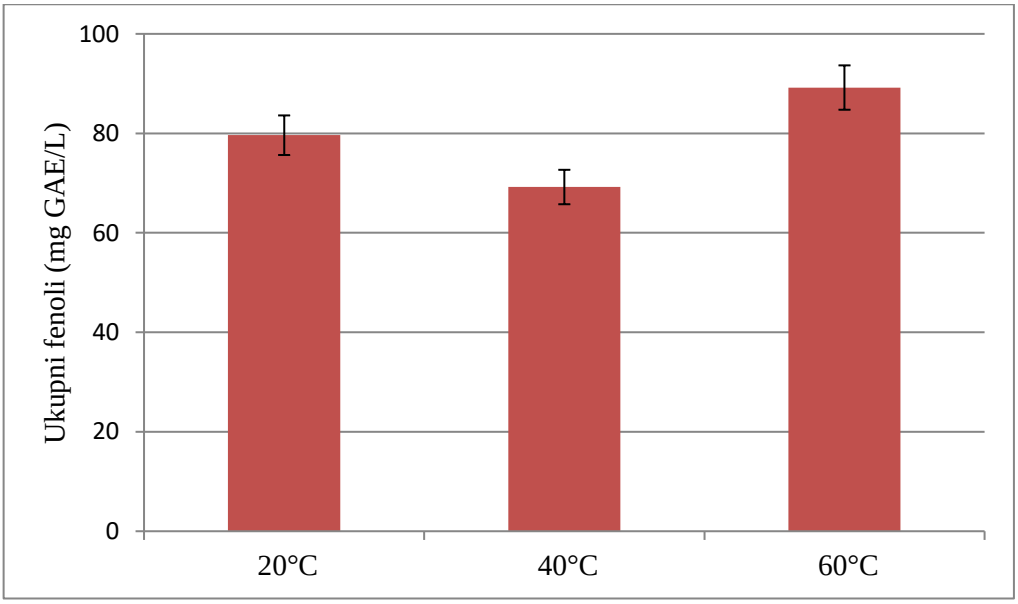
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 18. Sadržaj fenola u acetonskim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



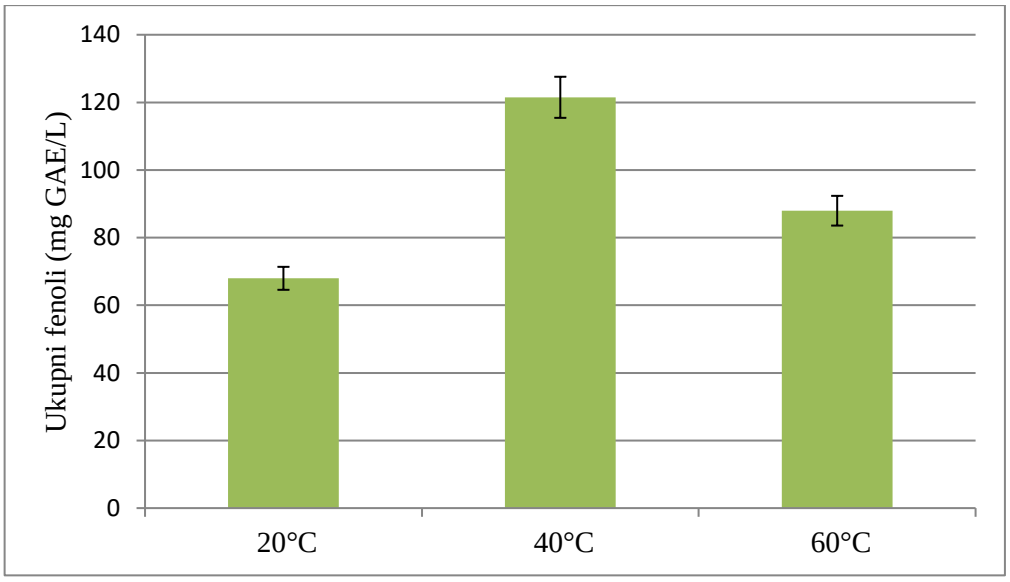
*GAE- ekvivalenti galne kiseline

Slika 19. Sadržaj fenola u vodenim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*GAE- ekvivalenti galne kiseline

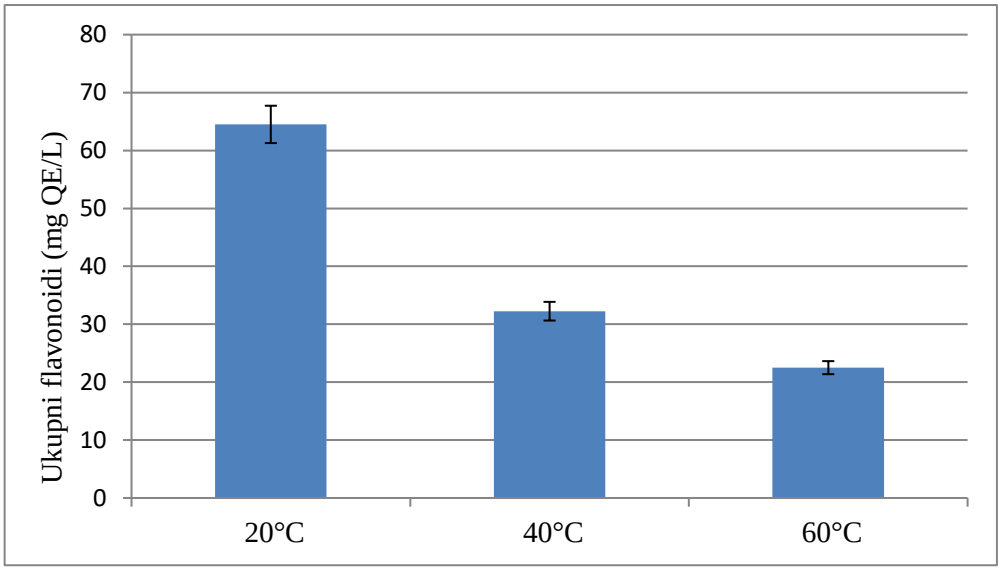
Slika 20. Sadržaj fenola u etanolnim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*GAE- ekvivalenti galne kiseline

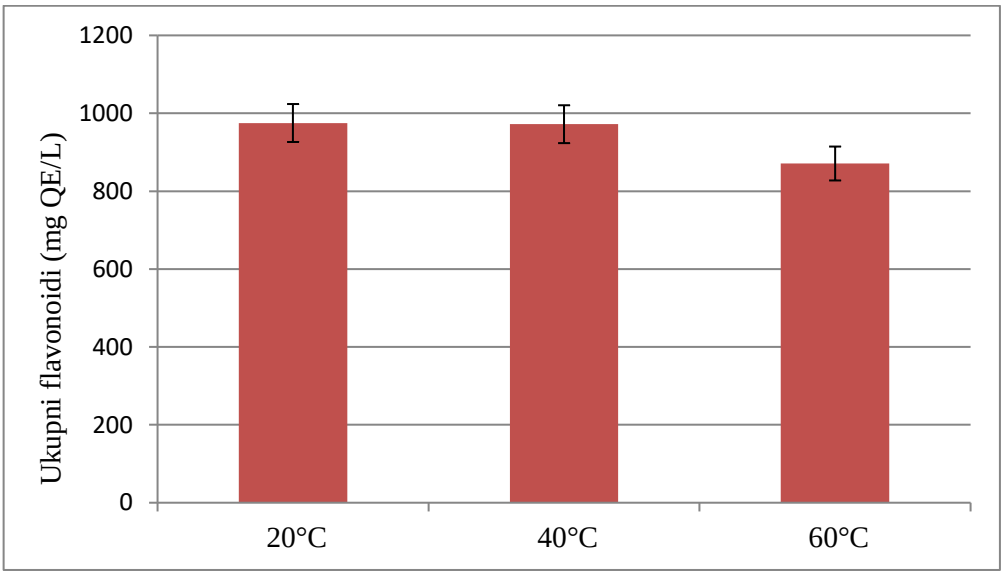
Slika 21. Sadržaj fenola u acetonskim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama

3.2. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH FLAVONOIDA



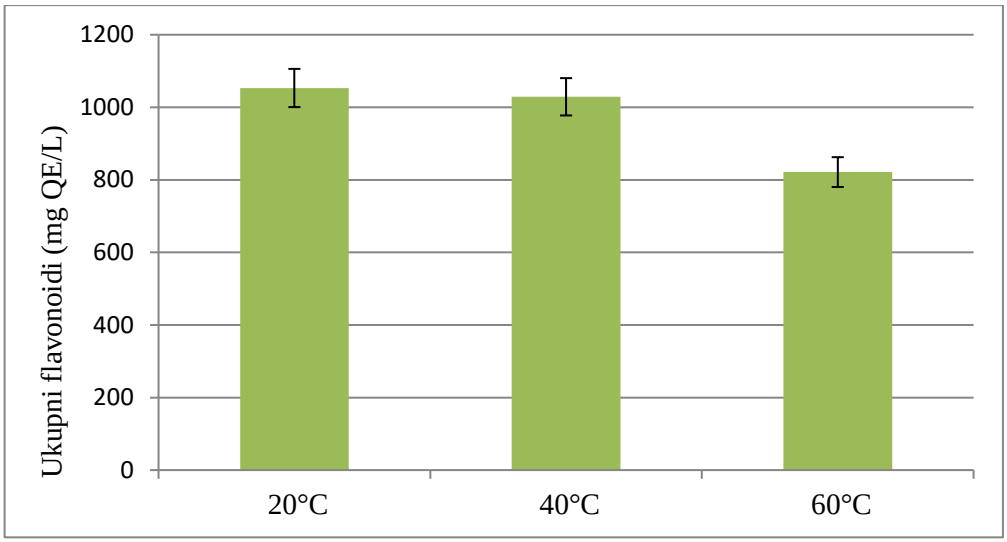
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 22. Sadržaj flavonoida u vodenim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



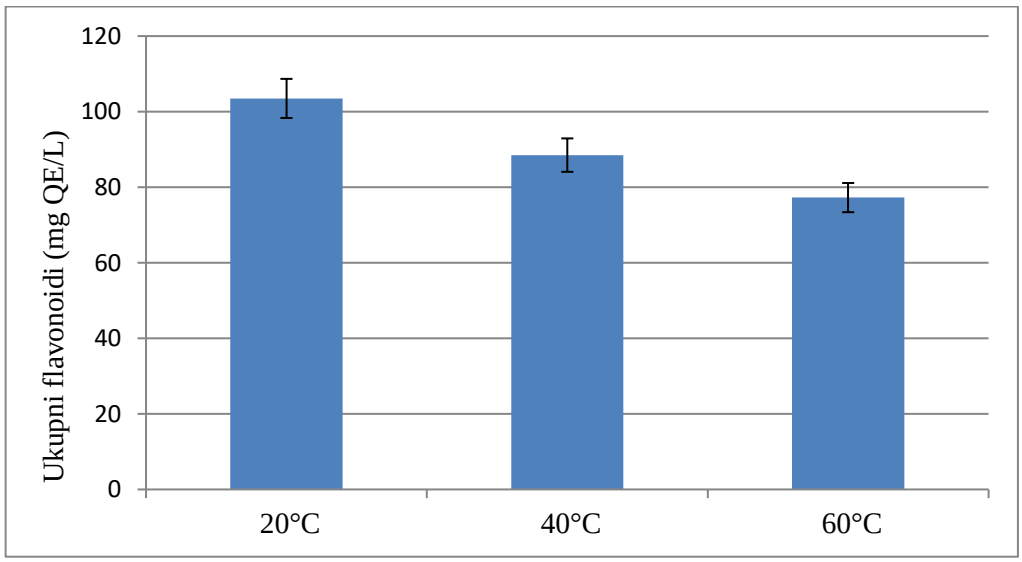
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 23. Sadržaj flavonoida u etanolnim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



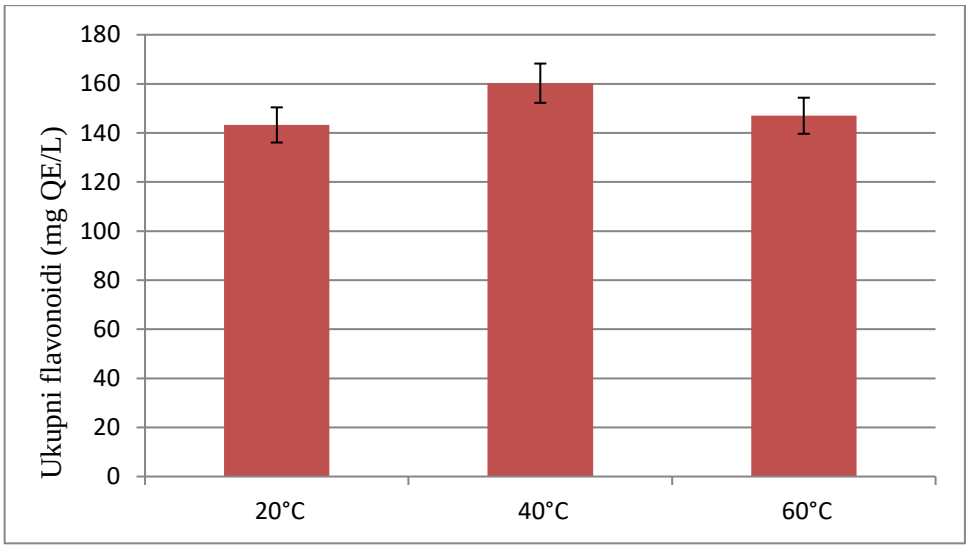
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 24. Sadržaj flavonoida u acetonskim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



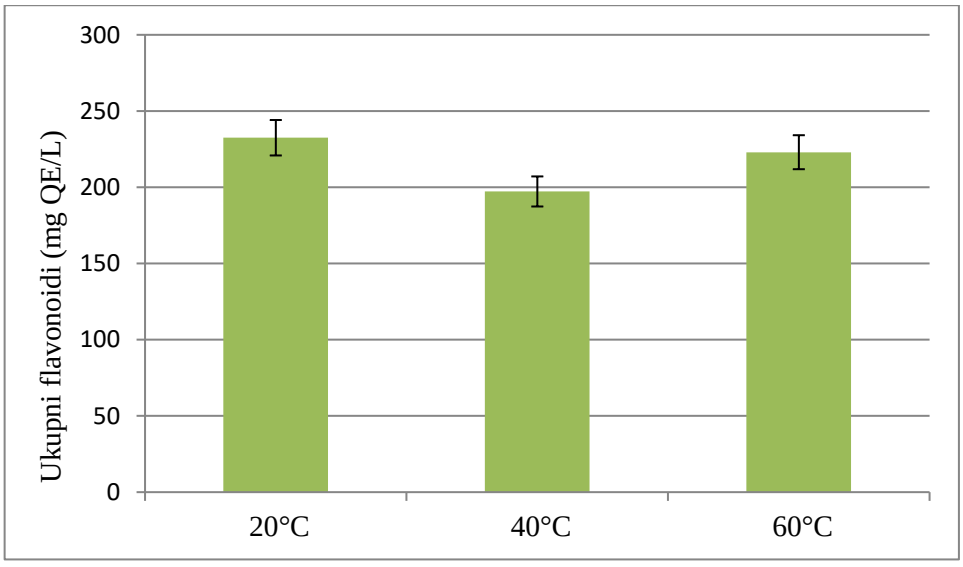
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 25. Sadržaj flavonoida u vodenim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



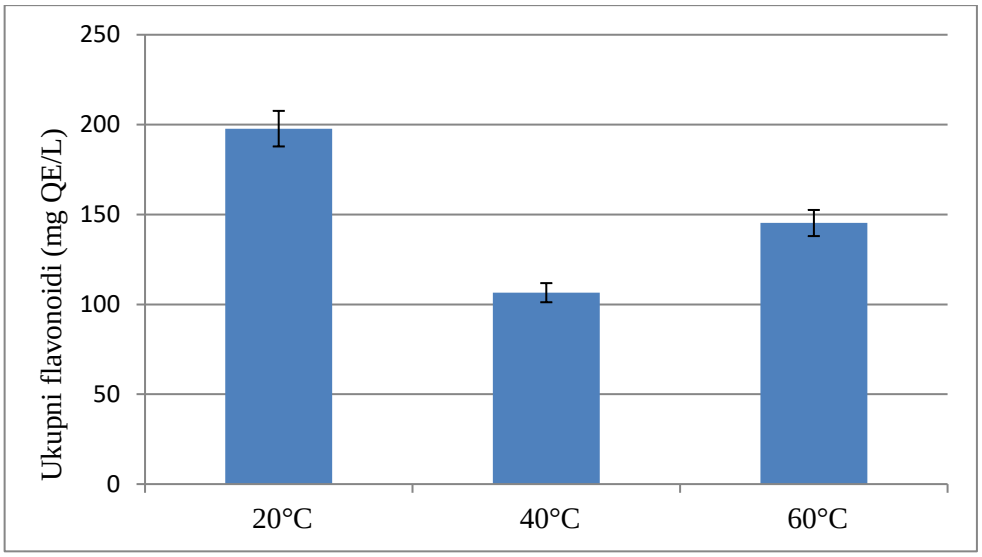
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 26. Sadržaj flavonoida u etanolnim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



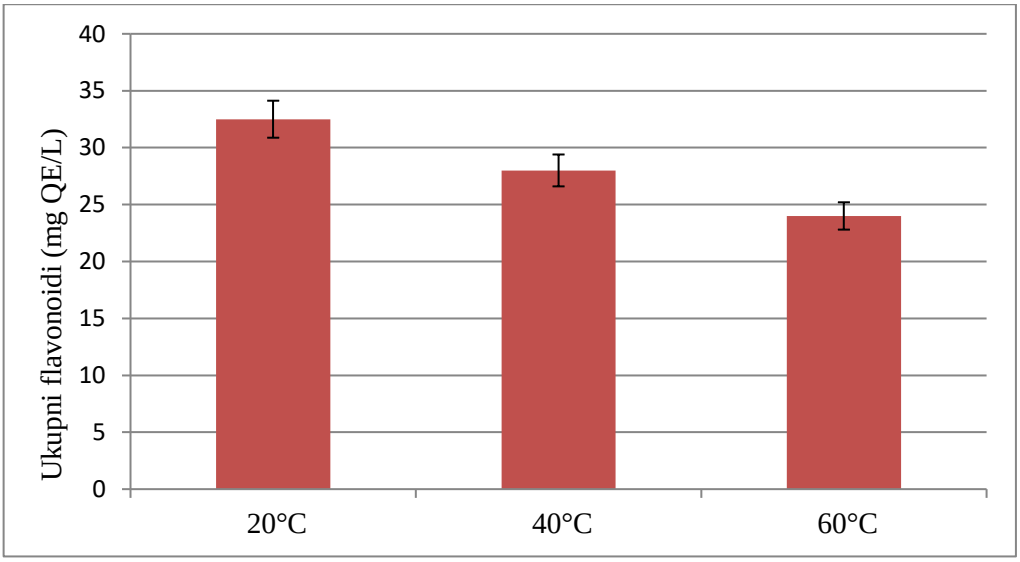
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 27. Sadržaj flavonoida u acetonskim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



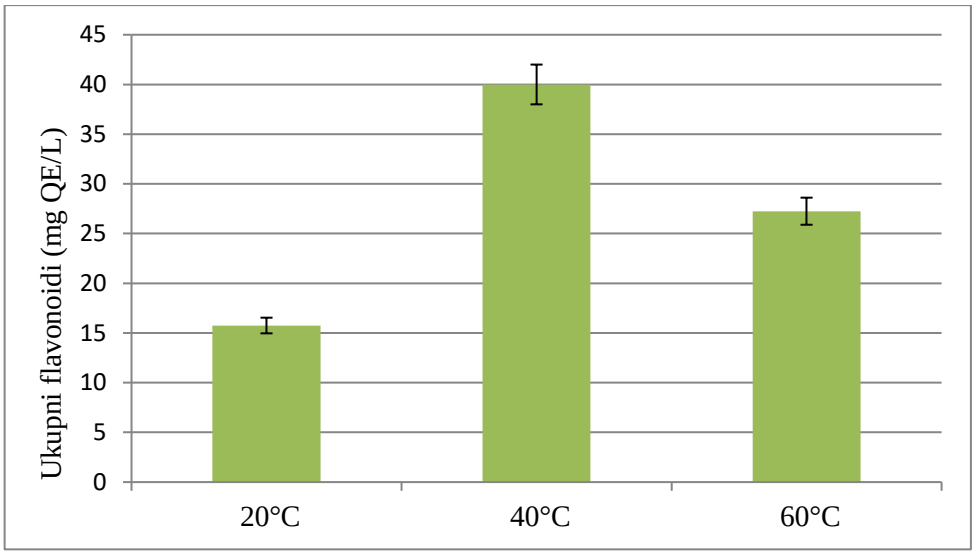
*QE- kvercetin ekvivalenti

Slika 28. Sadržaj flavonoida u vodenim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*QE- kvercetin ekvivalenti

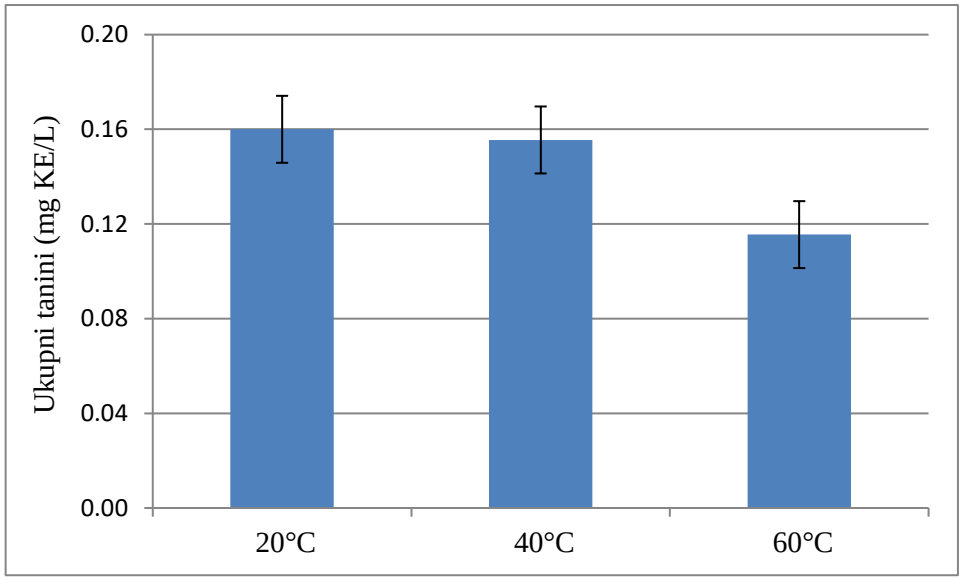
Slika 29. Sadržaj flavonoida u etanolnim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*QE- kvercetin ekvivalenti

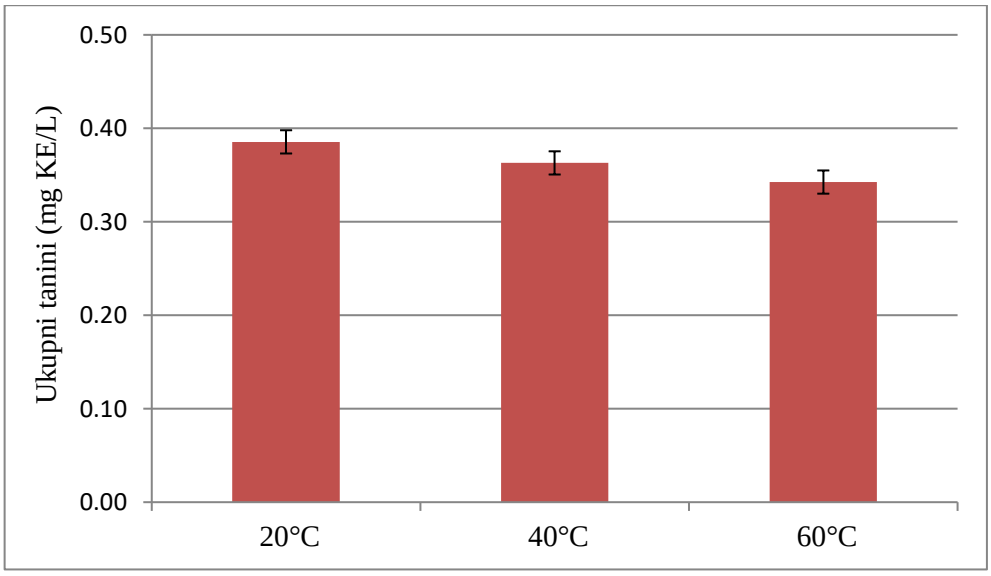
Slika 30. Sadržaj flavonoida u acetonskim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama

3.3. REZULTATI ODREĐIVANJA UKUPNIH TANINA



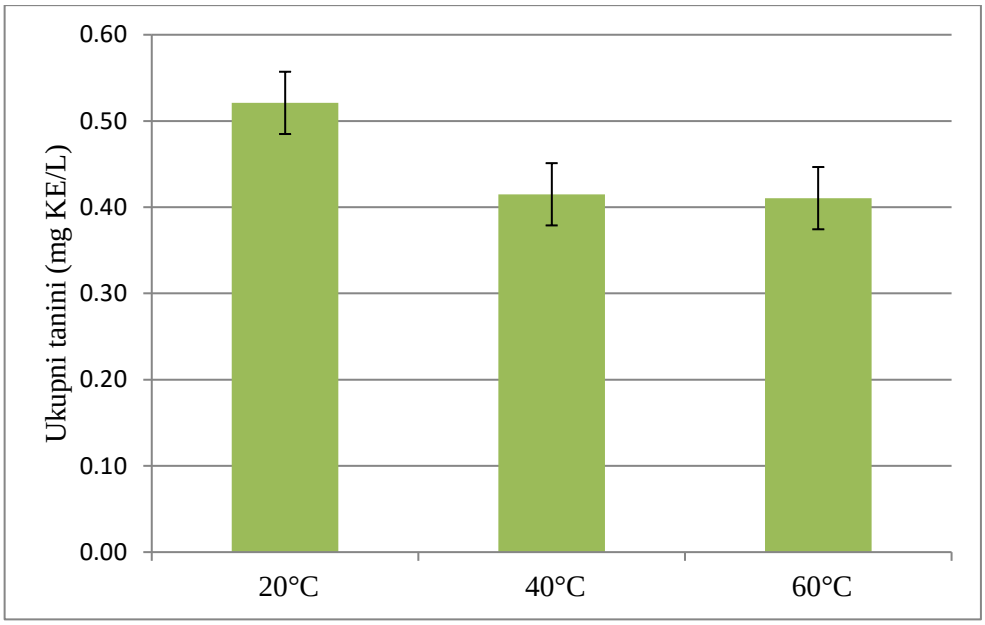
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 31. Sadržaj tanina u vodenim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



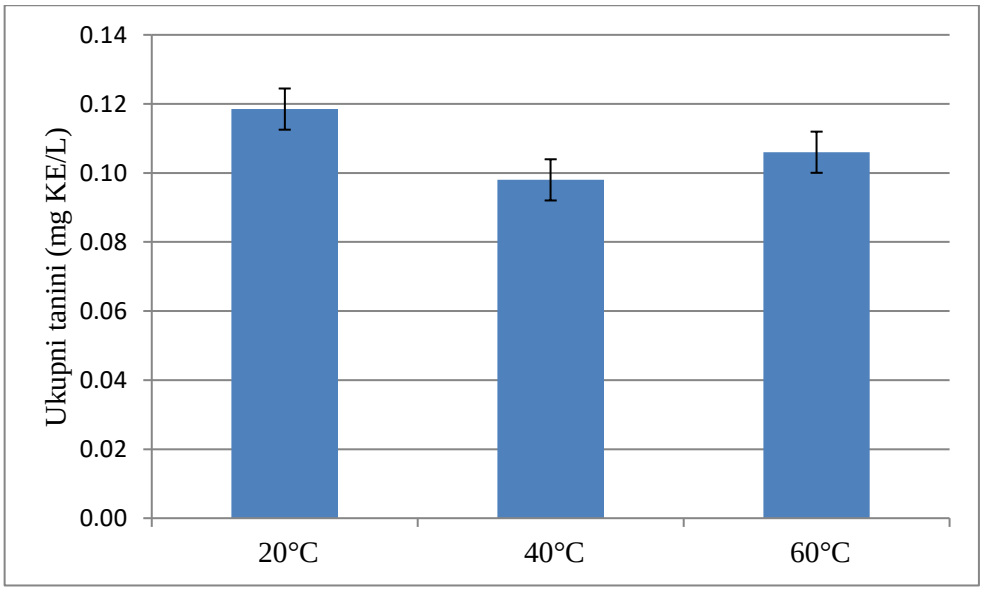
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 32. Sadržaj tanina u etanolnim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



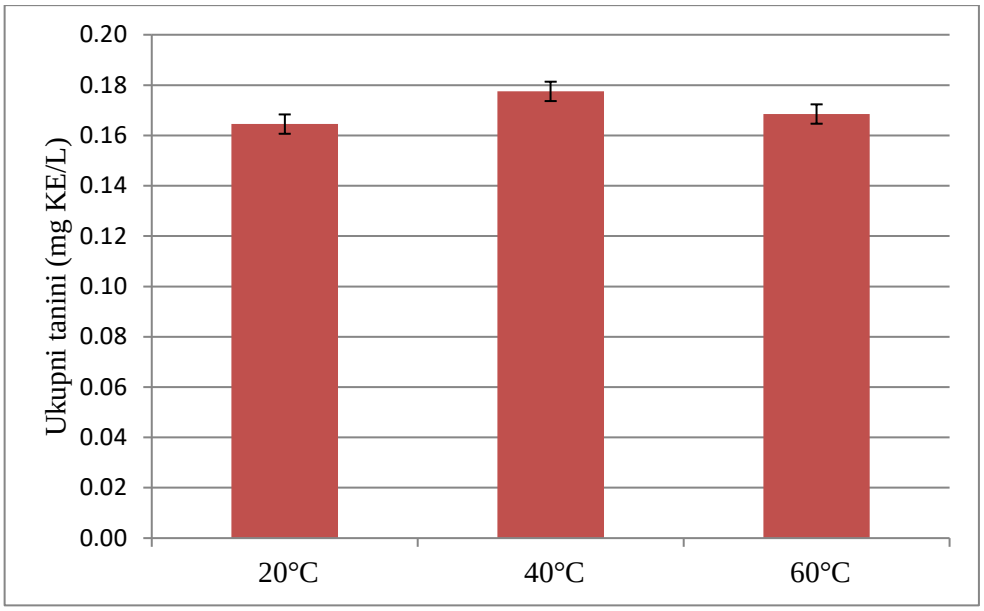
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 33. Sadržaj tanina u acetonskim ekstraktima *Dictyota dichotoma* pripravljenim na različitim temperaturama



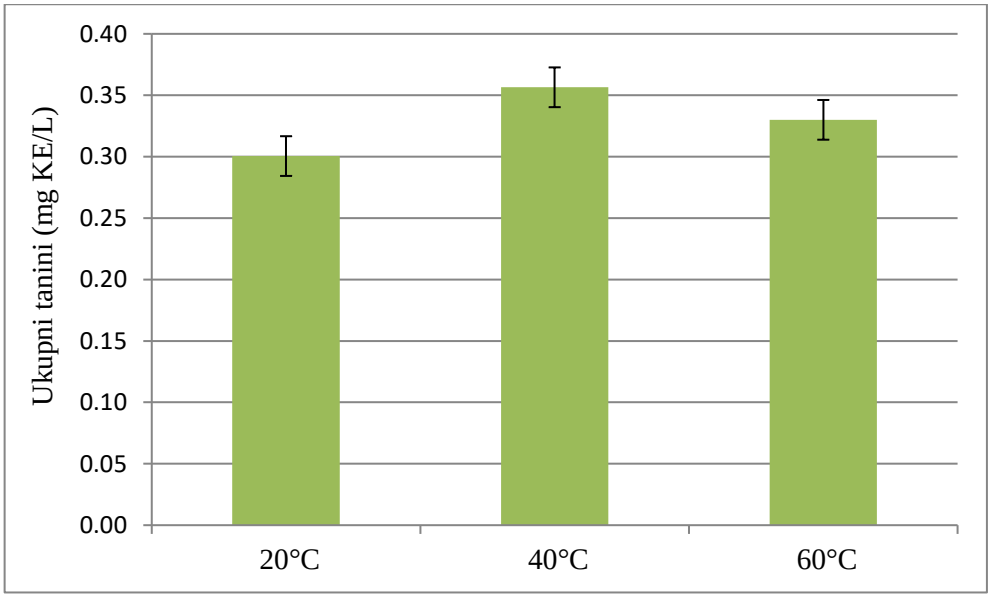
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 34. Sadržaj tanina u vodenim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



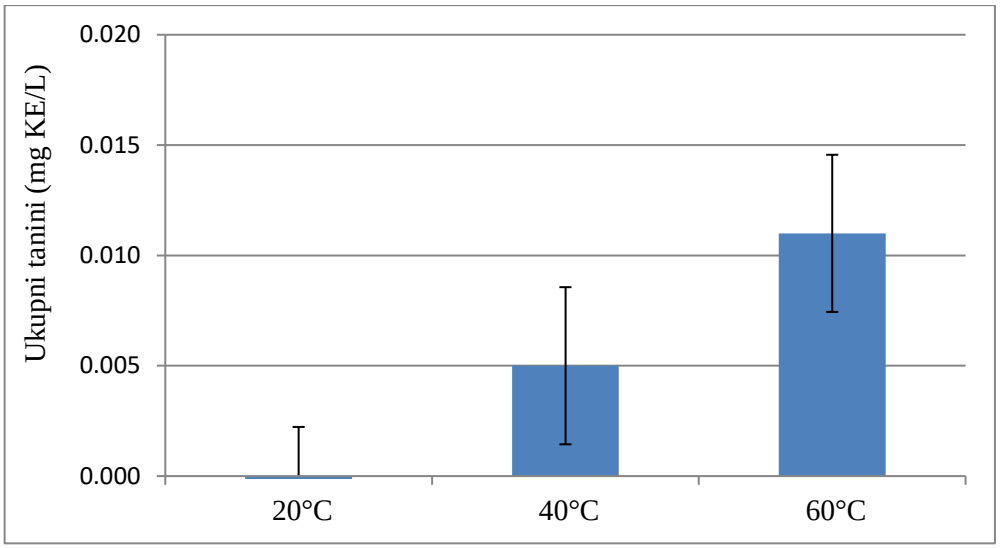
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 35. Sadržaj tanina u etanolnim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



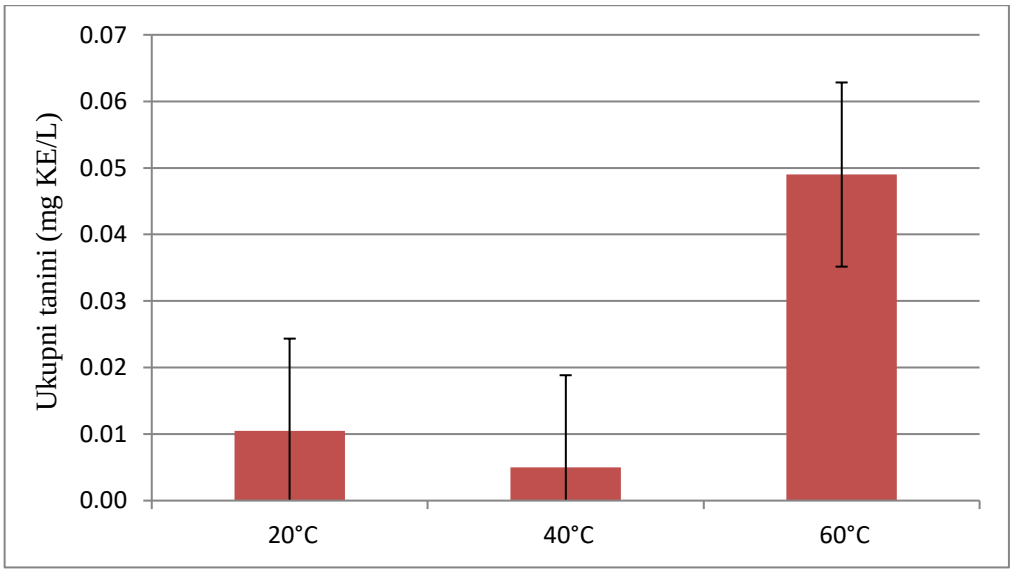
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 36. Sadržaj tanina u acetonskim ekstraktima *Padina pavonica* pripravljenim na različitim temperaturama



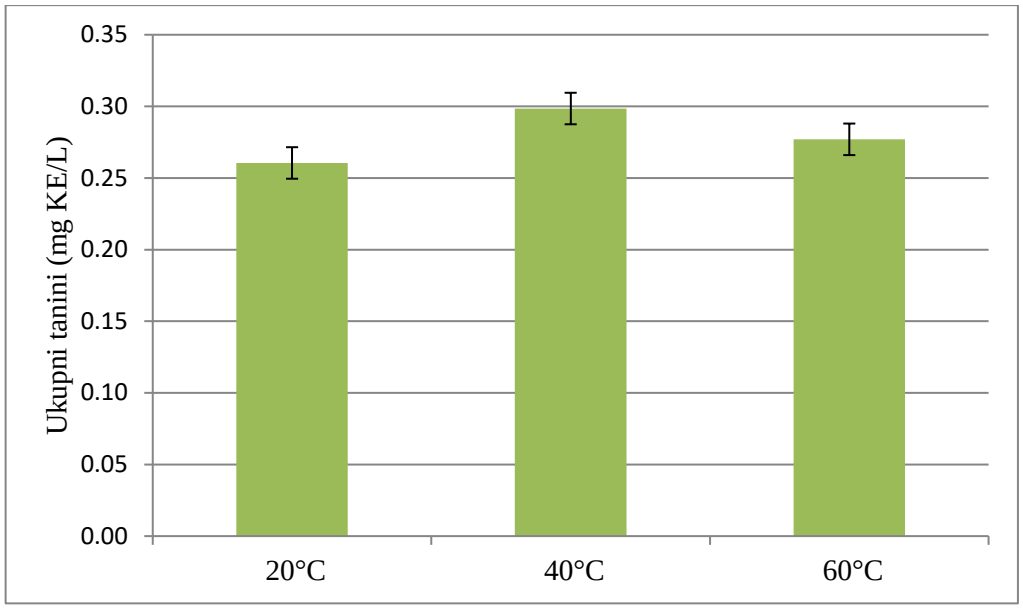
*KE – katehin ekvivalenti

Slika 37. Sadržaj tanina u vodenim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*KE – katehin ekvivalenti

Slika 38. Sadržaj tanina u etanolnim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama



*KE – katehin ekvivalenti

Slika 39. Sadržaj tanina u acetonskim ekstraktima *Ulva lactuca* pripravljenim na različitim temperaturama

4. RASPRAVA

Zadatak ovog završnog rada bio je odrediti sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tanina u ekstraktima jadranskih algi *Dictyota dichotoma, Padina pavonica* i *Ulva lactuca.* Također, osim fenolnog potencijala istraživanih vrsta, testirana je i optimalna metoda ekstrakcije fenola tako da je ispitivan utjecaj različitih temperatura (20°C, 40°C i 60°C) na količinu ekstrahiranih fenolnih spojeva, kao i utjecaj triju različitih otapala (destilirana voda, etanol i aceton).

Rezultati određivanja ukupnih fenola primjenom različitih otapala pri različitim temperaturama ekstrakcije ukazuju na različitosti u količini ekstrahiranih fenolnih spojeva među istraživanim ekstraktima. Ukupni fenoli određeni su metodom po Folin-Ciocalteu, a izraženi su u mg GAE/L (slike 13-21).

Najveća količina ukupnih fenola u ekstraktima alge *Dictyota dichotoma* pronađena je u acetonskim ekstraktima od kojih je najbogatiji fenolima bio ekstrakt pripravljen pri 20°C (401 mg GAE/L). Nešto niže koncentracije ukupnih fenola nađene su u etanolnim ekstraktima, dok su vodeni ekstrakti alge *Dictyota dichotoma* bili najsiromašniji fenolima (127-218 mg GAE/L). Ono što se također može primijetiti kod svih ekstrakata ove vrste je da su fenolima najbogatiji ekstrakti bili pripravljeni na temperaturi 20°C (slike 13, 14 i 15). Nadalje, kod alge *Padina pavonica* ponovno su najveće količine fenola pronađene u acetonskim ekstraktima, a slijede ih etanolni i vodeni (slike 16-18). Ekstrakt sa najvećim sadržajem fenola je acetonski ekstrakt pripremljen pri temperaturi od 60°C (644 mg GAE/L). Najveća koncentracija ukupnih fenola kod ekstrakta alge *Ulva lactuca* pronađena je u acetonskom ekstraktu pripravljenom pri temperaturi od 40°C (122 mg GAE/L), a sličnu koncentraciju fenola imao je i vodeni ekstrakt pripravljen pri temperaturi od 20°C (120 mg GAE/L). Dok su svi acetonski ekstrakti imali najveće količine fenola kod svih algi, gledajući temperaturu ekstrakcije može se primijetiti da alga *Dictyota dichotoma* najveću količinu fenolnih spojeva sadrži u ekstraktima pripremljenim pri 20°C, *Padina pavonica* u onima pripremljenim pri 60°C, a *Ulva lactuca* u ekstraktima pripremljenim pri 40°C pa se općeniti zaključak o optimalnoj temperaturi ekstrakcije ne može donijeti.

U ekstraktima je određena i koncentracija ukupnih flavonoida koja je izražena u mg QE/L (slike 22-30).

Aceton pri 20°C se pokazao učinkovitijim ekstrakcijskim sredstvom od vode i etanola kod algi *Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica*, dok je kod alge *Ulva lactuca* najveću moć ekstrakcije flavonoida pokazala voda kao ekstrakcijsko otapalo i to pri 20°C. Rezultati određivanja ukupnih flavonoida u ekstraktima smeđe alge *Dictyota dichotoma* također ukazuju na varijacije među uzorcima. U acetonskim se ekstraktima uočava najveća koncentracija ekstrahiranih flavonoida, a u ekstraktu pripremljenom pri 20°C ta količina iznosi čak 1053 mg QE/L (slika 24). Također se može uočiti da su najbogatiji ekstrakti pripravljeni pri 20°C te da s porastom temperature ekstrakcije opada udio flavonoida u ekstraktima. Etanolni ekstrakti pokazuju nešto nižu vrijednost, dok su vodeni ekstrakti najsiromašniji flavonodima (23-65 mg QE/L). Uspoređujući ekstrakte smeđe alge *Padina pavonica* može se zaključiti da acetonski ekstrakti sadrže znatno više koncentracije ukupnih flavonoida (197-233 mg QE/L), nego li vodeni (77-104 mg QE/L) i etanolni ekstrakti (143-160 mg QE/L). Dobiveni rezultati određivanja ukupnih flavonoida u ekstraktima zelene alge *Ulva lactuca* ukazuju na to da su najviše koncentracije flavonoida pronađene u vodenom ekstraktu pripremljenom pri temperaturi od 20°C (198 mg QE/L), dok su etanolni i acetonski ekstrakti imali približno jednake vrijednosti (16-40 mg QE/L u rasponu temperature od 20°C do 60°C). Iz navedenog je vidljivo da je aceton bio ponovno najpogodnije otapalo za ekstrakciju flavonoida kod smeđih algi dok se kod istraživane zelene alge najboljom pokazala voda.

Rezultati određivanja ukupnih tanina u ekstraktima izraženi su u mg KE/L (slike 31-39). Najbolje ekstrakcijsko otapalo za ekstrakciju tanina kod algi *Dictyota dichotoma, Padina pavonica* i *Ulva lactuca* je bio opet aceton. Kod alge *Dictyota dichotoma* najveću vrijednost ukupnih tanina sadrži acetonski ekstrakt pri 20°C, dok je kod algi *Padina pavonica* i *Ulva lactuca* najveći sadržaj tanina dokazan u acetonskom ekstraktu pripravljenom pri 40°C. Vidljivo je da su ponovno najveću koncentraciju ukupnih tanina sadržavali acetonski ekstrakti kod svih triju algi. Kod *Dictyote dichotome* sadržaj tanina u acetonskim ekstraktima se kretao od 0,41 do 0,52 mg KE/L, nešto nižu koncentraciju imali su etanolni ekstrakti, dok je kod vodenih ekstrakata ta vrijednost bila najniža. U ekstraktima alge *Padina pavonica* koncentracija ukupnih tanina pronađena u acetonskim ekstraktima je bila od 0,30 mg KE/L pri 20°C do 0,36 mg KE/L pri 40°C. Opet su niže koncentracije je pronađene u etanolnim, a najniže u vodenim ekstraktima.

Dobiveni rezultati određivanja ukupnih tanina u ekstraktima zelene alge *Ulva lactuca* ukazuju na to da su vodeni i etanolni ekstrakti vrlo siromašni taninima (0,01-0,05 mg KE/L), dok se kod acetonskih ekstrakata uočava nešto viša vrijednost. Aceton se pokazao kao najbolje ekstrakcijsko otapalo i za tanine kod svih uzoraka.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da otapalo i temperatura imaju veliki utjecaj kod odabira optimalne metode ekstrakcije za izolaciju bioaktivnih komponenti iz jadranskih algi *Ulva lactuca, Dictyota dichotoma* i *Padina pavonica.* Najveća količina ukupnih fenola u ekstraktima istraživanih algi pronađena je u acetonskim ekstraktima što potvrđuje da se aceton može smatrati najboljim izborom otapala, dok se općeniti zaključak o optimalnoj temperaturi ne može donijeti. Iz dobivenih rezultata određivanja ukupnih flavonoida može se uočiti da su najbogatiji ekstrakti pripravljeni pri 20°C te da s porastom temperature ekstrakcije opada udio flavonoida u ekstraktima. Također je zanimljivo primijetiti da se u slučaju smeđih algi za ekstrakciju flavonoida najboljim pokazao aceton, dok je kod alge *Ulva lactuca* najveću moć ekstrakcije pokazala voda. Najveću koncentraciju ukupnih tanina sadržavali su acetonski ekstrakti kod svih triju algi, i to pripravljeni pri temperaturi od 40°C kod algi *Padina pavonica* i *Ulva lactuca,* dok je kod alge *Dictyota dichotoma* taninima najbogatiji ekstrakt bio pripravljen pri 20°C.

6. LITERATURA

1. Kandale A, Meena AK, Rao MM, Panda P, Mangal AK,Reddy G, Babu R. Marine algae: An Introduction, Food value and Medicinal uses, Review Article. J Pharm Res. 2011;4(1):219.
2. Kılınç B, Cirik S, Turan G, Tekogul H, Koru E. Seaweeds for Food and Industrial Applications. In: Food Industry, Edition: 1 st, Chapter: 31. 2013. pp. 735-748.http://dx.doi.org/10.5772/53172
3. Keiji I, Kanji H. Seaweed: Chemical composition and potential food uses. Food Rev Int. 1989;(5):101-144. https://doi.org/10.1080/87559128909540845
4. Brijesh KT, Declan JT, editors. Seaweed sustainability: Food and nonfood application. 2015. Available from : https://www.researchgate.net
5. Raja A, Vipin C, Aiyappan A. Biological importance of Marine Algae. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2013;2(5): 222-227.
6. Abbott IA. Seaweeds and their uses. Aquat Bot. 1982;12:389-390.
7. 3 Types of Sea Weed (Marine Algae), https://www.thoughtco.com/types-of-marine-algae-2291975 (PRISTUPLJENO 20.3.2018.)
8. Botanika, http://hirc.botanic.hr/botanika/predavanja/botanika-mb-05-%20chlorophyta.pdf (PRISTUPLJENO 20.3.2018.)
9. Zelene alge, https://hr.wikipedia.org/wiki/Zelene_alge (PRISTUPLJENO 20.3.2018.)
10. Caulerpe, http://www.geografija.hr/hrvatska/caulerpe-i-dalje-u-jadranu/ (PRISTUPLJENO 21.3.2018.)
11. Morska salata, https://hr.wikipedia.org/wiki/Morska_salata (PRISTUPLJENO 21.3.2018.)
12. Ulva lactuca, https://www.biolib.cz/en/image/id7080/ (PRISTUPLJENO 21.3.2018.)
13. Jadranski bračić,http://www.bioteka.hr/modules/okolis/article.php?storyid=24 (PRISTUPLJENO 22.3.2018.)
14. Jadranski bračić, http://dalibor-andres.from.hr/uw/jas_002.htm (PRISTUPLJENO 22.3.2018.)
15. Laminaria digitata, https://en.wikipedia.org/wiki/Laminaria_digitata (PRISTUPLJENO 22.3.2018.)

16. *Dictyota dichotoma*, http://www.waterwereld.nu/dichotoma.php (PRISTUPLJENO 22.3.2018.)
17. Paunov rep, https://hr.wikipedia.org/wiki/Paunov_rep (PRISTUPLJENO 17.8.2018.)
18. Porphyra tenera, https://hr.wikipedia.org/wiki/Porphyra (PRISTUPLJENO 18.8.2018.)
19. Porphyra tenera, http://deskuenvis.nic.in/microbes.asp?list=1&page=1 (PRISTUPLJENO 18.8.2018.)
20. Japanski sushi,https://www.taste.com.au/recipes/basic-sushi-rice-2/b1b02a4b-70da-43c8-9e51-3fb3ceb26de0 (PRISTUPLJENO 18.8.2018.)
21. Dominguez H. Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals. Woodhead Publishing Limited, 2013.
22. Struktura EPA, http://nuttimilk.com/nutti-news/learn-about-omega-3-fatty-acids-and-why-theyre-special/ (PRISTUPLJENO 10.2.2018.)
23. Matonić D. Alge u prehrani čovjeka. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016.
24. Struktura kaulerpina, http://www.mdpi.com/1660-3397/7/4/689 (PRISTUPLJENO 10.2.2018.)
25. Singleton VL, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Viticult. 1965;16:144-158.
26. Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine. 2005;12:221-228.
27. Julkunen-Titto R. Phenolic constituents in the leaves of northen willow: Methods for the analysis of certain phenolics. J Agric Food Chem. 1985;33:213-217. https://doi.org/10.1021/jf00062a013
28. Usoltseva RV, Shevchenko NM, Malyarenko OS, Ishina IA, Ivannikova SI, Ermakova SP. Structure and anticancer activity of native and modified polysaccharides from brown alga *Dictyota dichotoma*. Carbohydr Polym. 2018;180:21-28.