

# Određivanje sastava masnih kiselina iz odabranih vrsta makroalgi iz Jadranskog mora

---

**Katić, Maja**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:370131>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-04**

REPOZITORIJ

**PTF**

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

**dabar**  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Maja Katić**  
**ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA IZ ODABRANIH VRSTA  
MAKROALGI IZ JADRANSKOG MORA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2022.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane  
Katedra za kakvoću hrane  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Znanost o hrani i nutricionizam**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Instrumentalne metode I  
**Tema rada** je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj održanoj 28. travnja 2022.  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Ivana Flanjak*  
**Komentor:** prof. dr. sc. *Stela Jokić*  
**Pomoć pri izradi:** dr. sc. *Ana-Marija Cikoš*

**Određivanje sastava masnih kiselina iz odabranih vrsta makroalgi iz Jadranskog mora**

*Maja Katić, 0113144914*

**Sažetak:**

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti masnokiselinski profil iz određenih vrsta makroalgi Jadranskog mora (*Cystoseira corniculata*, *Ericaria amentacea*, *Dictyota fasciola*, *Sargassum hornschurchii*, *Codium vermilara*) u svrhu otkrivanja potencijalne iskoristivosti u nutricionizmu i prehrambenoj industriji. Ekstrakcija ukupnih lipida provedena je metodom po Folch-u, nakon čega su transesterificirani u metilne estere masnih kiselina (FAME) koji su kao takvi analizirani pomoću plinske kromatografije sa plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID). Najveću zastupljenost u svim vrstama zauzela je palmitinska kiselina (C16:0), a iza nje u većini vrsta se ističu i izomeri oleinske kiseline (C18:1n9c+t). Od dvije najvažnije n-3 masne kiseline, identificirana je eikosapentaenska kiselina (C20:5n3), dok u ispitivanim uzorcima dokosaheksaenska kiselina (C22:6n6) nije detektirana. Najveći udio C20:5n3 utvrđen je kod vrste *D. fasciola*, a najmanji kod vrste *C. vermilara*. Rezultati ovog rada ukazuju na najbolji sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (PUFA/SFA) i indeks nezasićenosti (IU) kod vrste *S. hornschurchii*, dok je najpovoljniji indeks aterogenosti (IA) utvrđen kod *C. vermilara*, indeks trombogenosti (IT) kod *D. fasciola* i najpovoljniji hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer (HH) kod vrste *C. corniculata*. Rezultati provedenog eksperimentalnog rada ukazuju na vrlo male razlike u masnokiselinskom profilu ispitivanih vrsta te stoga one imaju sličan potencijal u nutricionizmu i prehrambenoj industriji.

**Ključne riječi:** masne kiseline, polinezasićene masne kiseline, zasićene masne kiseline, makroalge, nutritivni indeksi

**Rad sadrži:** 58 stranica  
5 slika  
13 tablica  
57 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

|   |               |
|---|---------------|
| 1. dr. sc. <i>Blanka Bilić Rajs, znan. sur.</i> | Predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Ivana Flanjak</i>      | član-mentor   |
| 3. prof. dr. sc. <i>Stela Jokić</i>             | član-komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i>         | zamjena člana |

**Datum obrane:** 26.9.2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food and nutrition Research**  
**Subdepartment of Food Quality**  
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food Science and Nutrition

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Course title:** Instrumental Method of Analysis I

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 28, 2022.

**Mentor:** Ivana Flanjak, PhD, associate prof.

**Co-mentor:** Stela Jokić, PhD, prof.

**Technical assistance:** Ana-Marija Cikoš, PhD

### Determination of the Fatty Acids Content of Selected Macroalgae Species from the Adriatic Sea

*Maja Katić, 0113144914*

#### Summary:

The aim of this research was to determine the fatty acids profile of certain types of macroalgae from the Adriatic Sea (*Cystoseira corniculata*, *Ericaria amentacea*, *Dictyota fasciola*, *Sargassum hornschurchii*, *Codium vermilara*) in order to discover their potential in nutrition and the food industry. Total lipids were extracted using the Folch method, after which they were converted into fatty acid methyl esters (FAME), and as such were analysed using gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). Palmitic acid (C16:0) was the most represented in all species, followed by isomers of oleic acid (C18:1n9c+t) in most species. Only one of the two most important n-3 was identified, eicosapentaenoic acid (20:5n3), while docosahexaenoic acid (C22:6n6) was not detected in analysed samples. The highest percentage of C20:5n3 was found in the *D. fasciola* species, and the lowest in the *C. vermilara* species. The results of this work indicate the best content of polyunsaturated fatty acids (PUFA), polyunsaturated and saturated fatty acids ratio (PUFA/SFA), and unsaturation index (IU) in the species *S. hornschurchii*, while the most favourable atherogenic index (IA) was found in *C. vermilara*, thrombogenic index (IT) in *D. fasciola* and the most favourable hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratio (HH) in the species *C. corniculata*. The results of the conducted experimental work indicate very small differences in the fatty acid profile of the tested species and therefore they are found to have similar potential in nutrition and the food industry.

**Key words:** fatty acids, polyunsaturated fatty acids, saturated fatty acids, macroalgae, nutritional indices

**Thesis contains:** 58 pages  
5 figures  
13 tables  
57 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. <i>Blanka Bilić Rajs</i> , PhD                 | chair person |
| 2. <i>Ivana Flanjak</i> , PhD, associate prof     | Supervisor   |
| 3. <i>Stela Jokić</i> , PhD, prof.                | Co-mentor    |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assistant prof. | stand-in     |

**Defense date:** September 26, 2022.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

*Najljepše zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Flanjak i dr. sc. Ana-Mariji Cikoš na nesebičnoj pomoći, savjetima, pristupačnosti i ljubaznosti tijekom planiranja i izrade ovog diplomskog rada.*

*Veliko hvala dr. sc. Ana-Mariji Cikoš i dipl. ing. Katarini Gal na suradnji prilikom izvođenja eksperimenata i stvaranju ugodne radne atmosfere u laboratoriju.*

*Veliko HVALA mojim roditeljima koji su me tijekom cijelog mog školovanja poticali i motivirali, hvala Vam za ljubav i podršku koju ste mi nesebično davali! Od srca hvala mom dečku, obitelji, rodbini i svim prijateljima koji su bili uz mene tijekom studiranja.*

## Sadržaj

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. UVOD</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>2.1. MAKROALGE</b> .....  | <b>6</b>  |
| 2.1.1. Rod <i>Cystoseira</i> .....   | 7         |
| 2.1.2. Rod <i>Sargassum</i> .....  | 10        |
| 2.1.3. Rod <i>Dictyota</i> .....   | 12        |
| 2.1.4. Rod <i>Codium</i> .....   | 13        |
| <b>2.2. MASNE KISELINE U SMEĐIM ALGAMA</b> .....   | <b>15</b> |
| <b>2.3. MASNE KISELINE U ZELENIM ALGAMA</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....  | <b>19</b> |
| <b>3.1. ZADATAK RADA</b> .....   | <b>20</b> |
| <b>3.2. MATERIJAL</b> .....  | <b>20</b> |
| <b>3.3. METODE</b> .....   | <b>21</b> |
| 3.3.1. Priprema uzoraka .....  | 21        |
| 3.3.2. Ekstrakcija ukupnih lipida metodom po Folch-u .....   | 21        |
| 3.3.3. Identifikacija i kvantifikacija masnih kiselina metodom plinske kromatografije s plameno-<br>ionizacijskim detektorom (GC-FID)..... | 22        |
| 3.3.4. Izračun nutritivnih indeksa .....   | 23        |
| <b>4. REZULTATI</b> .....  | <b>25</b> |
| <b>4.1. REZULTATI</b> .....  | <b>26</b> |
| 4.1.1. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđih makroalgi <i>Cystoseira corniculata</i> i <i>Ericaria<br/>amentacea</i> .....         | 26        |
| 4.1.2. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđe makroalge <i>Sargassum hornschurchii</i> .....   | 28        |
| 4.1.3. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđe makroalge <i>Dictyota fasciola</i> .....   | 29        |
| 4.1.4. GC-FID analiza sastava masnih kiselina zelene makroalge <i>Codium vermilara</i> .....   | 30        |
| <b>5. RASPRAVA</b> .....   | <b>31</b> |
| <b>5.1. SASTAV MASNIH KISELINA U SMEĐIM MAKROALGAMA <i>CYSTOSEIRA CORNICULATA</i> I <i>ERICARIA AMENTACEA</i></b> .....                    | <b>32</b> |
| <b>5.2. SASTAV MASNIH KISELINA SMEĐE MAKROALGE <i>DICTYOTA FASCIOLA</i></b> .....  | <b>34</b> |
| <b>5.3. SASTAV MASNIH KISELINA SMEĐE MAKROALGE <i>SARGASSUM HORNSCHUCHII</i></b> .....   | <b>35</b> |
| <b>5.4. SASTAV MASNIH KISELINA ZELENE MAKROALGE <i>CODIUM VERMILARA</i></b> .....  | <b>36</b> |
| <b>5.5. RAZLIKA U MASNOKISELINSKOM PROFILU SMEĐIH I ZELENE MAKROALGI</b> .....   | <b>37</b> |
| <b>6. ZAKLJUČCI</b> .....  | <b>39</b> |
| <b>7. LITERATURA</b> .....   | <b>41</b> |



### Popis oznaka, kratica i simbola

|            |   |
|------------|---|
| C4:0       | maslačna kiselina (engl. butyric acid)  |
| C6:0       | kapronska kiselina (engl. caproic acid)   |
| C8:0       | kaprilna kiselina (engl. caprylic acid)   |
| C10:0      | kaprinska kiselina (engl. capric acid)  |
| C11:0      | unidekanska kiselina (engl. undecanoic acid)                                    |
| C12:0      | laurinska kiselina (engl. lauric acid)  |
| C13:0      | tridekanska kiselina (engl. tridecanoic acid)                                   |
| C14:0      | miristinska kiselina (engl. myristic acid)                                      |
| C15:0      | pentadekanska kiselina (engl. pentadecanoic acid)                               |
| C16:0      | palmitinska kiselina (engl. palmitic acid)                                      |
| C17:0      | heptadekanska kiselina (engl. heptadecanoic acid)                               |
| C18:0      | stearinska kiselina (engl. stearic acid)  |
| C20:0      | arahidska kiselina (engl. arachidic acid)                                       |
| C21:0      | heneikozanoična kiselina (engl. heneicosanoic acid)                             |
| C22:0      | behenska kiselina (engl. behenic acid)  |
| C23:0      | trikozanoična kiselina (engl. tricosanoic acid)                                 |
| C24:0      | lignocerinska kiselina (engl. lignoceric acid)                                  |
| C14:1      | miristoleinska kiselina (engl. myristoleic acid)                                |
| C15:1      | <i>cis</i> -10-pentadekanska kiselina (engl. <i>cis</i> -10-pentadecenoic acid) |
| C16:1      | palmitoleinska kiselina (engl. palmitoleic acid)                                |
| C17:1      | <i>cis</i> -10-heptadekanska kiselina (engl. <i>cis</i> -10-heptadecenoic acid) |
| C18:1n9c   | oleinska kiselina (engl. oleic acid)  |
| C18:1n9t   | elaidična kiselina (engl. elaidic acid)   |
| C18:1n9c+t | izomeri oleinske kiseline (engl. isomers of oleic acid)                         |
| C20:1      | eikosenska kiselina (engl. eicosenoic acid)                                     |
| C20:1n9    | <i>cis</i> -11-eikosenska kiselina (engl. <i>cis</i> -11-eicosenoic acid)       |

|            |  |
|------------|--|
| C22:1n9    | eručna kiselina (engl. erucic acid)  |
| C24:1      | nervonična kiselina (engl. nervonic acid)  |
| C18:2n6    | linolna kiselina (engl. linoleic acid)   |
| C18:2n6c   | <i>cis</i> -linolna kiselina (engl. <i>cis</i> -linoleic acid)   |
| C18:2n6t   | <i>trans</i> -linolna kiselina (engl. <i>trans</i> -linoleic acid)   |
| C20:2n6    | eikosadienska kiselina (engl. eicosadienoic acid)  |
| C22:2      | dokosadienska kiselina (engl. docosadienoic acid)  |
| C16:3      | heksadekatrienska kiselina (engl. hexadecatrienoic acid)   |
| C18:3n6    | $\gamma$ -linolenska kiselina (engl. $\gamma$ -linolenic acid)   |
| C18:3n3    | $\alpha$ -linolenska kiselina (engl. $\alpha$ -linolenic acid)   |
| C18:4n3    | stearidonska kiselina (engl. stearidone acid)  |
| C20:3n3    | eikosatrienska kiselina (engl. eicosatrienoic acid)  |
| C20:3n6    | eikosatrienska kiselina (engl. eicosatrienoic acid)  |
| C20:4n3    | oktadekatetraenska kiselina (engl. octadecatetraenoic acid)  |
| C20:4n6    | arahidonska kiselina (engl. arachidonic acid)  |
| C20:5n3    | eikosapentaenska kiselina (engl. eicosapentaenoic acid)  |
| C22:5      | dokosapentaenska kiselina (engl. docosapentaenoic acid)  |
| C22:6n3    | dokosaheksaenska kiselina (engl. docosahexaenoic acid)   |
| FA         | masne kiseline (engl. fatty acids)   |
| FAME       | metilni esteri masnih kiselina (engl. fatty acid methyl esters)  |
| GC-FID     | GC-FID plinska kromatografija s plameno-ionizacijskim detektorom (engl. gas chromatography with flame ionization detector) |
| HH         | hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer (engl. hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratio)                  |
| IA         | aterogeni indeks (engl. atherogenic index)   |
| IT         | trombogeni indeks (engl. thrombogenic index)   |
| MUFA       | mononezasićene masne kiseline (engl. monounsaturated fatty acids)  |
| n-3 ili n3 | omega 3  |

|                   |  |
|-------------------|--|
| n-6 ili n6        | omega 6  |
| n-9 ili n9        | omega 9  |
| PUFA              | polinezasićene masne kiseline (engl. polyunsaturated fatty acids)  |
| PUFA/SFA          | omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (engl. polysaturated and saturated fatty acids ratio)  |
| SFA               | zasićene masne kiseline (engl. saturated fatty acids)  |
| UFA               | nezasićene masne kiseline (engl. unsaturated fatty acids)  |
| UI                | indeks nezasićenosti (engl. unsaturation index)  |
| UPLC-PDA-ESI-QTOF | tekućinska kromatografija s elektrosprej ionizacijskom masenom spektrometrijom i kvadrupol analizatorom vremena leta (engl. liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and quadrupole time-of-flight analyzer) |

## **1. UVOD**

Makroalge su bogat izvor različitih komponenata među kojima se može istaknuti njihov sadržaj masnih kiselina (FA). Sama činjenica o prisustvu visokovrijednih sastojaka potakla je znanstvenike da istražuju na koje sve načine bi se ovi organizmi mogli iskoristiti. Neka provedena istraživanja dovela su do toga da danas na raznim etiketama prehrambenih, farmaceutskih i kozmetičkih proizvoda možemo uočiti različite vrste makroalgi kao sastojke tih proizvoda. Sistematizacija makroalgi provodi se na temelju boje talusa te možemo razlikovati zelene (*Chlorophyta*), crvene (*Rhodophyta*) i smeđe (*Ochrophyta*) makroalge. Smeđe morske alge su pretežito smeđe boje zbog sadržaja karotenoida i fukoksantina, a njihovi glavni polisaharidi su alginati, laminarini, fukani i celuloza; zelene morske alge karakterizira visok sadržaj klorofila *a* i *b*, pri čemu je glavni polisaharid ulvan; dok su u crvenim morskim algama glavni pigmenti fikoeritrin, fikocijanin, a primarni polisaharidi su agar i karagenan (Rushdi i sur., 2020). Mogu se sastojati od jedne samostalne stanice ili više grupiranih stanica, a mogu biti i organizmi s više stanica koje često surađuju zajedno poput tkiva. Tijekom rasta i prilagodbe na ekstremne uvjete okoliša (temperaturne oscilacije, salinitet, ultraljubičasto zračenje, polutanti), makroalge imaju sposobnost biosinteze različitih organskih spojeva, među kojima su isparljivi organski spojevi, pigmenti (klorofili, karotenoidi), polinezasićene masne kiseline (PUFA) te drugi spojevi poput polifenola, vitamina, minerala i polisaharida (Cikoš, 2021).

Nutritivna vrijednost masnih kiselina je neosporna, one su važne komponente stanične stijenke, a sudjeluju i u proizvodnji određenih hormona i žučnih soli te imaju važnu regulativnu funkciju u staničnoj aktivnosti i genetskom nasljeđivanju (Goecke i sur., 2010). Neke FA organizam sam ne može sintetizirati, stoga je bitan unos hranom kako bi se omogućila normalna funkcija organizma. Makroalge su postale zanimljive zbog svog sadržaja omega tri (n-3) PUFA koje uključuju, između ostalih, eikosapentaensku kiselinu (C20:5n3) i dokosaheksaensku kiselinu (C22:6n3) za koje je utvrđeno da imaju pozitivan učinak na zdravlje, a mogu se pronaći u namirnicama kao što su riba, maslinovo ulje, orašasti plodovi, avokado i sl. One se mogu sintetizirati u tijelu iz  $\alpha$ -linolenske kiseline (C18:3n3), ali u malim količinama. Najzastupljenije PUFA u crvenim i smeđim makroalgama su eikosapentaenska kiselina (n-3) te arahidonska kiselina (C20:4n6) (n-6), dok zelene makroalge većinom sadrže linolnu (C18:2n6) (n-6) kiselinu i C18:3n3 (n-3) kiselinu (Cikoš, 2021).

Izračunavanje nutritivnih indeksa koji mogu poslužiti kao markeri koji ukazuju na pozitivno ili negativno djelovanje FA na ljudsko zdravlje je vrlo bitno za procjenu rizika od kroničnih bolesti koje su povezane s unosom određenih FA u organizam. Nutritivni indeksi koji su izračunati na temelju masnokiselinskog sastava izabranih makroalgi su aterogeni indeks (IA), trombogeni indeks (IT), hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer (HH), indeks nezasićenosti (IU) i omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (PUFA/SFA).

Cilj rada je odrediti sastav FA odabranih vrsta makroalgi iz Jadranskog mora (*Cystoseira corniculata*, *Ericaria amentacea*, *Dictyota fasciola*, *Sargassum hornschurchii*, *Codium vermilara*) i odrediti nutritivne indekse istih, kako bi se istražio učinak na zdravlje i dodatni potencijal ovih makroalgi.



## **2. TEORIJSKI DIO**



## 2.1. MAKROALGE

Makroalge čine mali dio morskog ekosustava i kriju velik potencijal s naglaskom na njihova ljekovita svojstva. Nalaze se na dubinama gdje je moguće prodiranje svjetla koje je potrebno za proces fotosinteze kojim sebi stvaraju hranu (organske tvari), ugljikov dioksid i kisik. Budući da makroalge žive u ekstremnim uvjetima, moraju razvijati mehanizme obrane i naučiti kako se prilagoditi tim fluktacijama u okolini (Cikoš i sur., 2018). Mogu biti različitih dimenzija od nekoliko centimetara do nekoliko metara. Nadalje, makroalge su jednostavni organizmi koji sadrže bioaktivne spojeve, a sistematizacija istih provedena je na temelju prisutnih pigmenata. Pigmenti se nalaze unutar plastida u kojima se odvija proces fotosinteze. Zbog navedenog procesa često se ubrajaju u carstvo biljaka. Morfološki su detaljno opisana tri dijela talusa alge: držač ili korijen (bazalna ploča, rizoid), stablo ili stručak (kauloid, središnja os) i filoidni dijelovi koji se sastoje od grana, lopatica (listova, filoklada), sjemena, aerocista (zračni mjehuri, plinom ispunjeni mjehuri, plivači mjehuri) i fruktifikacija (Špan, 2005). Makroalge su klasificirane prema boji talusa (steljke), odnosno boji tijela, razlikuju se zelene (*Chlorophyta*), smeđe (*Phaeophyta*) i crvene makroalge (*Rhodopyta*). Neke vrste makroalgi pokazale su pozitivno djelovanje u terapiji hiperkolesterolemije zbog prisutnosti polisaharida koji snižavaju razine lipida u krvi i ukupni kolesterol. Alge se smatraju dobrim izvorom dijetalnih vlakana zbog prisutnosti neprobavljivih polisaharida u staničnoj stijenci (Cikoš i sur., 2018). Polisaharidi imaju sposobnost apsorpcije kolesterola te samim time povećavaju sposobnost izlučivanja kolesterola iz organizma. Njihov sadržaj vlakana smanjuje apsorpciju makronutrijenata što posljedično dovodi do povećanja inzulinske osjetljivosti. Povećanje inzulinske osjetljivosti povećava osjećaj sitosti što nadalje dovodi do smanjenog unosa energije. Morske alge su korištene kao hrana osobito u Kini i Japanu te su često sastojak lijekova za liječenje mnogih bolesti kao što je nedostatak joda (gušavost, Basedowljeva bolest i hipertireodizam) (Cvitković, 2019).

Ono na što se stavlja velika pozornost je sadržaj esencijalnih FA te sterola koji se danas pokušavaju maksimalno iskoristiti. U prehrambenoj industriji se zbog prisutnosti raznih spojeva, makroalge mogu iskoristiti kao sastojak funkcionalnih prehrambenih proizvoda, sredstva za proizvodnju prirodnih bojila, a isto tako pronalaze primjenu u proizvodnji biogoriva te biokemijskih proizvoda. Neke vrste makro- i mikroalgi proizvode širok raspon kemijski aktivnih metabolita u svojoj okolini, poznatih kao biogeni spojevi koji imaju antibakterijska,

antialgalna, antifungalna svojstva te imaju druge moguće primjene npr. u terapiji (Cvitković, 2019). Kemijske strukture koji se mogu pronaći unutar algi su masne kiseline, amidi, alkaloidi, terpeni, laktoni, lipoproteini, pirol i steroidi. Najvažniji i istraženi bioaktivni spojevi su polifenoli, polisaharidi, karotenoidi i PUFA (Cikoš i sur., 2018). Uzgoj makroalgi danas i nije toliko razvijen ali je prisutan u nekim zemljama kao što su Francuska, Španjolska, Irska, Austrija, Norveška, Portugal i Ujedinjeno Kraljevstvo. Uzgoj podrazumijeva upotrebu spremnika ili ribnjaka u priobalnom ili otvorenom moru. U Jadranskom moru pronađeno je 14 vrsta roda *Cystoseira*, 16 vrsta porodice *Champiaceae*, velik broj rodova *Cladophora* i *Polysiphonia*. Sveukupno može se reći da je u Jadranskom moru prisutno oko 660 vrsta od toga oko 300 crvenih, 125 smeđih, 105 zelenih i 130 modrozelenih algi (Ercegović, 1959/1960).

### 2.1.1. Rod *Cystoseira*

Vrste roda *Cystoseira* tvore složena staništa koja čine bitan dio biološke raznolikosti i ekološkog funkcioniranja (Radman i sur., 2022a). Nadalje, rod *Cystoseira* jedan je od najdominantnijih i ekološki najbitnijih rodova u Jadranskom moru. Ove alge pripadaju smeđim algama koje se uglavnom nalaze u hladnijim vodama na stjenovitom dnu, a sadrže oko 45 vrsta. To je rod sa svjetskom distribucijom od oko 80 % vrsta koje se javljaju duž mediteranske i susjedne atlantske obale, a nalazi se uglavnom u suptropskim područjima, s najvećom koncentracijom na Mediteranu (Matanić, 2018). Sastav ovisi o nekoliko čimbenika od kojih su najistaknutiji zemljopisni položaj, salinitet i razdoblje sakupljanja algi. Identifikacija vrste izvršava se pomoću molekularnih metoda proučavanja filogenije morskih algi roda *Cystoseira* od kojih se ističu nuklearni ribosomski, plastidni i mitohondrijski markeri. U Sredozemlju je povećanje eutrofikacije i onečišćenja, kao rezultat prirodnih i antropogenih poremećaja, bilo praćeno smanjenjem pojasa makroalgi roda *Cystoseira* (Falace i sur., 2005). Zbog ekološke važnosti skupina u kojima dominira *Cystoseira* i smanjenje njihove populacije tijekom posljednjih desetljeća, mediteranske vrste ovog roda zaštićeni su Barcelonskom konvencijom (Sousa i sur., 2019). Za mediteranski bentoski ekosustav osobito su važne dugovječne smeđe makroalge roda *Cystoseira* jer njihove bentoske zajednice sa svojom trodimenzionalnom strukturom pružaju stanište i sklonište manjim algama, beskralježnjacima i ribama (Cvitković, 2019). Lipide ovih makroalgi čine PUFA od toga najznačajnije n-3 FA: C20:5n3 i C22:6n3 i n-6 FA:  $\gamma$ -linolenska kiselina (C18:3n6) i C20:4n6, od toga važnu ulogu imaju n-3 masne kiseline jer imaju blagotvorni učinak na ljudsko zdravlje. Prepoznati su učinci kao što su antioksidacijsko,

antimikrobno, citotoksično i antitumorsko djelovanje. C20:5n3 predstavlja potencijalnu korist primjene kod asme, psorijaze, reumatoidnog artritisa, upalne bolesti crijeva, depresije, alergija, kardiovaskularnih bolesti i liječenja raka (Vizetto-Duarte i sur., 2015). Niski omjeri n-6 PUFA/n-3 PUFA kao i povoljna nezasićenost, indeks aterogenosti i trombogenosti ukazuje na visoku nutritivnu vrijednost za potencijalne primjene u nutricionizmu (Vizetto-Duarte i sur., 2015). Ove alge bogate su ugljikohidratima, proteinima, mineralima, uljima i mastima kao i bioaktivnim komponentama (polifenoli, tokoferoli, vitamin C) te pigmentima kao što su karotenoidi (karoten i ksantofil), klorofil i fikobilini (fikocijanin i fikoeritrin) (Matanić, 2018). Smeđe alge bogate su izvor fenolnih spojeva kao npr. tanina (florotanina). Pozitivna svojstva alge roda *Cystoseira* na ljudsko zdravlje mogu se pripisati polisaharidima, koji su kao izvori vlakana vrlo bitni za regulaciju prehrane. Njihova ekstrakcija i daljnja identifikacija omogućuju pronalaženje potencijalne primjene u medicini, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji (kozmetici, nutricionizmu), uključujući antikoagulativnu, protuupalnu, imunomodulatornu i antitumorsku aktivnost (Matanić, 2018). U prehrambenoj industriji, makroalge ovog roda iskorištavaju se kao sredstva za zgušnjavanje, punila, mogu se koristiti kao stabilizatori, a uočena su i prebiotička svojstva. Steroli isto tako imaju važnu ulogu, a nalaze se u lipidnoj frakciji, od toga su najistaknutiji fitosteroli koji se primjenjuju u proizvodnji lijekova, funkcionalnih proizvoda i kozmetike. Značajno područje za primjenu lipida algi je proizvodnja biodizela koja postaje globalna rastuća industrija (Matanić, 2018).

#### 2.1.1.1 *Cystoseira corniculata*

**Slika 1** prikazuje makroalgu vrste *Cystoseira corniculata* koja raste na dubinama od 1,5 metara i karakteristična je za istočna Sredozemna mora. Alge roda *Cystoseira* se smatraju pokazateljima dobrih uvjeta okoliša, a *C. corniculata* česta je na relativno izloženim istočnim Sredozemnim stjenovitim obalama (Baggini i sur., 2014). Boja talusa je smeđa, zelena ili maslinastozelena, a oblik se može prepoznati po njegovom nesavršenom obliku koji nema osi ni određenu strukturalnu raspoređenost. Može se pronaći na dubini od 1 do 4 m, gdje dopire dovoljno svjetla koje je potrebno za njegovu reprodukciju. Ova vrsta je vrlo osjetljiva na antropogeni utjecaj, degradirana područja, slabo osvijetljenje, prebrzi pad temperature i snažno kretanje morskih masa (Popović, 2012).



**Slika 1** *Cystoseira corniculata*

(Web1- [http://bts.fer.hr/btsweb/wpcontent/uploads/2019/10/bts19\\_ljiljana\\_ivesa.pdf](http://bts.fer.hr/btsweb/wpcontent/uploads/2019/10/bts19_ljiljana_ivesa.pdf), pristupljeno 12.7. 2022.)

#### 2.1.1.2 *Cystoseira spicata*

**Slika 2** prikazuje vrstu *Cystoseira spicata* koja je karakteristična po tome da u ljetnom periodu otpušta dijelove i zaostaje samo kratko stablo. Nalazi se u izobilju u obalnom području Boke Kotorske i Crne Gore. Ekstrakti iz ovih algi imaju dobro antioksidativno, antitrombocitno i antikancerogeno djelovanje *in vitro* (Stanojković i sur., 2014).



**Slika 2** *Cystoseira spicata*

(Web2- <https://www.biowin.at/all/Pflanzen/systematik/abteilungen/Phaeophyta/Fucales/Cystoseira%20spicata/cystoseira.htm>, pristupljeno 12.7. 2022.)

### 2.1.2. Rod *Sargassum*

Rod *Sargassum* poznatija kao gulfweed ili morska božikovina čija se morfologija mijenja tijekom godine i tijekom različitih faza. Ove alge imaju dominantan položaj u vegetaciji tropskog, suptropskog i umjerenog morskog pojasa (Špan, 2005). Nalaze se na dubinama od 11 m na kamenitom ili muljevitom tlu te mogu narasti do 2,5 m. U Jadranskom moru postoje tri vrste koje uključuju *Sargassum vulgare*, *Sargassum salicifolium* i *Sargassum hornischuchii*. **Slika 3** prikazuje vrstu *S. hornischuchii*. U regiji Ilocos na sjeveru Filipina, *Sargassum spp.* koristi se kao povrće; dok u Visayas-u i sjevernom Mindanao-u, domoroci ju koriste kao gnojivo, induktor cvjetanja i sredstvo protiv insekata (Rushdi i sur., 2020). Može se koristiti u proizvodnji biodizela koji je ekološki prihvatljiv, biorazgradiv i obnovljiv u prirodnom okruženju. Kvantitativne i kvalitativne karakteristike različitih masnih estera određuju svojstva biodizela i kvalitetu prinosa masnih kiselina testiranih algi pod različitim farmaceutskim tretmanima, što ih čini prikladnim za druge proizvode osim biodizela (El-Din, 2018). Često se koristila kao stočna hrana, u proizvodnji određenih pića, u tradicionalnoj kineskoj medicini. Neka istraživanja govore u korist proizvodnje masnoća koje se koriste u pomorskoj industriji protiv obraštanja, tj. taloženja biljnih i životinjskih organizama na čvrstim površinama (Bakar i sur., 2017).

Tkivo ovih makroalgi se dijeli na epidermis, korteks i središnje tkivo, a kao organe za razmnožavanje koriste oogonije i anteridije. Vrste roda *Sargassum spp.* imaju talus koji je više diferenciran u dijelove nalik stabalcu i listićima te imaju kuglaste nastavke promjera oko 0,5 cm (Prvan i Jaki, 2016). Oblik listova može biti jednostavan, dvostruk ili višestruko razdijeljen, okrugao, loptast, turbinatan, lancetast, jajolik, linearan ili bilo kojeg srednjeg oblika s zračnim mjehurićima tj. vezikulama (Rushdi i sur., 2020). Listovi mogu biti zaobljeni, jednostavni ili udvostručeni na vrhu, nazubljeni, glatki, valoviti dok pedikel može biti različitih dužina, cilindričan, podijeljen u sekcije ili može biti gladak. Prihvatnom pločicom se mogu pričvrstiti za podlogu. Jedinke mogu narasti i do nekoliko metara dužine, ali uglavnom su manje, smeđe ili tamnozeleno boje (Prvan i Jaki, 2016).



Slika 3 *Sargassum hornschurchii*

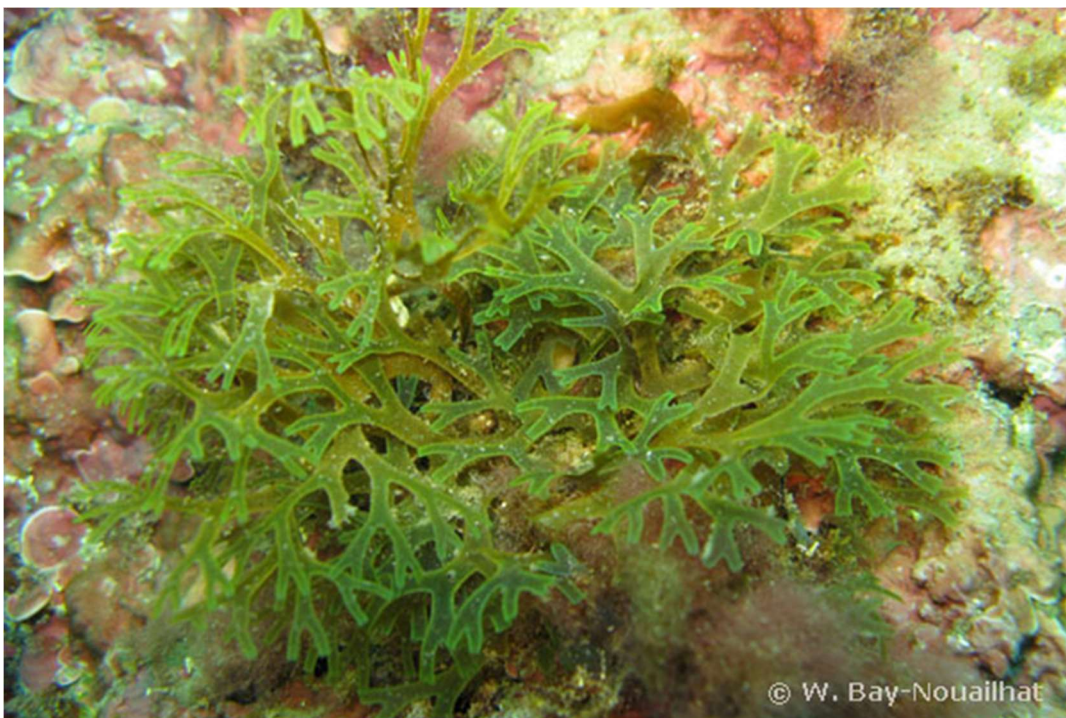
(Web3- <https://doris.ffesmm.fr/Especies/Sargassum-hornschurchii-Sargasse-crepee-1688> , pristupljeno 22.8. 2022.)

Visok sadržaj PUFA, posebno C18:3n3, stearidonske kiseline (C18:4n3), C20:4n6 i C20:5n3 u morskim algama izazvali su veliko zanimanje ovog roda makroalgi osobito zbog svojih antivirusnih, antimikrobnih, citotoksičnih, protuupalnih, kardioprotektivnih, hepatoprotektivnih i hipolipidemijskih svojstava. Unutar sastava algi roda *Sargassum* nalazi se velika količina vitamina i minerala te je istaknuta i količina kalija i natrija. Biomase ove vrste mogu se koristiti u proizvodnji biokemikalija, biogoriva i farmaceutskih proizvoda biorafinerije i kružne bioekonomije (Bonilla Loaiza i sur., 2022). Rod *Sargassum* vrlo je važan za prehrambenu industriju jer se mogu koristiti kao sredstva za želiranje i zgušnjavanje, a moguće je i probiotički učinak koji je važan za proizvodnju dodataka prehrani. Ove alge se mogu koristiti kao začin koji je prethodno pripremljen u obliku listića ili je usitnjen do sitnijih čestica, što se pokazalo pozitivno u prevenciji visokog tlaka. Ono što se može istaknuti je sadržaj fukoksantina koji je glavni karotenoid, ujedno i antioksidans jestivih smeđih algi, a visoko je zastupljen i u ovom rodu. Fukoksantin je privukao veliku pozornost zbog svojih terapijskih aktivnosti kao što su antikarcinogeno djelovanje, zaštita jetre i kože, cerebrovaskularna

zaštita, zaštita kostiju, oka, protuupalno, antimalarijsko, antidijabetičko djelovanje te ujedno pozitivno djeluje na liječenje pretilosti (Oliyaei i Moosavi-Nasab, 2021).

### **2.1.3. Rod *Dictyota***

Ovaj rod pretežito se nalazi u Sredozemnom i Jadranskom moru tj. naseljavaju tropska i umjereno topla mora na dubinama od 20 m, a može obitavati i na stjenovitim obalama. Pripada smeđim algama ali posjeduje zelenu boju. Neke vrste imaju karakteristični „miris oceana“ koji osobito potječe od acikličkih i cikličkih neizoprenoidnih C11-ugljikovodika koji djeluju kao feromoni i imaju važnu ulogu u kemijskoj komunikaciji (Brajica, 2020). Ova smeđa alga ima plosnatu, viličastu steljku čiji je vanjski sloj je prekriven sluzi iz razloga što sadrži alginat, dok je unutrašnji sloj građen od celuloze. Duljina ove vrste je od 10 do 15 cm. Ima zaobljene rubove na kojima se nalaze crne mrlje koje predstavljaju reproduktivne organe (Smoljo, 2018). Njihov brzi rast putem fotosinteze osigurava hvatanje i recikliranje ugljikovog dioksida i biomase algi koji osigurava proizvodnju bioenergije kroz različite procese, uključujući izravno izgaranje, rasplinjavanje, saharifikaciju i fermentaciju te termokemijsku obradu (Gosch i sur., 2012). Ove makroalge koriste se i u proizvodnji gnojiva te stočne hrane. Zbog svog karakterističnog sastava FA, posjeduju antifungalno djelovanje, a najzastupljenije PUFA su 18:4n3 i 18:3n3. Izražen je i visok sadržaj 20:4n6 i 20:5n3. Korisne hranjive tvari u morskim algama uključuju vitamine, minerale u tragovima, lipide, aminokiseline i prehrambena vlakna koja čine dio zdrave prehrane (Tabarsa i sur., 2012). *Dictyota* je također dobro poznat zbog visokog sadržaja sulfatiranih polisaharida kao što su fukani i fukoidani, koji su odgovorni za velike terapijske primjene kao što su imunomodulatorni, antitumorski, protuupalni, antikoagulativni, antivirusni i antimikrobni učinak (Rushdi i sur., 2022). Zbog svih ovih svojstava ove morske alge imaju velik potencijal za proizvodnju niskokalorične hrane i može biti korisne u kontroli tjelesne mase i kardiovaskularnih oboljenja. *Dictyota* je poznata po visokom sadržaju natrija, kalija, magnezija, mangana, bakra, cinka i joda koji su bitni za razne metaboličke puteve u našem organizmu. Neke FA koje se mogu izolirati iz vrste *Dictyota dichotoma* (**Slika 4**), vrlo su važne u spriječavanju stvaranja slojeva bakterija koje stvaraju biofilmove na čvrstim površinama (brodovi). *Dictyota* je dobar izvor hranjivih tvari koje iskorištavaju morski beskralježnjaci i ribe biljojedi (Lasley-Rasher i sur., 2011).



Slika 4 *Dictyota dichotoma*

(Web4 - <http://www.european-marine-life.org/62/dictyota-dichotoma.php?photo=1>, pristupljeno 13.7. 2022.)

#### 2.1.4. Rod *Codium*

Slika 5 prikazuje algu koja pripada rodu *Codium* koja obitava u umjerenim i suptropskim područjima. Javlja se na dubinama do 70 m gdje dopire svjetlost koja je potrebna za proces fotosinteze. *Codium* vrste pripadaju porodici *Codiaceae* i redu *Codiales* te je jedinstvenog podrijetla i sadrži oko 100 vrsta diljem svijeta (Xu i sur., 1998). Zemlje gdje ih najviše ima su Japan, Južna Amerika, Kalifornija-Meksiko te Australija. Često tvori kolonije te raste od 1 cm do 10 m dok u promjeru dosežu i do 40 cm. Steljka ovog roda ispunjena je spužvastom strukturom. Mlade jedinice su savršeno okruglog oblika, dok starije jedinice u sredini talusa imaju ulegnuće (Cvitković, 2019). Unutar roda *Codium* mogu se uočiti isprepletene cjevaste strukture i sloj zelenih pregrada koje se nazivaju utrikuli. Jednostanične, a posebno višestanične alge odstupaju od svog jednostavnog oblika većim omjerom površine i volumena, čime se poboljšava protok hranjivih tvari, plina i svjetlosti preko njihove površine (Geertz-Hansen i sur., 1994).



Bioaktivni spojevi omogućuju primjenu ove alge u medicini, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Zelene alge bogate su raznim bioaktivnim spojevima kao što su lipidi, proteini, peptidi, karotenoidi, fenolni spojevi, polisaharidi i alkaloidi. Nadalje, zelene morske alge sadrže veći sadržaj klorofila *b* u usporedbi sa slatkovodnim algama i višim biljkama što im omogućuje apsorpciju većih količina zelenog svjetla (Anderson, 1983). Klorofil *b* apsorbira zelenu svjetlost pri višim valnim duljinama od klorofila *a*, što ujedno objašnjava bolju apsorpciju zelenog svjetla kod klorofila *b*. Osim klorofila, kod algi roda *Codium* od pigmenata se ističu karotenoidi, poseban oblik ksantofila zvan sifonaksantin i njegov esterificiran oblik, sifonein. Prisutne su veće količine  $\alpha$ -karotena, dok  $\beta$ -karotena ima u vrlo malim količinama. Povećanjem dubine vode mijenja se spektar svjetlosti od tamno crvene, crvene, žute, plave do zelene koja je karakteristična za dubinu od 20 m. Kompleksi između klorofila (*a* i *b*) i proteina mogu sadržavati određene količine sifonaksantina, a ti kompleksi omogućuju apsorpciju svjetlosti plavo-zelenog ili zelenog područja vidljivog dijela spektra koji mogu poslužiti pri determinaciji roda *Codium*. Određene komponente zelenih algi kao što su polisaharidi, florotanini, terpenoidi, alkaloidi pokazali su antikancerogenu aktivnost. Od navedenih spojeva se mogu istaknuti polisaharidi sa drugim učincima kao što su antivirusni, antifungalni, imunomodulatorni, antihepatotoksični i antihiperlipidemijski učinci. Najbolje antifungalno djelovanje pokazali su ekstrakti zelene alge *Codium bursa* koji su inhibirali sve primijenjene vrste plijesni (Zorčec, 2020).



**Slika 5** *Codium vermilara*

(web5- <https://www.marinespecies.org/photogallery.php?album=770&pic=15050>, pristupljeno 16. 9. 2022.)

## 2.2. MASNE KISELINE U SMEĐIM ALGAMA

Morske alge imaju nizak sadržaj lipida u rasponu od 1 do 5 % suhe tvari (Khotimchenko, 2005). Iako zauzimaju mali udio unutar alge, lipidi nisu ništa manje značajniji od drugih komponenata. Smeđe alge postale su zanimljive zbog svog sadržaja PUFA osobito n-3 i n-6 FA. Uloga PUFA za zdravlje čovjeka je vrlo važna zbog njihove antioksidativne, antibakterijske i antifungalne aktivnosti (Begić, 2021). Smeđe morske alge karakteristične su po jednakim udjelima C18 i C20 masnih kiselina (Kumari i sur., 2013). Također, važnu ulogu smeđih algi imaju esencijalne FA koje se ne mogu sintetizirati u našem organizmu, nego ih unosimo putem hrane. Morske makroalge su općenito proučavane u svrhu pronalaska potencijalnog alternativnog izvora PUFA. Masnokiselinski profili smeđih makroalgi određenih znanstvenih istraživanja prikazan je **Tablicom 1**.

**Tablica 1** Prikaz najznačajnijih znanstvenih istraživanja masnih kiselina iz različitih vrsta smeđih makroalgi

| Vrsta makroalge   | Otapalo/ smjesa otapala                     | Detektirane masne kiseline  | Metoda identifikacije | Literaturna referenca |
|---|---|---|-----------------------|-----------------------|
| <i>C. crinita</i>   | Kloroform -metanol                          | C8:0, C10:0, C12:0, C13:0, C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0, C24:0, C14:1, C15:1, C16:1   | GC-MS                 | Ivanova i sur., 2013  |
| <i>C. compressa</i>   | Dimetil sulfoksid (DMSO) i 50 %-tni metanol | C18:4n3, C18:3n6, C12:0, C14:1, C16:0, C18:3n6, C13:0, C15:0, C20:5n-3, C14:0, C16:1, C15:0, C17:1, C18:1n9c, C17:0, C18:0, C20:0   | UPLC-PDA-ESI-QTOF     | Čagalj i sur., 2022   |
| <i>C. amentacea</i> var. <i>stricta</i> ,<br><i>C. barbata</i> ,<br><i>C. presa</i> ,<br><i>C. crinita</i> ,<br><i>C. elegans</i> ,<br><i>C. foeniculacea</i> ,<br><i>C. foeniculacea</i> f. <i>latiramosa</i> ,<br><i>C. foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> ,<br><i>C. foeniculacea</i> f. <i>tenuiramosa</i> ,<br><i>C. sauvageauan</i> ,<br><i>C. schiffneri</i> ,<br><i>C. sedoides</i> | Smjesa kloroform-metanol                    | C14:0, C16:0, C18:0, C16:1, C18:1n9c, C18:2n6, C18:3n6, C18:4n3, C20:2n6, C20:3n6, C20:4n6, 20:5n3  | GC-MS                 | Bouafif i sur., 2018  |
| <i>C. barbata</i>   | Heksan                                      | C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C11:0, C12:0, C13:0, C14:0, C14:1, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n9t, C18:1n9c, C18:2n6t, C18:2n6c, C18:3n6, C18:3n3, C20:0, C20:1n9, C20:2n6, C20:3n6, C20:4n6, C22:0, C20:5n3, C22:1, C23:0, C24:0, C24:1, C22:6n3 | GC                    | Cvitković, 2019       |
| <i>Cystoseira</i> sp.<br>( <i>G. barbata</i> i <i>E. crinita</i> )  | Smjesa metanol-diklormetan                  | C14:0, 15:0, 16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0, C24:0, C14:1, C16:1, C17:1, C18:1n9c, C18:1n9t,  | GC-FID                | Radman i sur. 2022b   |

|  |                              |  |        |                                 |
|--|------------------------------|--|--------|---------------------------------|
|  |                              | C20:1n9, C22:1n9,<br>C18:2n6c, C18:3n6,<br>C18:3n3, C20:2n6,<br>C20:3n3, C20:4n6,<br>C20:5n3, C22:6n3  |        |                                 |
| <i>D. dichotoma</i> ,<br><i>D. cervicornis</i> ,<br><i>D. divaricata</i>   | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:0, C15:0, C16:0, C16:1,<br>C18:0, C18:1n9c, C18:2n6,<br>C18:3n6, C18:3n3,<br>C18:4n3, C20:2n6,<br>C20:3n6, C20:4n6,<br>C20:4n3, C20:5n3,<br>C22:4n6, C22: 5n3,<br>C22:6n3  | GC-MS  | Khotimchenko, 1995              |
| <i>D. bartayresii</i> ,<br><i>D. dichotoma</i>   | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:0, C14:1, C15:0, C16:0,<br>C16:1, C17:0, C16:3, C18:0,<br>C18:1n9c, C18:2n6t,<br>C18:1n6c, C18:3n6,<br>C18:3n3, C20:0, C21:0,<br>C20:3n6, C20:4n6,<br>C20:4n3, C22:0, C20:5n3,<br>C24:0, C22:6n3   | GC-MS  | Gosh i sur., 2012               |
| <i>D. dichotoma</i>  | Smjesa heksan-<br>dietileter | C12:0, C14:0, C16:0, C16:1,<br>C18:0, C18:1, C18:2n6,<br>C18:3n3, C20:4n6,<br>C20:5n3, C22:5, 22:6n3   | GC     | Tabarsa i Rezaei,<br>2012       |
| <i>S. miyabei</i><br><i>S. pallidum</i><br><i>S. herklotsii</i><br><i>S. baccularia</i><br><i>S. microcystum</i><br><i>S. turbinariodes</i><br><i>S. cristaefolium</i> | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:0, C14:1, C15:0, C16:1,<br>C18:0, C18:1n9c, C18:2n6,<br>C18:3n6, C18:4n3, C20:0,<br>C20:1n9, C20:2n6,<br>C20:3n6, C20:4n6, 20:3n3,<br>C20:4n3, C20:5n3,<br>C22:1n9, C24:1  | GC-FID | Khotimchenko, 1991              |
| <i>S. granuliferum</i><br><i>D. dichotoma</i>  | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:1, C14:0, C15:1, C15:0,<br>C16:1, C16:0, C17:1, C17:0,<br>C18:3n6, C18:2n6t,<br>C18:3n3, C18:18:2n6c,<br>C18:1n9t, C18:1n9c, C18:0,<br>C20:4n6, C20:5n3,<br>C20:3n6, C20:2, C20:1,<br>C20:3n3, C20:0, C21:0,<br>C22:6n3, C22:2, C22:1n9,<br>C22:0, C23:0, C24:1, C24:0 | GC-MS  | Bakar i sur., 2017              |
| <i>S. pallidum</i>   | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:0, C15:0, C16:0, C18:0,<br>C20:0, C22:0, C16:1,<br>C18:1n9c, C20:1n9,<br>C22:1n9, C18:2n6,<br>C18:2n6, C20:3n6,<br>C20:4n6, C18:3n3,<br>C18:4n3, C20:5n3,<br>C22:6n3, C20:2n9  | GC     | Gerasimenko<br>i Logvinov, 2016 |
| <i>S. fusiforme</i> ,<br><i>S. pallidum</i> ,<br><i>S. horneri</i> ,<br><i>S. thunbergii</i>   | Smjesa kloroform-<br>metanol | C14:0, C15:0, C16:0, C17:0<br>C18:0 C20:0 C22:0, C24:0 ,<br>C16:1, C18:1n9c, C20:1n9,<br>C22:1n9, C18:2n6,<br>C18:3n6, C18:4n3, C20:2n6<br>C20:3n6, C20:4n6 C20:4n3,<br>C20:5n3  | GC-MS  | Chen i sur., 2016               |

### 2.3. MASNE KISELINE U ZELENIM ALGAMA

Zelene makroalge imaju karakterističan sadržaj masnih kiselina, a njihov kemotaksonomski marker je prisutnost heksadekatrienske kiseline (C16:3) (Goecke i sur., 2010). Nadalje, kao i

većina algi, zelene alge imaju visok sadržaj dugolančanih masnih kiselina od kojih se ističe palmitinska kiselina (C16:0). Karakteristično za zelene alge je bogatstvo C18 masnih kiselina među kojima su najzastupljenije oleinska kiselina (C18:1n9c), C18:2n6 i C18:3n3 (Cikoš, 2021). Zelene morske alge odlikuju se visokom količinom PUFA n-3, a posebno visokom razinom C18:3n3 (Gosch i sur., 2012). Prisutne varijacije u FA profilu zelenih makroalgi postoje zbog mnogih aspekata, koji utječu na masnokiselinski sastav kao što su vremensko razdoblje, način uzgoja morskih algi, geografski položaj i razni drugi čimbenici (Cardoso i sur., 2017). Masnokiselinski profil zelenih makroalgi određenih znanstvenih istraživanja prikazan je

**Tablicom 2.**

**Tablica 2** Prikaz najznačajnijih znanstvenih istraživanja masnih kiselina iz različitih vrsta zelenih makroalgi

| Vrsta makroalge   | Otapalo/ smjesa otapala  | Detektirane masne kiseline  | Metoda identifikacije | Literaturna referenca |
|---|--------------------------|---|-----------------------|-----------------------|
| <i>C. adharens</i>  | Smjesa kloroform-metanol | C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, C16:1, C17:1, C18:1n9c+t, C18:2n6, C18:3n3, C20:4n6, C22:2  | GC-FID                | Radman i sur., 2021   |
| <i>C. dimorphum</i> ,<br><i>C. fernandezianum</i> ,<br><i>C. fragile</i>  | Metanol                  | C14:0, C16:0, C16:3, C18:0, C18:1, C18:2n6, C18:2n3, C18:3n6, C18:3n3, C20:0, C20:4n6, C22:0  | GC-MS                 | Goecke i sur., 2010   |
| <i>C. duthiae</i> ,<br><i>C. fragile</i> ,<br><i>C. galeatum</i> ,<br><i>C. harveyi</i> ,<br><i>C. muelleri</i> ,<br><i>C. pomoides</i> | Smjesa kloroform-metano  | C14:0, C15:0, C16:0, C16:1, C17:0, C16:3, C16:4n3, C18:0, C18:1, C18:2n6, C18:3n6, C18:3n3, C20:0, C20:1n9, C20:3n6, C20:4n6, C20:4n3, C20:5n3, C22:0, C22:1n9, C22:5, C22:6n3, C24:0 | GC                    | Xu i sur., 1998       |
| <i>C. fragile</i> ,<br><i>C. tomentosum</i> ,<br><i>C. geppi</i> ,<br><i>Codium sp.</i>   | Smjesa kloroform-metanol | C14:0, C15:0, C16:0, C16:1, C16:3, C18:0, C18:1, C18:2n6, C18:3n6, C18:3n3, C20:2n6, C20:3n6, C20:4n6, C20:5n3, C22:0, C22:5n3  | GC                    | Khotimchenko, 2003    |
| <i>C. bursa</i>   | Metanol                  | C8:0, C10:0, C12:0, C13:0, C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1n9c+t, C18:2n6c, C18:3n6, C18:3n3, C20:0, C20:1n9, C20:4n6, C22:0, C24:1   | GC                    | Jerković i sur., 2019 |



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK RADA

U istraživačkom dijelu zadatak je bio ekstrahirati ukupne lipide iz četiri smeđe makroalge (*C. corniculata*, *E. amentacea*, *D. fasciola* i *S. hornschurchii*) te jedne zelene makroalge (*C. vermilara*) iz Jadranskog mora. Dobiveni ekstrakti podvrgnuti su postupku transesterifikacije za dobivanje metilnih estera masnih kiselina (FAME) koji su potom analizirani metodom plinskse kromatografije uz plameno-ionizacijski detektor (GC-FID). Prema dobivenim rezultatima bilo je potrebno utvrditi razlike među profilima FA smeđih i zelenih makroalgi te njihov potencijal za daljnju primjenu.

### 3.2. MATERIJAL

#### Uzorci algi:

- *Cystoseira corniculata* (Turner) Zanardini 1841, izronjena je u uvali Luka, Dugi otok (43°58'54"N; 15°05'37"E) u srpnju 2021. godine na dubini od 8 m, temperaturi mora 24 °C, temperaturi zraka 27 °C;
- *Ericaria amentacea* (C. Agardh) Molinari & Guiry 2020 (ex. *Cystoseira spicata*), izronjena je 1 km svjerezapadno od uvale Brbišćica (pučinska strana Dugog otoka, 44°03'16"N; 14°59'14"E) u travnju 2021. godine, na dubini od 0,5 m, temperaturi mora 16 °C i temperaturi zraka 15 °C;
- *Dictyota fasciola* (Roth) J.V.Lamouroux 1809, izronjena je kod Zadra, Punta Bajlo (44°05'50"N; 15°14'43"E) u travnju 2021. godine, na dubini od 2 m, temperaturi mora 17 °C, temperaturi zraka 21 °C;
- *Sargassum hornschurchii* C. Agardh 1820, izronjena je na otoku Pagu (Mandre, 44°28'37"N; 14°54'58"E) u prosincu 2021. godine na dubini od 20 m, temperaturi mora 15° C, temperaturi zraka 10 °C;
- *Codium vermilara* (Olivi) Delle Chiaje 1829, izronjena je kod Splita, uvala Firule (43°29'58"N; 16°27'10"E) u srpnju 2021. godine na dubini od 2 m, temperaturi mora 26 °C, temperaturi zraka 32 °C.

## Kemikalije

Za ekstrakciju ukupnih lipida korišteni su metanol HPLC čistoće (J.T.Baker, Nizozemska), kloroform (p.a. čistoće, Carlo Erba Reagents, Francuska) i 0,9 %-tna vodena otopina natrij klorida (Merck, Njemačka). Za pripremu FAME korišten je n-heptan čistoće 99 % (Carlo Erba Reagents, Francuska) i 2 mol/L otopina kalijevog hidroksida u metanolu. FAME C4-C24 korišteni su za identifikaciju i kvantifikaciju FA u makroalgama, a kupljeni su od tvrtke Supelco Co. (Bellefonte, PA, SAD). Za GC-FID analizu korišteni su dušik, vodik i zrak čistoće 99,999 % proizvođača Messer Croatia Plin (Osijek, Hrvatska).

## 3.3. METODE

### 3.3.1. Priprema uzoraka

Nakon što su uzorci makroalgi bili prikupljeni i stavljeni u nepropusne plastične vrećice, uzorci su odneseni u laboratorij. Zbog potrebe uklanjanja prisutne morske vode uzorci su prvo podvrgnuti procesu liofilizacije, nakon čega su bili podvrgnuti procesu sušenja zamrzavanjem na -20 °C tijekom 24 h. Procesu zamrzavanja prethodilo je ispiranje u demineraliziranoj vodi kroz tri ponavljanja te usitnjavanje na manje dijelove. Nakon smrzavanja, uzorci su podvrgnuti liofilizaciji u laboratorijskom liofilizatoru (Martin Christ, Alpha 2–4 LSCplus, Osterode am Harz, Njemačka) tijekom 96 h pri visokim vakumom (0,5-1,81 hPa) i primarnom temperaturom od -20 °C i sekundarnom temperaturom od 20 °C. Nakon prethodno navedenog procesa uzorci su podvrgnuti mljevenju u laboratorijskom mlinu (MRC Sample mill C-SM/450-C, Holon, Izrael) te su kao takvi bili spremni za provedbu analize.

### 3.3.2. Ekstrakcija ukupnih lipida metodom po Folch-u

Ekstrakcija ukupnih lipida iz prethodno pripremljenih uzoraka makroalgi analizirana je metodom po Folch-u (Folch i sur., 1957). 1g uzoraka pomiješan je s 20 ml smjese otapala kloroform:metanol (2:1, v/v) te je smjesa podvrgnuta miješanju tijekom 20 min pri 400 rpm (IKA, KS 260 Basic, Staufen, Njemačka), a uzorci su podvrgnuti separaciji krute od tekuće faze pomoću centrifuge (model Z 206 A, Hermle, Gosheim, Njemačka) kroz 20 min pri 2000 rpm. Nakon provedenog centrifugiranja, uzorci su filtrirani pomoću filter papira nakon čega su pomiješani s 4 ml 0,9 %-tne otopine natrijevog klorida. Kada su se faze odvojile, gornja faza je uklonjena, a donja (kloroformska) faza koja ujedno sadrži lipide uparena je na rotacijskom



vakuum uparivaču (Laborota 4010, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Njemačka) na 60 °C. Tako pripremljeni uzorci lipida su osušeni u sušioniku na 105 °C do konstantne mase, a ekstrakcija je provedena u tri ponavljanja.

Dobiveni ekstrakti morali su se pripremiti za GC-FID analizu postupkom transesterifikacije FA nakon čega su dobiveni FAME pomoću otopine kalijevog hidroksida u metanolu, prema postupku opisanom u prilogu X.B Uredbe Komisije br. 796/2002 (EZ, 2002). Nakon sušenja uzorcima lipida dodano je 2 mL n-heptana i zatim promiješano 30 sekundi te je nakon toga dodano je 0,2 mL 2 mol/L otopine kalijevog hidroksida u metanolu nakon čega se ponovno promiješalo 30 sekundi. Nakon razdvajanja slojeva, uz pomoć pipete, gornji (heptanski) sloj koji sadrži FAME profiliran je u vijalicu nakon čega je injektiran u plinski kromatograf za analizu profila FA.

### 3.3.3. Identifikacija i kvantifikacija masnih kiselina metodom plinske kromatografije s plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID)

Prethodno pripremljeni FAME analizirani su pomoću plinske kromatografije (plinski kromatograf Shimadzu GC-2010 Plus s GC-FID i kapilarnom kolonom SH-FAMEWAX™ (Shimadzu, Kyoto, Japan)). Identifikacija izdvojenih FAME provedena je usporedbom vremena zadržavanja i retencijskih vremena certificiranog referentnog materijala Supleco. F.A.M.E. Mix C4-C24. Uvjeti analize prikazani su u **Tablici 3**, a udjeli identificiranih FA prikazani su pomoću postotaka s obzirom na ukupni postotak FA. Rezultati prikazuju srednju vrijednost tri ponavljanja.

**Tablica 3** GC-FID uvjeti za analizu profila masnih kiselina u makroalgama

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| GC kolona                   | SH-FAMEWAX™ kapilarna kolona (30 m duljina; 0,32 mm unutarnji promjer; 0,25 µm debljina stacionarne faze) |
| Plin nosilac                | Dušik, protok: 1,26 mL/min  |
| Injektor                    | Temperatura: 240 °C, volumen injektiranog uzorka: 2 µL, omjer cijepanja: 1:100                            |
| Temperaturni program kolone | 120 °C izotermno 5 min; porast od 120 °C do 220 °C po 5 °C/min, 220 °C izotermno 20 min                   |
| Uvjeti rada FID detektora   | Temperatura: 250 °C, protok vodika: 40 mL/min, protok zraka: 400 mL/min; protok dušika; 30 mL/min         |

### 3.3.4. Izračun nutritivnih indeksa

Nutritivni indeks omjera PUFA/SFA obično se koristi za procjenu utjecaja prehrane na kardiovaskularno zdravlje (Chen i Liu, 2020). Omjer PUFA/SFA izračunava se pomoću formule **(1)** (Chen i Liu, 2020):

$$\text{PUFA/SFA} = \Sigma\text{PUFA}/\Sigma\text{SFA} \quad (1)$$

Pri čemu je:

$\Sigma\text{PUFA}$  = ukupni udio polinezasićenih masnih kiselina

$\Sigma\text{SFA}$  = ukupni udio zasićenih masnih kiselina

IA (aterogeni indeks) je matematički izračun zasnovan na odnosu triglicerida i sadržaja HDL (lipoproteina visoke gustoće), koji ukazuje na rizik obolijevanja od ateroskleroze (Nwagha i sur., 2010). Visoke razine HDL-a u krvi odrazit će se kao nizak aterogeni indeks i obrnuto. Aterogeni indeks izračunava se prema formuli **(2)** (Chen i Liu, 2020):

$$\text{IA} = [\text{C12:0} + (4 \times \text{C14:0}) + \text{C16:0}]/\Sigma\text{UFA} \quad (2)$$

Pri čemu je:

C12:0 = udio laurinske kiseline

C14:0 = udio miristinske kiseline

C16:0 = udio palmitinske kiseline

$\Sigma\text{UFA}$  = ukupni udio nezasićenih masnih kiselina (UFA)

IT (trombogeni indeks) je matematički izračun za procjenu rizika od nastanka trombocita koji sudjeluju u čepljenju krvnih žila i mogu uzrokovati srčani i moždani udar. IT se definira kao odnos između protrombogenih (zasićenih) i antitrombogenih (nezasićenih) masnih kiselina (Ghaeni i sur., 2013). Nizak IT odražava se kao smanjen rizik za nastanak trombocita. Trombogeni indeks izračunava se pomoću formule **(3)** (Chen i Liu, 2020):

$$\text{IT} = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0})/[(0,5 \times \Sigma\text{MUFA}) + (0,5 \times \Sigma\text{n-6 PUFA}) + (3 \times \Sigma\text{n-3 PUFA}) + (\text{n-3/n-6})] \quad (3)$$

Pri čemu je:

C14:0 = udio miristinske kiseline

C16:0 = udio palmitinske kiseline

C18:0 = udio stearinske kiseline

$\Sigma\text{MUFA}$  = ukupni udio mononezasićenih masnih kiselina

$Z_n$  = ukupan broj identificiranih masnih kiselina

6 PUFA = udio n-6 polinezasićenih masnih kiselina

n-3/n-6 = odnos omega 3 i omega 6 masnih kiselina

HH je omjer između hipokolesterolemičnih masnih kiselina i hiperkolesterolemičnih masnih kiselina (Chen i Liu, 2020). Veći HH omjer ukazuje na veći udio hipokolesterolemičnih FA i samim time smanjen rizik od ateroskleroze, tromboze, zatajenja srca, srčanog i moždanog udara. HH omjer izračunava se pomoću formule (4) (Chen i Liu, 2020):

$$HH = (cis - C18:1 + \Sigma PUFA) / (C12:0 + C14:0 + C16:0) \quad (4)$$

Pri čemu je:

$cis - C18:1$  = udio oleinske kiseline

$\Sigma PUFA$  = ukupni udio polinezasićenih masnih kiselina

C12:0 = udio laurinske kiseline

C14:0 = udio miristinske kiseline

C16:0 = udio palmitinske kiseline

IU (indeks nezasićenosti) označava stupanj nezasićenosti u lipidima i izračunava se kao zbroj postotka svake nezasićene FA pomnožen s brojem dvostrukih veza unutar te FA, a prikazan je formulom (5) (Chen i Liu, 2020). Što je on veći to ukazuje na veću prisutnost nezasićenih FA, što smanjuje rizik od kardiovaskularnih oboljenja, artritisa, astme, dijabetesa tipa 1 i 2, karcinoma, moždanog udara, Crhonove bolesti i cistične fibroze. Indeks nezasićenosti (Chen i Liu, 2020):

$$IU = 1 \times (\% \text{ monoenskih masnih kiselina}) + 2 \times (\% \text{ dienskih masnih kiselina}) + 3 \times (\% \text{ trienskih masnih kiselina}) + 4 \times (\% \text{ tetraenskih masnih kiselina}) + 5 \times (\% \text{ pentaenskih masnih kiselina}) + 6 \times (\% \text{ heksaenskih masnih kiselina}) \quad (5)$$

Pri čemu je:

% monoenskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa jednom dvostrukom vezom

% dienskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa dvije dvostruke veze

% trienskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa tri dvostruke veze

% tetraenskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa četiri dvostruke veze

% pentaenskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa pet dvostrukih veza

% heksaenskih masnih kiselina = udio masnih kiselina sa šest dvostrukih veza

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. REZULTATI

Analizom FA odabranih vrsta makroalgi (*C. corniculata*, *E. amentacea*, *D. fasciola*, *S. hornschurchii*, *C. vermilara*) dobiveni rezultati izraženi su u postotcima. Rezultati provedene analize prikazani su u **Tablicama 4-13**.

##### 4.1.1. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđih makroalgi *Cystoseira corniculata* i *Ericaria amentacea*

Tablica 4 Sastav masnih kiselina smeđe makroalge *Cystoseira corniculata*

| Br.                                  | Masna kiselina                         |            | sr.vr. (%)   | SO (%) |
|--------------------------------------|--|------------|--------------|--------|
| 1.                                   | Miristinska kiselina                   | C14:0      | 6,20         | 0,08   |
| 2.                                   | Pentadekanska kiselina                 | C15:0      | 0,54         | 0,03   |
| 3.                                   | Palmitinska kiselina                   | C16:0      | 28,37        | 0,34   |
| 4.                                   | Heptadekanska kiselina                 | C17:0      | 0,57         | 0,07   |
| 5.                                   | Stearinska kiselina                    | C18:0      | 2,08         | 0,14   |
| 6.                                   | Arahidska kiselina                     | C20:0      | 5,79         | 0,44   |
| <b>Zasićene masne kiseline</b>       |  |            | <b>43,55</b> |        |
| 7.                                   | Palmitoleinska kiselina                | C16:1      | 4,20         | 0,09   |
| 8.                                   | Oleinska kiselina i elaidična kiselina | C18:1n9c+t | 23,78        | 0,48   |
| 9.                                   | Cis-11-eikozenska kiselina             | C20:1      | 0,57         | 0,02   |
| <b>Mononezasićene masne kiseline</b> |  |            | <b>28,56</b> |        |
| 10.                                  | Linolna kiselina                       | C18:2n6c   | 4,79         | 0,04   |
| 11.                                  | γ-linolenska kiselina                  | C18:3n6    | 0,62         | 0,01   |
| 12.                                  | α-linolenska kiselina                  | C18:3n3    | 3,40         | 0,12   |
| 13.                                  | Eikozadienska kiselina                 | C20:2n6    | 0,58         | 0,02   |
| 14.                                  | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n6    | 0,70         | 0,04   |
| 15.                                  | Arahidonska kiselina                   | C20:4n6    | 14,50        | 0,39   |
| 16.                                  | Eikozapentaenska kiselina (EPA)        | C20:5n3    | 3,31         | 0,12   |
| <b>n-6 masne kiseline</b>            |  |            | <b>21,18</b> |        |
| <b>n-3 masne kiseline</b>            |  |            | <b>6,71</b>  |        |

Tablica 5 Nutritivni indeksi smeđe makroalge *Cystoseira corniculata*

|                           | PUFA/SFA | IA   | IT   | HH   | UI     |
|---------------------------|----------|------|------|------|--------|
| <b>Nutritivni indeksi</b> | 0,64     | 0,94 | 0,81 | 1,49 | 111,42 |

PUFA/SFA = omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina; IA = aterogeni indeks; IT = trombogeni indeks; HH = hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer; UI = indeks nezasićenosti

Tablica 6 Sastav masnih kiselina smeđe makroalge *Ericarisa amentacea*

| Br. | Masna kiselina                         |            | sr.vr. (%)   | SO (%) |
|-----|--|------------|--------------|--------|
| 1.  | Miristinska kiselina                   | C14:0      | 4,79         | 0,09   |
| 2.  | Pentadekanska kiselina                 | C15:0      | 0,34         | 0,01   |
| 3.  | Palmitinska kiselina                   | C16:0      | 33,94        | 0,16   |
| 4.  | Stearinska kiselina                    | C18:0      | 1,09         | 0,02   |
| 5.  | Arahidska kiselina                     | C20:0      | 4,81         | 0,12   |
|     | <b>Zasićene masne kiseline</b>         |            | <b>45,65</b> |        |
| 6.  | Palmitoleinska kiselina                | C16:1      | 5,76         | 0,03   |
| 7.  | Cis-10-heptadekanska kiselina          | C17:1      | 0,49         | 0,07   |
| 8.  | Oleinska kiselina i elaidična kiselina | C18:1n9c+t | 22,77        | 0,07   |
|     | <b>Mononezasićene masne kiseline</b>   |            | <b>29,66</b> |        |
| 9.  | Linolna kiselina                       | C18:2n6c   | 3,30         | 0,03   |
| 10. | α-linolenska kiselina                  | C18:3n3    | 4,66         | 0,06   |
| 11. | Eikozadienska kiselina                 | C20:2n6    | 0,52         | 0,01   |
| 12. | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n6    | 0,89         | 0,02   |
| 13. | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n3    | 0,39         | 0,03   |
| 14. | Arahidonska kiselina                   | C20:4n6    | 10,55        | 0,22   |
| 15. | Eikozapentaenska kiselina (EPA)        | C20:5n3    | 4,39         | 0,02   |
| 16. | Behenska kiselina                      | C22:0      | 0,35         | 0,11   |
| 17. | Eručna kiselina                        | C22:1n9    | 0,64         | 0,10   |
| 19. | Lignocerinska kiselina                 | C24:0      | 0,33         | 0,02   |
|     | <b>n-6 masne kiseline</b>              |            | <b>15,26</b> |        |
|     | <b>n-3 masne kiseline</b>              |            | <b>9,43</b>  |        |

Tablica 7 Nutritivni indeksi smeđe makroalge *Ericaria amentacea*

|                           | PUFA/SFA | IA   | IT   | HH   | UI    |
|---------------------------|----------|------|------|------|-------|
| <b>Nutritivni indeksi</b> | 0,54     | 0,98 | 0,77 | 1,23 | 98,07 |

PUFA/SFA = omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina; IA = aterogeni indeks; IT = trombogeni indeks; HH = hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer; UI = indeks nezasićenosti

### 4.1.2. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđe makroalge *Sargassum hornschurchii*

Tablica 8 Sastav masnih kiselina smeđe makroalge *Sargassum hornschurchii*

| Br. | Masna kiselina                         |            | sr.vr. (%)   | SO (%) |
|-----|--|------------|--------------|--------|
| 1.  | Miristinska kiselina                   | C14:0      | 4,34         | 0,16   |
| 2.  | Pentadekanska kiselina                 | C15:0      | 0,44         | 0,01   |
| 3.  | Palmitinska kiselina                   | C16:0      | 32,77        | 0,10   |
| 4.  | Stearinska kiselina                    | C18:0      | 0,80         | 0,06   |
| 5.  | Arahidska kiselina                     | C20:0      | 0,81         | 0,04   |
| 6.  | Behenska kiselina                      | C22:0      | 2,60         | 0,02   |
|     | <b>Zasićene masne kiseline</b>         |            | <b>41,75</b> |        |
| 7.  | Palmitoleinska kiselina                | C16:1      | 8,05         | 0,16   |
| 8.  | Oleinska kiselina i elaidična kiselina | C18:1n9c+t | 16,60        | 0,06   |
| 9.  | Cis-11-eikozenska kiselina             | C20:1      | 1,60         | 0,01   |
|     | <b>Mononezasićene masne kiseline</b>   |            | <b>26,25</b> |        |
| 10. | Linolna kiselina                       | C18:2n6c   | 5,11         | 0,21   |
| 11. | γ-linolenska kiselina                  | C18:3n6    | 0,41         | 0,01   |
| 12. | α-linolenska kiselina                  | C18:3n3    | 3,64         | 0,04   |
| 13. | Eikozadienska kiselina                 | C20:2n6    | 0,64         | 0,08   |
| 14. | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n6    | 0,82         | 0,01   |
| 15. | Arahidonska kiselina                   | C20:4n6    | 17,90        | 0,07   |
| 16. | Eikozapentaenska kiselina (EPA)        | C20:5n3    | 3,48         | 0,04   |
|     | <b>n-6 masne kiseline</b>              |            | <b>24,89</b> |        |
|     | <b>n-3 masne kiseline</b>              |            | <b>7,12</b>  |        |

Tablica 9 Nutritivni indeksi smeđe makroalge *Sargassum hornschurchii*

|                           | PUFA/SFA | IA   | IT   | HH   | UI     |
|---------------------------|----------|------|------|------|--------|
| <b>Nutritivni indeksi</b> | 0,77     | 0,86 | 0,80 | 1,31 | 123,96 |

PUFA/SFA = omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina; IA = aterogeni indeks; IT = trombogeni indeks; HH = hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer; UI = indeks nezasićenosti

### 4.1.3. GC-FID analiza sastava masnih kiselina smeđe makroalge *Dictyota fasciola*

Tablica 10 Sastav masnih kiselina smeđe makroalge *Dictyota fasciola*

| Br.                                  | Masna kiselina                         |            | sr.vr. (%)   | SO (%) |
|--------------------------------------|--|------------|--------------|--------|
| 1.                                   | Miristinska kiselina                   | C14:0      | 11,99        | 1,07   |
| 2.                                   | Pentadekanska kiselina                 | C15:0      | 0,34         | 0,04   |
| 3.                                   | Palmitinska kiselina                   | C16:0      | 24,69        | 1,71   |
| 4.                                   | Stearinska kiselina                    | C18:0      | 1,04         | 0,05   |
| 5.                                   | Arahidska kiselina                     | C20:0      | 0,69         | 0,03   |
| 6.                                   | Heneikozanoična kiselina               | C21:0      | 1,17         | 0,33   |
| 7.                                   | Behenska kiselina                      | C22:0      | 2,96         | 0,28   |
|                                      | Lignocerinska kiselina                 | C24:0      | 1,17         | 0,26   |
| <b>Zasićene masne kiseline</b>       |  |            | <b>44,06</b> |        |
| 8.                                   | Palmitoleinska kiselina                | C16:1      | 0,76         | 0,07   |
| 9.                                   | Cis-10-heptadekanska kiselina          | C17:1      | 0,28         | 0,03   |
| 10.                                  | Oleinska kiselina i elaidična kiselina | C18:1n9c+t | 26,29        | 0,40   |
| 11.                                  | Cis-11-eikozenska kiselina             | C20:1      | 0,28         | 0,08   |
| 12.                                  | Nervonična kiselina                    | C24:1      | 0,99         | 0,08   |
| <b>Mononezasićene masne kiseline</b> |  |            | <b>28,60</b> |        |
| 13.                                  | Linolna kiselina                       | C18:2n6c   | 3,17         | 0,05   |
| 14.                                  | γ-linolenska kiselina                  | C18:3n6    | 0,75         | 0,09   |
| 15.                                  | α-linolenska kiselina                  | C18:3n3    | 5,63         | 0,14   |
| 16.                                  | Eikozadienska kiselina                 | C20:2n6    | 1,85         | 0,07   |
| 17.                                  | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n6    | 0,75         | 0,05   |
| 18.                                  | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n3    | 0,39         | 0,15   |
| 19.                                  | Arahidonska kiselina                   | C20:4n6    | 8,44         | 0,34   |
| 20.                                  | Eikozapentaenska kiselina (EPA)        | C20:5n3    | 6,37         | 0,25   |
| <b>n-6 masne kiseline</b>            |  |            | <b>14,96</b> |        |
| <b>n-3 masne kiseline</b>            |  |            | <b>12,38</b> |        |

Tablica 11 Nutritivni indeksi smeđe makroalge *Dictyota fasciola*

|                           | PUFA/SFA | IA   | IT   | HH   | UI    |
|---------------------------|----------|------|------|------|-------|
| <b>Nutritivni indeksi</b> | 0,62     | 1,30 | 0,63 | 1,46 | 99,24 |

PUFA/SFA = omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina; IA = aterogeni indeks; IT = trombogeni indeks; HH = hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer; UI = indeks nezasićenosti



#### 4.1.4. GC-FID analiza sastava masnih kiselina zelene makroalge *Codium vermilara*

Tablica 12 Sastav masnih kiselina zelene makroalge *Codium vermilara*

| Br. | Masna kiselina                         |            | sr.vr. (%)   | SO (%) |
|-----|--|------------|--------------|--------|
| 1.  | Laurinska kiselina                     | C12:0      | 0,91         | 0,44   |
| 2.  | Miristinska kiselina                   | C14:0      | 1,58         | 0,17   |
| 3.  | Palmitinska kiselina                   | C16:0      | 32,61        | 0,34   |
| 4.  | Stearinska kiselina                    | C18:0      | 1,04         | 0,05   |
| 5.  | Arahidska kiselina                     | C20:0      | 12,19        | 0,24   |
| 6.  | Behenska kiselina                      | C22:0      | 1,07         | 0,07   |
|     | Lignocerinska kiselina                 | C24:0      | 0,53         | 0,05   |
|     | <b>Zasićene masne kiseline</b>         |            | <b>50,21</b> |        |
| 7.  | Palmitoleinska kiselina                | C16:1      | 0,97         | 0,03   |
| 8.  | Cis-10-heptadekanska kiselina          | C17:1      | 6,07         | 0,23   |
| 9.  | Oleinska kiselina i elaidična kiselina | C18:1n9c+t | 18,03        | 0,60   |
| 10. | Eručna kiselina                        | C22:1n9    | 0,71         | 0,13   |
| 11. | Nervonična kiselina                    | C24:1      | 0,99         | 0,08   |
|     | <b>Mononezasićene masne kiseline</b>   |            | <b>25,78</b> |        |
| 12. | Linolna kiselina                       | C18:2n6c   | 8,58         | 0,11   |
| 13. | γ-linolenska kiselina                  | C18:3n6    | 1,22         | 0,06   |
| 14. | α-linolenska kiselina                  | C18:3n3    | 7,08         | 0,30   |
| 15. | Eikozatrienska kiselina                | C20:3n6    | 0,37         | 0,02   |
| 16. | Arahidonska kiselina                   | C20:4n6    | 4,99         | 0,25   |
| 17. | Eikozapentaenska kiselina (EPA)        | C20:5n3    | 1,33         | 0,07   |
| 18. | Dokosadienska kiselina (DHA)           | C22:2n6    | 0,45         | 0,02   |
|     | <b>n-6 masne kiseline</b>              |            | <b>15,60</b> |        |
|     | <b>n-3 masne kiseline</b>              |            | <b>8,41</b>  |        |

Tablica 13 Nutritivni indeksi zelene makroalge *Codium vermilara*

| Nutritivni indeksi | PUFA/SFA | IA   | IT   | HH   | UI    |
|--------------------|----------|------|------|------|-------|
|                    | 0,48     | 0,80 | 0,76 | 1,20 | 89,78 |

PUFA/SFA = omjer polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina; IA = aterogeni indeks; IT = trombogeni indeks; HH = hipokolesterolemijski/hiperkolesterolemijski omjer; UI = indeks nezasićenosti

## **5. RASPRAVA**

Danas je sve više prisutan trend pojačanog unosa n-6 FA, a s druge strane smanjuje se unos n-3 FA što se odražava na povećanu prevalenciju pretilosti. PUFA (n-3 i n-6) sastavni su dio svih staničnih membrana i utječu na njezinu fluidnost te reguliraju procese stanične signalizacije i funkcije, kao i ekspresiju gena (Špela, 2020). Navedeni spojevi su također i preteče za sintezu eikosanoida i sudjeluju u patološkim i fiziološkim procesima. Dok n-3 FA imaju protuupalno, antiproliferativno i vazodilatacijsko djelovanje, n-6 FA djeluju suprotno. Posljedično, smanjenjem unosa n-3 masnih kiselina dolazi do pojave raznih stanja koja su povezana s upalom, kao što su kardiovaskularne bolesti, reumatoidni artritis, upalne bolesti crijeva i pogoršanje mentalnog zdravlja (Špela, 2020). Lipidi algi koje su podvrgnute ispitivanju u ovom radu ekstrahirani su metodom po Folch-u, a njihovi rezultati mogu razotkriti nove primjene u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Naglasak je usmjeren na sadržaj PUFA jer su važne za ljudsko zdravlje, ponajprije za prevenciju određenih bolesti. Utvrđeno je da n-3 FA sprječavaju nastanak ateroskleroze tj. nastanak plaka na koronarnim arterijama (Špela, 2020).

### **5.1. SASTAV MASNIH KISELINA U SMEĐIM MAKROALGAMA *CYSTOSEIRA CORNICULATA* I *ERICARIA AMENTACEA***

Analiza masnih kiselina pokazala je najveću dominaciju zasićenih masnih kiselina (SFA) u obje vrste, a udjeli koji su dobiveni su bili vrlo slični (43,55 % i 45,65 %) što se značajno razlikuje od rezultata Ivanova i sur. (2013) koji su kod analize *Cystoseira crinita* utvrdili udio od 65-70 %. Ove varijacije mogu biti rezultat različitih geografskih područja s kojeg su uzorci prikupljeni te primjeni različitih metoda ekstrakcije. Metodom po Folch-u koja je korištena tijekom ovog istraživanja identificirani su manji udjeli SFA dok su metodom po Bligh-u i Dyer-u koju su koristili Ivanova i sur. (2013) utvrđeni viši udjeli SFA. S obzirom da se i jednom i drugom metodom određuju ukupni lipidi i općenito su metode vrlo slične, varijacije se mogu dogoditi zbog različitih omjera otapalo/otapalo ili otapalo/uzorak. Kod vrste *C. corniculata* pronađeno je 16 masnih kiselina s najvećom dominacijom C16:0 (28,37 %), dok je s druge strane kod vrste *E. amentacea* pronađeno 19 masnih kiselina i nešto veći udio dominantne C16:0 (33,94 %). Dominaciju C16:0 kod različitih vrsta roda *Cystoseira* utvrdili su i Ivanova i sur. (2013), Bouafif i sur. (2018), Cvitković (2019) i Radman i sur. (2022b), a iznimka je bila u radu Čagalj i sur. (2022) kod kojih je dominaciju, kod analize *Cystoseira compressa* preuzela C18:1n9c sa udjelom od 20,35 %. Čagalj i sur. (2022) su kao metodu identifikacije koristili tekućinsku

kromatografiju s elektrosprej ionizacijskom masenom spektrometrijom i kvadrupol analizatorom vremena leta (UPLC-PDA-ESI-QTOF) što se razlikuje od analize plinskom kromatografijom (GC) koja je korištena kod ostalih istraživanja što može biti izvor ovih varijacija. Udio mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) također je bio vrlo sličan kod analiziranih vrsta (28,56 % i 29,66 %) od kojih su najdominantniji bili izomeri oleinske kiseline (C18:1n9c+t) čiji je udio kod *C. corniculata* 23,78 %, a kod *E. amentacea* udio je 22,77 %. Dobiveni postotci C18:1n9c+t nešto su viši s obzirom na rezultate rada Radman i sur. (2022b) koji su kod *E. crinita* utvrdili postotak ovog izomera od 17,72 %, a varijacije su očekivane s obzirom na analizu različitih vrsta roda *Cystosiera*. Od PUFA prevladavaju n-6 FA u odnosu na n-3 FA čiji je odnos bolji kod vrste *E. amentacea* s obzirom na manji udio n-6 FA (15,26 %) i veći udio n-3 FA (9,43 %) u odnosu na vrstu *C. corniculata*. Shodno tome *E. amentacea* ima bolji nutritivni sadržaj, a samim time i iskoristivost u prehrambenoj industriji. Kao najdominantnija PUFA istaknula se C20:4n6 sa udjelom od 14,50 % kod *E. amentacea* i 10,55 % kod *C. corniculata*. Dominantnost C20:4n6 utvrdili su i Čagalj i sur. (2022) kod vrste *C. compressa* s nešto većim udjelom (17,66 %) i Bouafif i sur. (2018) čiji je najveći udio u odnosu na ostale analizirane alge utvrđen kod vrste *C. crinita* (15,98 %). Smatra se da je PUFA sadržaj smeđih algi viši tokom toplih i ljetnih sezona te kod viših temperatura mora (Čagalj i sur., 2022). Od značajnijih n-3 PUFA identificirana je C20:5n3 čiji je udio nešto veći kod vrste *E. amentacea* (4,39 %) u odnosu na vrstu *C. corniculata* (3,31 %), dok C22:6n3 nije identificirana niti u jednoj analiziranoj vrsti. U usporedbi sa rezultatima rada Bouafif i sur. (2018), koji su utvrdili najveću zastupljenost C20:5n3 kod vrste *C. crinita* (15,98 %), ukazuje na to da udjeli iste FA koji su određeni u ovom radu nemaju veliki značaj. Nutritivni indeksi prikazani su **Tablicama 5, 7, 9, 11 i 13**. Odnos PUFA/SFA bio je bolji kod vrste *C. corniculata* (0,64) u odnosu na vrstu *E. amentacea* (0,54) što ukazuje na značajno bolje omjere u usporedbi sa radom Ivanova i sur. (2013) koji su kod vrste *C. crinita* uočili manji omjer (0,35), a isto tako značajno lošije rezultate u usporedbi sa omjerom PUFA/SFA kod vrste *C. crinita* iz radova Bouafif i sur. (2018) (0,75) i Radman i sur. (2022b) (0,99). IA kod vrste *C. corniculata* iznosio je 0,94 što je vrlo blizu rezultatima Bouafif i sur. (2018) kod vrste *C. crinita* (1,40) i Radman i sur. (2022b) kod vrste *Gongolaria barbata* (1,11). S druge strane nešto bolji IA utvrđen je kod *E. amentacea* (0,98) što je nešto bliže rezultatu Radman i sur. (2022b) kod vrste *Ericaria crinita* (0,79). Bolji IT uočen je kod *E. amentacea* (0,77) dok je kod *C. corniculata* on bio nešto viši (0,81). Uočena je velika sličnost u rezultatima HH i UI kod kod jedne i druge analizirane vrste. HH uočen kod

*C. corniculata* (1,49) u usporedbi sa rezultatom rada Radman i sur. (2022b) na vrsti *E. crinita* (2,06) ima nešto lošiju vrijednost. Korelacija je ista i u usporedbi vrijednosti UI, čija je vrijednost kod *C. corniculata* 111,42, a kod vrste *E. crinita* iz rada Radman i sur. (2022b) utvrđena vrijednost je 150,52. Vrsta *C. crinita* pokazala je visoku vrijednost i u radu Bouafif i sur. (2018) čiji je iznos 137,41.

## 5.2. SASTAV MASNIH KISELINA SMEĐE MAKROALGE *DICTYOTA FASCIOLA*

Unutar alge vrste *D. fasciola* utvrđena je najveća zastupljenost SFA (44,06 %) unutar kojih, kao i kod ostalih smeđih algi, prevladava C16:0 s udjelom od 24,69 % (**Tablica 10**). Ovi rezultati se podudaraju sa rezultatima rada Khotimchenko (1995) koja je kod vrste *Dictyota divaricata* utvrdila udio C16:0 od 24,2 %. Podudaranje navedenih rezultata dobivenih pomoću algi koje su sakupljane tijekom različitih sezona (ljetno i proljeće) ne dovodi do značajnih varijacija u količini C16:0, što kod roda *Dictyota* potvrđuje njenu dominaciju bez obzira na vremensko razdoblje. Gosch i sur. (2012) utvrdili su vrlo niske udjele C16:0 kod vrsta *Dictyota bartayresii* i *D. dichotoma* (7,17 % i 6,85 %), dok su Tabarsa i sur. (2012) analizom *D. dichotoma* utvrdili visok udio C16:0 (43,6 %). Naime, Tabarsa i sur. (2012) kao metodu ekstrakcije lipida koristili su metodu po Soxhlet-u kojom se određuju slobodne masti te nije moguće odrediti ukupne lipide kao kod metode po Folch-u. Slijedom toga varijacije koje su nastale mogu biti rezultat korištenja različitih metoda ekstrakcije lipida. Od MUFA koje su zastupljene u udjelu od 28,60 % prevladava C18:1n9c+t (26,29 %), a od PUFA se ističe C20:4n6 (8,44%) što je kontradiktorno rezultatima Khotimchenko (1995) kod kojih je najzastupljenija PUFA bila C18:4n3 (18 %). Postoje dokazi utjecaja čimbenika okoliša kao što su svjetlost, temperatura vode i koncentracija dušika i općenito drugih komponenata u vodi na masnokiselinski profil (Khotimchenko, 1995). Oskudnost vode dušikom dovodi do povećane sinteze lipida i ukupnog sadržaja lipida. Od važnijih n-3 FA identificirana je C20:5n3 (6,37 %), a C22:6n3 nije identificirana, dok je u radovima Khotimchenko (1995), Gosch i sur. (2012) i Bakar i sur. (2017) analizom različitih vrsta algi roda *Dictyota* identificirana u udjelima od 6 %, 0,20 %, 0,18 % i 18,2 %. Utvrđeni omjer n6/n3 vrste *D. fasciola* bio je 3,1 te je veći od onoga kojeg su utvrdili Tabarsa i sur. (2012) kod vrste *D. dichotoma* (0,70) što govori boljem masnokiselinkom profilu kod vrste *D. dichotoma*. Omjer PUFA/SFA utvrđen u ovom radu iznosi 0,62 što se u odnosu na vrstu *S. hornschurchii* čiji je omjer iznosio 0,77 pokazao lošijim. U usporedbi s ostalim analiziranim vrstama rezultati analize alge *D. fasciola* ukazuju na najlošiju vrijednost IA od

1,30, dok s druge strane IT iznosi 0,63 što ukazuje na najbolji rezultat. HH (1,46) utvrđen analizom *D. fasciola* bio je malo niži od onoga koji je utvrđen kod vrste *C. corniculata* (1,49). IU utvrđen kod *D. fasciola* iznosio je 99,24 te od analiziranih vrsta u ovom radu jedino *S. hornschurchii* pokazala bolji UI (123,96).

### 5.3. SASTAV MASNIH KISELINA SMEĐE MAKROALGE *SARGASSUM HORN SCHUCHII*

Prema dobivenim rezultatima kod vrste *S. hornschurchii* može se uočiti najveća zastupljenost SFA (41,75 %) što se ne podudara s rezultatima Gerasimenko i Logvinov (2016) koji su kod vrste *Sargassum pallidum* uočili najveću zastupljenost PUFA (44,0-73,8 %). Viši udjeli PUFA uočeni u radu Gerasimenko i Logvinov (2016) bili su prisutni kod uzoraka koji su prikupljeni tokom lipnja koje karakterizira razdoblje rasta i sazrijevanja vrste *S. pallidum*, dok je uzorak analiziran u ovom radu prikupljen u prosincu. Od SFA najzastupljenija FA kod *S. hornschurchii* je C16:0 (32,77 %), čiji je udio u radu Gerasimenko i Logvinov (2016) nešto manji (do 20,4 %) kod vrste *S. pallidum*. Ovi rezultati su kontradiktorni rezultatima Chen i sur. (2016) čiji su rezultati analize alge *S. pallidum* pokazale visoke udjele C16:0 (48,66 %). Ove varijacije su moguće zbog primjene Bligh-ove i Dyer-ove metode ekstrakcije lipida koja koristi različite omjere otapala u usporedbi s Folch-ovom metodom ekstrakcije lipida. Rezultati ovog rada također ukazuju na visok udio C18:1n9c+t kod *S. hornschurchii* (16,6 %) što je nešto manje nego što su uočili Chen i sur. (2016) kod vrste *S. pallidum* (19,57 %). Od PUFA kod *S. hornschurchii* uočen je visok udio C20:4n6 (17,90 %), a sličan rezultat utvrdila je i Khotimchenko (1991) kod vrste *S. pallidum* (18 %). Ovakvi rezultati nisu očekivani s obzirom da je *S. pallidum* sakupljena u ljetnom periodu, dok je *S. hornschurchii* sakupljena u zimskom periodu. Najvažnija n-3 FA pronađena kod *S. hornschurchii* je C20:5n3 (3,48 %) što uveliko odstupa od rezultata Khotimchenko (1991) kod vrste *Sargassum miyabei* (14,4 %), Gerasimenko i Logvinov (2016) kod vrste *S. pallidum* (14,7 %) i Chen i sur. (2016) kod vrste *Sargassum fusiforme* (26,09 %). Ovakve razlike objasnili su Gerasimenko i Logvinov (2016) konstatirajući da su tijekom umjereno hladnog perioda, kada je i temperatura vode umjereno hladna, prisutne veće količine ukupnih lipida. Navedeno potvrđuju rezultati rada Gerasimenko i Logvinov (2016) jer je njihov uzorak jedini sakupljen tokom zimskog perioda kada je temperatura vode drastično niža. Udio n-6 FA prisutan je u većem udjelu od n-3 FA i njihov odnos iznosi 3,4, a ovaj omjer u radu Gerasimenko i Logvinov (2016) kreće se od 0,1 do 0,5 što ovisi o mjesecu sakupljanja

algi. Utvrđeni omjer PUFA/SFA kod vrste *S. hornsuschuchii* iznosi 0,77, što je vrlo slično rezultatu Chen i sur. (2016) kod vrste *S. fusiforme* gdje je utvrđeni omjer bio 0,67. Ipak zbog većeg iznosa PUFA/SFA bolji omjer ima vrsta *S. hornsuschuchii*. Lošiji IA utvrđen je u radu Chen i sur. (2016) kod vrste *S. pallidum* (1,99), zatim se ističe IA kod vrste *S. hornsuschuchii* dobiven u ovom radu (0,86), dok s druge strane najbolji IA utvrđen je kod Gerasimenko i Logvinov (2016) kod vrste *S. pallidum* (0,41-0,57). Najbolji IT utvrđen je u radu Gerasimenko i Logvinov (2016) kod vrste *S. pallidum* (0,18-0,49), dok su rezultati vrste *S. hornsuschuchii* ukazali na veći, a ujedno i lošiji IT (0,80). Vrsta *S. hornsuschuchii* dala je vrijednosti HH (1,31) i UI (123,96). Uzimajući u obzir UI, Chen i sur. (2016) utvrdili su najveći iznos kod vrste *S. fusiforme* (125,65) što je vrlo slično prethodno navedenom rezultatu, a isto tako utvrdili su najmanji udio kod *S. pallidum* (62,27).

#### 5.4. SASTAV MASNIH KISELINA ZELENE MAKROALGE *CODIUM VERMILARA*

Rezultati analize alge vrste *Codium vermilara* ukazuju na najveću zastupljenost SFA (50,21 %), a najistaknutija FA je C16:0 sa udjelom od 32,61 % što se razlikuje u usporedbi sa rezultatima Radman i sur. (2021) gdje su analizom *C. adharens* utvrdili udio od 25,5 %. i Jerković i sur. (2019) gdje su analizom *C. bursa* utvrdili udio od 25,44 %. Ove varijacije ukazuju na veću zastupljenost C16:0 kod vrsta roda *Codium* tokom ljetnog perioda. Prema rezultatima rada nakon SFA, kod vrste *C. vermilara* prema zastupljenosti se ističu MUFA (25,78 %) sa dominacijom C18:1n9c+t (18,03 %) što potvrđuju Radman i sur. (2021) na vrsti *C. adharens*, Goecke i sur. (2010) na vrstama *Codium dimorphum*, *Codium fernandezianum* i *Codium fragile*, Khotimchenko (2003) na vrstama *C. fragile*, *Codium tomentosum*, *Codium species* i *Codium geppi*. Prethodno navedeni radovi kod vrsta roda *Codium* kao i dobiveni rezultati u ovom radu ukazuju na dominaciju C16:0 gledajući ukupne FA što je kontradiktorno radu Jerkovića i sur. (2019) koji su utvrdili najveće udjele C18:1n9c+t (36,53%) do čega je moglo doći zbog korištenja različite metode ekstrakcije. Naime Jerković i sur. (2019) su kao metodu ekstrakcije lipidne frakcije koristili metodu po Soxhletu. Prema rezultatima ovog rada kod vrste *C. vermilara* od PUFA ističe se C18:2n6 (8,58 %) kao i u radu Radman i sur. (2021) na vrsti *C. adharens* (4,67 %). FA koja je karakteristična za vrste roda *Codium* je C16:3 koja nije identificirana u ovom radu kao i u radu Jerković i sur. (2019). Važne n-3 PUFA su C20:5n3 i C22:6n3 od kojih je u ovom radu kod *C. vermilara* identificirana samo C20:5n3 (1,33 %), dok su u radu Xu i sur. (1998) identificirane obje FA, s time da je najveći udio C20:5n3 utvrđen kod *Codium pomoides* (4,5 %), a C22:6n3 je pronađena kod vrsta *Codium duthiae* i *Codium*

*galeatum* (0,1-0,5 %). C20:5n3 i C22:6n3 identificirane su i u radu Khotimchenko (2003) u kojem su se udjeli C20:5n3 kod vrste *C. fragile* kretale od 8,2 % do 8,6 %, a udjeli 22:6n3 kod vrste *C. tomentosum* od 0,9 % do 1,1 %, dok u radovima Radman i sur. (2021), Goecke i sur. (2010) i Jerković i sur. (2019) navedene n-3 PUFA nisu identificirane. Xu i sur. (1998) su utvrdili da su osušeni uzorci sadržavali manje PUFA jer su ti spojevi osjetljivi na oksidaciju. Slijedom toga navedene varijacije mogu biti razlog različitog skladištenja do analize uzorka. Udio n-6 FA zauzima veći udio u odnosu na n-3 FA, a njihov omjer iznosi 1,85 koji se pokazao povoljnijim u usporedbi s rezultatom Radman i sur. (2021) čiji je omjer bio 2,92. Omjer PUFA/SFA kod vrste *C. vermilara* pokazao se najlošijim (0,48) u odnosu na druge ispitivane vrste kao i dobiveni HH (1,20) i UI (89,78), dok su se s druge strane IT (0,76) i IA (0,80) pokazali vrlo povoljnim u odnosu na ostale vrste.

## 5.5. RAZLIKA U MASNOKISELINSKOM PROFILU SMEĐIH I ZELENE MAKROALGI

Razlika u masnokiselinskom profilu smeđih i zelene makroalge jasno je vidljiva iz identifikacije različitih FA. FA koje su identificirane kod smeđih, a nisu kod zelene su pentadekanska kiselina (C15:0), eikosenska kiselina (C20:1), eikosadienska kiselina (C20:2n6), eikosadienska kiselina (C21:0), eikosatrienska kiselina (C20:3n3) i miristoleinska kiselina (C24:1), dok FA koje nisu identificirane kod smeđih algi, a identificirane su kod zelene alge su laurinska kiselina (C12:0), eručna kiselina (C22:1n9) i dokosadienska kiselina (C22:2n6). Ono što se može istaknuti kao glavna razlika je česta identifikacija C20:5n3 kod smeđih algi primjenom različitih metoda, dok ona kod zelenih često izostaje. S obzirom na male razlike pretpostavlja se da na tu malu varijaciju u masnokiselinskom profilu utječu razni čimbenici kao što su geografska rasprostranjenost, fiziološke varijacije, salinitet i razdoblje sakupljanja algi. Glavni čimbenik koji je bitan za efikasnost odvajanja FA je postupak ekstrakcije pomoću pogodnog otapala koji ovisi o kemijskim strukturama unutar makroalge. Često se identifikacija prisutnih spojeva vrši kombinacijom određenih metoda radi bolje izdvojenosti FA kako bi se mogle što lakše identificirati.





## **6. ZAKLJUČCI**

---

Na osnovi rezultata istraživanja masnokiselinskog sastava koji su provedeni na određenim vrstama algi iz Jadranskog mora (*Cystoseira corniculata*, *Ericaria amentacea*, *Dictyota fasciola*, *Sargassum hornschuchii* i *Codium vermilara*), mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. U svih pet vrsta najveću zastupljenost ima C16:0 čiji je najveći udio prisutan kod vrste *E. amentaceae*. Sljedeća FA koja se istaknula prema zastupljenosti je C18:1n9c+t s najvećim udjelom kod vrste *D. fasciola*. Izuzetak je vrsta *S. hornschuchii* kod koje iza C16:0 najveću zastupljenost ima C20:4n6.
2. Glavne esencijalne FA su C18:2n6, C18:3n3 i C20:4n6 koje su identificirane u svih 5 vrsta. Najveći udio C18:2n6 i C18:3n3 prema rezultatima rada prisutan je u vrsti *C. vermilara*, dok je najveća prisutnost C20:4n6 prisutna kod vrste *S. hornschuchii*.
3. Rezultati ovog rada ukazuju na identifikaciju C20:5n3 u svih pet vrsta analiziranih algi, dok C22:6n3 nije identificirana niti u jednoj vrsti. Najveća prisutnost C20:5n3 identificirana je kod vrste *D. fasciola* stoga bi ova vrsta mogla imati najveću primjenu u nutricionizmu i općenito u prehrambenoj industriji.
4. Rezultati ukazuju na najveću prisutnost SFA kod vrste *C. vermilara* što ju svrstava u manje iskoristive makroalge u nutricionizmu i proizvodnji funkcionalnih proizvoda u usporedbi s ostalim analiziranim makroalgama, ali i dalje može imati veliku primjenu u prehrambenoj industriji (npr. sredstva za zgušnjavanje, prirodne boje i sl.).
5. Prema rezultatima iz ovog rada najveći omjer PUFA/SFA prisutan je kod vrste *S. hornschuchii* što ujedno ukazuje na najbolji omjer u usporedbi s ostalim analiziranim vrstama. Prethodnu informaciju potvrđuje i najveći indeks nezasićenosti (IU) koji je također prisutan kod vrste *S. hornschuchii*. Najmanji aterogeni indeks (IA) utvrđen je kod vrste *C. vermilara* što utvrđuje povezanost s najnižim rizikom od aterosleroze u usporedbi s ostalim analiziranim, dok je indeks trombogenost (IT) najniži kod vrste *D. fasciola* što ukazuje na najniži rizik od stvaranja trombocita (ugrušaka krvi) u usporedbi s ostalim analiziranim vrstama. Niži IT ukazuje na smanjenu pojavnost srčanih i moždanih udara. Najveću vrijednost HH ima vrsta *C. corniculata* koja ukazuje na najniži rizik od pojave visoke razine kolesterola i smanjen rizik od kroničnih oboljenja koji su povezani s visokom razinom kolesterola.

## **7. LITERATURA**

- Anderson J: Chlorophyll-protein complexes of a *Codium* species, including a light-harvesting siphonaxanthin-chlorophyll a/b-protein complex, an evolutionary relic of some *Chlorophyta*. *Biochimica et Biophysica Acta* 724: 370-380, 1983.
- Baggini C, Salomidi M, Voutsinas E, Bray L, Krasakopoulou E, Hall-Spencer J: Seasonality Affects Macroalgal Community Response to Increases in pCO<sub>2</sub>. *PLoS ONE* 9: e106520, 2014.
- Bakar K, Mohamad H, Latip J, Tan H, Heng G: Fatty acids compositiona of *Sargassum granuliferum* and *Dictyota dichotoma* and their anti-fouling activities. *Journal of Sustainability Science and Management* 12: 8-16, 2017.
- Begić K: Ispitivanje antioksidativnog potencijala polisaharidnih frakcija makroalgi Jadranskog mora upotrebom embrija zebrice *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2021.
- Bonilla Loaiza AM, Rodríguez-Jasso R, Belmares R, López-Badillo C, Araújo R, Aguilar C, Chávez M, Aguilar M, Ruiz H: Fungal Proteins from *Sargassum spp.* Using Solid-State Fermentation as a Green Bioprocess Strategy. *Molecules*, 27: 3887, 2022.
- Bouafif C, Messaoud C, Boussaid M, Langar H: Fatty acid profile of *Cystoseira C. Agardh* (Phaeophyceae, Fucales) species from the Tunisian coast: Taxonomic and nutritional assessments; Perfil de ácidos grasos de especies de *Cystoseira C. Agardh* (Phaeophyceae, Fucales) de la costa tunecina: Evaluaciones taxonómicas y nutricionales. *Ciencias Marinas* 44: 169–183, 2018.
- Brajica L: Odabrane vrste smeđih alga porodice *Dictyotaceae*: pregled istraživanja isparljivih organskih spojeva. *Završni rad*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2020.
- Cardoso C, Ripol A, Afonso C, Freire M, Varela J, Quental-Ferreira H., Pousão-Ferreira P, Bandarra N: Fatty acid profiles of the main lipid classes of green seaweeds from fish pond aquaculture. *Food Science and Nutrition* 5:1186-1194, 2017.
- Chen J, Liu H: Nutritional Indices for Assessing Fatty Acids: A Mini-Review. *Molecular Sciences* 21: 5695, 2020.
- Chen J, Liu H: Nutritional Indices for Assessing Fatty Acids: A Mini-Review. *Molecular Sciences* 21: 5695, 2020.
- Chen Z, Xu Y, Liu T, Zhang L, Liu H, Guan H: Comparative Studies on the Characteristic Fatty Acid Profiles of Four Different Chinese Medicinal *Sargassum* Seaweeds by GC-MS and Chemometrics. *Marine Drugs* 14: 68, 2016.
- Cikoš A, Jokić S, Šubarić D, Jergović I: Overview on the Application of Modern Methods for the Extraction of Bioactive Compounds from Marine Macroalgae. *Marine Drugs*, 16: 348, 2018.
- Cikoš A: Karakterizacija odabranih makroalgi Jadranskog mora: isparljivi spojevi, masne kiseline i pigmenti. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2021.

- Cvitković D: Utjecaj odabira otapala i metoda ekstrakcije na lipidnu frakciju izoliranu iz algi Jadranskog mora. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zadar, 2019.
- Čagalj M, Skorza D, Razola–Díaz M, Verardo V, Bassi D, Frelta R, Mekinić I, Tabanelli G, Šimat V: Variations in the Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Cystoseira compressa* during Seasonal Growth. *Marine Drugs*, 20: 64, 2022.
- El-Din: Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine *Pterocladia capillacea*, *Sargassum hornschurchii* and *Ulva lactuca*, *International Journal of Environmental Science and Technology* 15: 791–800, 2018.
- Ercegović A: Značajne crte vegetacije alga Jadranskog mora. *Acta Botanica Croatia* 17-36, 1959/1960.
- EZ, Komisija Europskih zajednica: Uredba KOMISIJE (EZ) br. 796/2002, 2002.
- Falace A, Zanelli E, Bressan G: Morphological and reproductive phenology of *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin (Fucales, Fucophyceae) in the Gulf of Trieste (North Adriatic). *Annales, Series Historia Naturalis*, 5: 5–12, 2005.
- Folch J, Lees M, Stanley GHS: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226:497–509, 1957.
- Geertz-Hansen O, Enriquez S, Duarte C, Agusti S, Vaque D, Vidondo B: Functional implications of the form of *Codium bursa*, a balloon-like Mediterranean macroalga. *Marine Ecology Progress Series*, 108: 153-160, 1994.
- Gerasimenko N, Logvinov S: Seasonal Composition of Lipids, Fatty Acids Pigments in the Brown Alga *Sargassum pallidum*: The Potential for Health. *Open Journal of Marine Science*, 6: 498-523, 2016.
- Ghaeni M, Ghahfarokhi KN, Zaheri L: Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices in *Leiognathus bindus* and *Upeneus sulphureus*. *Marine Science: Research and Development* 10: 4172/2155-9910, 2013.
- Goecke F, Hernández V, Bittner M, González M, Becerra J, Silva M: Fatty acid composition of three species of *Codium* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 45: 325-330, 2010.
- Gosch B, Magnusson M, Paul N, Nys R: Total lipid and fatty acid composition of seaweeds for the selection of species for oil-based biofuel and bioproducts. *GCB Bioenergy* 4: 919–930, 2012.
- Ivanova V, Stancheva M, Petrova D: Fatty acid composition of Black sea *Ulva rigida* and *Cystoseira crinita*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19: 42–47, 2013.
- Jerković I, Kranjac M, Marijanović Z, Šarkanj B, Cikoš A, Aladić K, Pedisić S, Jokić S: Chemical Diversity of *Codium bursa* (Olivi) C. Agardh Headspace Compounds, Volatiles, Fatty Acids and Insight into Its Antifungal Activity. *Molecules*, 24: 842, 2019.

- Khotimchenko S: Fatty acid composition of seven *Sargassum* species. *Phytochemistry* 30: 2639-2641, 1991.
- Khotimchenko S: Fatty Acids of Species in the Genus *Codium*. *Botanica Marina* 46: 456–460, 2003.
- Khotimchenko S: Lipids from the marine alga *Gracilaria verrucosa*. *Chemistry of Natural Compounds* 41: 285-288, 2005.
- Khotimchenko S: Uncommon 16:1 (n-5) acid from *Dictyota dichotoma* and fatty acids of some brown algae of *Dictyotaceae*. *Phytochemistry* 38: 1411- 1415, 1995.
- Kumari P, Bijo AJ, Mantri VA, Reddy CR, Jha B: Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: an analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives. *Phytochemistry* 86:44-56, 2013.
- Lasley-Rasher RS, Rasher DB, Marion ZH, Taylor RB, Hay ME: Predation constrains host choice for a marine mesograzers. *Marine Ecology Progress Series* 434: 91–99, 2011.
- Matanić J: Izolacija pigmenta iz alge *Cystoseira* primjenom ubrzane ekstrakcije otapalima pri povišenom tlaku. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2018.
- Nwagha UI, Ikekpeazu EJ, Ejezie FE, Neboh EE, Maduka IC: Atherogenic index of plasma as useful predictor of cardiovascular risk among postmenopausal women in Enugu, Nigeria. *African Health Sciences* 10: 248-252, 2010.
- Oliyaei N, Moosavi-Nasab, Tamaddon A, Tanideh N: Antidiabetic effect of fucoxanthin extracted from *Sargassum angustifolium* on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic mice. *Food Science and Nutrition* 9: 3521-3529, 2021.
- Popovič A: Faunističko-ekološko istraživanje mekušaca povezanih s *Cystoseirom* (*Cystoseira* spp.). *Završni rad*. Sveučilište na Primorskom fakultetu matematike, prirodoslovlja i informacijske tehnologije, studijski program bioraznolikost, Koper (Slovenija), 2012.
- Prvan M, Jakl Z: Priručnik za zaštitu mora i prepoznavanje živog svijeta Jadrana. Split, 2016.
- Radman S, Cikoš A, Flanjak I, Babić S, Čižmek L, Šubarić D, Čož-Rakovac R, Jokić S, Jergović I: Less Polar Compounds and Targeted Antioxidant Potential (In Vitro and In Vivo) of *Codium adhaerens* C. Agardh 1822. *Pharmaceuticals* 14:944, 2021.
- Radman S, Čižmek L, Babić S, Cikoš A, Čož-Rakovac R, Jokić S, Jergović I: Bioprospecting of Less-Polar Fractions of *Ericaria crinita* and *Ericaria amentacea*: Developmental Toxicity and Antioxidant Activity. *Marine Drugs* 20: 57, 2022a.
- Radman S, Zekić M, Flanjak I, Cikoš A, Jokić S, Jergović I: Contribution to the chemodiversity of ex *Cystoseira* sp. - *Gongolaria barbata* and *Ericaria crinita* from the Adriatic Sea: Volatiles, fatty acids and major pigments. *Algal Research* 63: 102653, 2022b.
- Rushdi M, Abdel-Rahman I, Attia E, Saber H, , Attia EM, , Abdelraheem WM, Madkour HA, Hassan HM, Elmaidomy AH, Abdelmohsen UR: Pharmacological and natural products

- diversity of the brown algae genus *Sargassum*. *Royal society of chemistry* 10: 24951-24972, 2020.
- Rushdi M, Abdel-Rahman I, Attia E, Saber H, Saber A, Bringmann G, Abdelmohsen U: The Biodiversity of the Genus *Dictyota*: Phytochemical and Pharmacological Natural Products Prospectives. *Molecules* 27: 672, 2022.
- Smoljo M: Antioksidacijski potencijal različitih ekstrakata Jadranskih algi. *Završni rad*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2018.
- Sousa C, Cox C, Brito L, Pavão M, Pereira H, Ferreira A, Ginja C, Campino L, Bermejo R, Parente M, Varela J: Improved phylogeny of brown algae *Cystoseira* (Fucales) from the Atlantic-Mediterranean region based on mitochondrial sequences. *PLoS ONE* 14: e0210143, 2019.
- Stanojković TP, Konić-Ristić A, Kljajić Z, Grozdanić-Stanisavljević N, Srdić-Rajić T, Zdunić G, Šavikin K: Antioxidant, antiplatelet and cytotoxic activity of extract of *Cystoseira amentacea* from the coast of Montenegro (South-east Adriatic sea). *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 9: 869-880, 2014.
- Špan A: The genus *Sargassum* in the Adriatic Sea: Morphology, systematics and ecology. *Acta Adriatica* 46: 9 - 80, 2005.
- Špela N: Učinci omega-3 masnih kiselina na zdravlje čovjeka. *Diplomski rad*. Farmaceutskobiokemijski fakultet, Zagreb, 2020.
- Tabarsa M, Rezaei M, Ramezanpour Z, Waaland J, Rabiei R: Fatty acids, amino acids, mineral contents, and proximate composition of some brown seaweeds. *Phycological Society of America* 48: 2, 2012.
- Vizetto-Duarte C, Pereira H, Sousa C, Rauter A, Albericiocdef F, Custódia L, Barreira L, Varela J: Fatty acid profile of different species of algae of the *Cystoseira* genus: a nutraceutical perspective. *Natural Product Research* 29: 1264-70, 2015.
- Web1: [http://bts.fer.hr/btsweb/wp-content/uploads/2019/10/bts19\\_lilijana\\_ivesa.pdf](http://bts.fer.hr/btsweb/wp-content/uploads/2019/10/bts19_lilijana_ivesa.pdf) [12.7. 2022.]
- Web2: <https://www.biowin.at/all/Pflanzen/systematik/abteilungen/Phaeophyta/Fucales/Cystoseira%20spicata/cystoseira.htm> [12.7. 2022.]
- Web3: <https://doris.ffessm.fr/Especies/Sargassum-hornschuchii-Sargasse-crepee-1688> [22. 8. 2022.]
- Web4: <http://www.european-marine-life.org/62/dictyota-dichotoma.php?photo=1> [13.7. 2022.]
- Web5: <https://www.marinespecies.org/photogallery.php?album=770&pic=15050> [16. 9. 2022.]



Xu X, Tran V, Kraft G, Beardal J: Fatty acids of six *Codium* species from Southeast Australia. *Phytochemistry* 48: 1335-1339, 1998.

Zorčec A: Antifungalni učinak ekstrakata morskih organizama. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2020.