

Skład chemiczny algi brązowej *Fucus vesiculosus* L.

Instytut Inżynierii Tekstyliów i Materiałów Polimerowych, Akademia Techniczno-Humanistyczna,
Wydział Nauk o Materiałach i Środowisku

Dyrektor Instytutu Inżynierii Tekstyliów i Materiałów Polimerowych: dr hab. Jarosław Janicki, prof. ATH

CHEMICAL COMPOSITION OF BROWN ALGAE *FUCUS VESICULOSUS* L.

SUMMARY

Biologically active compounds of brown algae Fucus vesiculosus L. possess unique physical-chemical and pharmacological properties and are widely used in medicine, pharmacy, biotechnology, cosmetology and the food industry. The contents of the following components were analyzed: total sum of lipids complex compounds, extractable water-soluble compounds, polysaccharides: alginate, alginic acid, fucoidan (fucan sulfate), a fucose-containing sulfonated polysaccharide, chlorophyll content, vitamin (A, D, E, K, C, B₁) and melatonin identification. Determination of total sum of lipid and extractable water-soluble compounds in Fucus vesiculosus L. was carried out by determination of the sum fraction by the dry weight method. Spectrophotometric method was adopted to determination of chlorophyll content in Fucus vesiculosus L. For qualitative identification of vitamin (A, D, E, K, C, B₁) and melatonin the thin layer chromatography (TLC) method was exploited. Cellulose acetate membrane electrophoresis was adopted to identify alginate, alginic acid and fucoidan in Fucus vesiculosus L. As a result of the present study, it was revealed that the sum of water-soluble extractable compounds is higher in Fucus vesiculosus L. Flos than in Fucus vesiculosus L. Witherba. The sum of lipids is higher in Fucus vesiculosus L. Flos than in Fucus vesiculosus L. Witherba. The chlorophyll concentration in the extract is calculated by reading the absorption of the pigment extract in a spectrophotometer and the chlorophyll concentration is higher in Fucus vesiculosus L. Flos than in Fucus vesiculosus L. Witherba for acetone solvent. In the chosen solvents system and with the aid of standards applications, it was possible to identify on the chromatogram such vitamins as A, D, E, C. Electrophoretic examination of fucoidan in bladder wrack Fucus vesiculosus L., as presented in this study, are very promising. The preliminary tests allowed for separating and identifying fucoidan extraction in 0.1 M hydrochloric acid. The advantage of this study is developing a simple, repeatable analytic procedure using modern but inexpensive apparatus for cellulose acetate membrane electrophoresis.

KEY WORDS: BROWN ALGAE – *FUCUS VESICULOSUS* L. – CHLOROPHYLL – FUCOIDAN – MELATONIN – VITAMINS

Wstęp

Algi, mikro- i makroalgi, glony, Algae, Phykos, wodorosty, Spirulina – z tymi wszystkimi nazwami spotykamy się na co dzień, przyjmując tabletkę, spożywając danie kuchni azjatyckiej lub polski deser, a

nawet pielęgnując cerę lub lecząc rany. Zastosowania glonów rozciągają się pomiędzy medycyną, farmacją, kosmetologią, aż do przemysłu spożywczego i nauk technicznych. Obecnie tak samo intensywnie wykorzystywane są mikro- i makroalgi, jak i produkty z nich pozyskiwane – alginiany.

Algi są źródłem cennych dla naszego organizmu substancji. Zawierają duże ilości węglowodanów, białek, lipidów, mikroelementów i witamin. Skład chemiczny alg brunatnic (1) określa procentową zawartość następujących związków chemicznych: woda – 75-90%, substancje mineralne – 30-50%, węglowodany – 30-50%, białka – 7-15%, lipidy – 2-5%, celuloza – 2-10%. Uważa się, że węglowodany – polisacharydy, stanowią ok. 60% wszystkich substancji czynnych występujących w algach. Z tej grupy związków chemicznych należy wymienić: mukopolisacharydy (glikoamino-glukany GAG), czyli związki zbudowane z aminocukrów i kwasów uronowych, przy czym głównymi przedstawicielami tej grupy są kwas hialuronowy i siarczan chondroityny, kwas alginowy i jego sole (szczególnie alginiany wapniowe i sodowe), a także fukany (laminaryna i fukoidyna), mannitol i sorbitol (polialkohole, tzw. alkohole cukrowe, połączenie węglowodanów z alkoholem), karageniany, naturalne hydrokoloidy i agar, naturalny środek żelujący i zagęszczający.

Z grupy białek i aminokwasów w algach występują: glikoproteiny i metaloproteiny, oraz aminokwasy egzogenne, w tym alanina, aspargina, glicyna, lizyna, seryna, izoleucyna, leucyna, metionina, fenyloalanina, treonina, tryptofan i walina.

Wśród lipidów w algach występują: niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT): arachidonowy, eikozapentenowy i rzadko spotykany – γ -linolenowy (GLA).

Z grupy witamin w algach zidentyfikowano: karotenoidy, np. β -karoten, źródło witaminy A, witaminy z grupy B (B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₂) oraz witaminy E, C i D.

Występujące w algach pierwiastki to cynk, miedź, brom, jod, żelazo, miedź, magnez i mangan (w algach występują w szczególnie dobrze przyswajalnej postaci, jako związki metaloorganiczne lub kompleksowe).

Z innych związków chemicznych w algach zidentyfikowano: polifenole, które mają silne działanie przeciwzapalne, chronią także przed działaniem wolnych rodników; naturalne barwniki roślinne: fikoerytryna, fikocyjanina i chlorofil – chronią przed uszkodzeniami spowodowanymi promieniowaniem UV, a także związki biogenne o własnościach przeciwbakteryjnych.

W niniejszej pracy zidentyfikowano wybrane, biologicznie aktywne związki chemiczne obecne w suszu morskocynu *Fucus vesiculosus* L. Spośród często analizowanych związków w pracy zestawiono następujące: związki ekstrahowane wodą, sumaryczną zawartość lipidów, zawartość chlorofilu; z polisacharydów zidentyfikowano: alginiany i fukoidan, witaminy rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie (A, D, E, K, C, B₁) oraz melatoninę.

Materiał i metody

Obiektem badań był wysuszony morskocyn pęcherzykowaty *Fucus vesiculosus* L. pochodzący z dwóch różnych firm: Flos (Zakład Konfekcjonowania Ziół FLOS, E. i J. Głąb, w Morsku) i Witherba (Witherba z Piotrkowa Trybunalskiego).

Określenie zawartości związków ekstrahowanych wodą

Odważono na wadze technicznej 3 x 5,0 g morskocynu, osobno z każdej firmy i przesypano do kolb stożkowych. Następnie dodano 50 ml wody destylowanej i wytrząsano przez 2 godz. w temp. 80°C na wytrząsarce laboratoryjnej Water Bath Shaker type 357, przy 150 obr./min i częstotliwości 6. Zioła odsączono na lejku Büchnera i przemyto kolejno 50 ml wody destylowanej, przeniesiono ilościowo na szalki Petriego i wysuszono w suszarce laboratoryjnej do stałej masy w temp. 100°C. Przesącz przeniesiono do kolb okrągłodennych i odparowano na wyparce próżniowej do sucha.

Określenie zawartości lipidów

Odważono na wadze technicznej 3 x 5,0 g morskocynu, osobno z każdej firmy i przesypano do kolb stożkowych z dopasowanym korkiem. Do kolb dodano 50 ml 3,7% formaldehydu i pozostawiono na 24 godziny. Następnie surowiec odsączono na lejku Büchnera i suszono w suszarce laboratoryjnej przez 24 godziny w temp. 30°C. Przesącz odparowywano na wyparce próżniowej do sucha. Kolbki z osadem ponownie suszono do stałej masy w suszarce w temp. 100°C.

Określenie zawartości chlorofilu

Odważono 3 x 1,0 g morskocynu, osobno z każdej firmy i przesypano do kolb stożkowych z dopasowanym

korkiem. Następnie zalano 10 ml acetonu (cz.d.a) i odwirowano roztwór w wirówce laboratoryjnej MPW-G (3000 obr./min przez 5 min). W zdekantowanych z nad osadu rozpuszczalnikach dokonano pomiarów spektrofotometrycznych za pomocą spektrofotometru UV-Vis „Spekol”. Powyższe czynności powtórzono dla 90% roztworu metanolowego (metanol cz.d.a) i eterowego (eter dietylowy cz.d.a).

Identyfikacja melatoniny metodą chromatografii cienkwarstwowej TLC

Zhomogenizowane próbki morskocynu oraz dla porównania próbki wybranych produktów żywnościowych (orzechy włoskie, zielona i czerwona herbata, pomidor, zielony i kiszony ogórek, domowa wiśniówka, oliwa z oliwek, olej arachidowy, banan, skórka z ciemnych winogron, czerwone wino) umieszczono w zamrażarce na 24 godziny. Następnie odważono 2-4 g produktów, dodano 10 ml metanolu, roz tarto w moździerz i odwirowano (4000 obr./min, czas wirowania 20 min). Roztwór z nad osadu odparowano na wyparce próżniowej do sucha. Do pozostałości w kolbie dodano po 1 ml metanolu. Identyfikację melatoniny oraz witamin A, E, D i C przeprowadzono na płytkach z żelazem krzemionkowym, jako fazę ruchomą zastosowano alkohol izopropylowy i n-heksan (2:8). Analizowane próby wywołano w parach jodu.

Identyfikacja witamin metodą chromatografii cienkwarstwowej TLC

Odważono 10,0 g morskocynu osobno z każdej firmy i przesypano do kolb stożkowych z dopasowanym korkiem. W celu wyselekcjonowania optymalnego rozpuszczalnika dodawano kolejno do surowca następujące odczynniki: metanol, etanol, chloroform i n-heksan. Mieszaninę wytrząsano na wytrząsarce laboratoryjnej Water Bath Shaker type 357 od 1 do 3 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie roztwory przesączono przez sączek karbowany. W celu wyselekcjonowania optymalnej fazy ruchomej przeanalizowano następujące układy elucyjne: przy oznaczaniu witamin A, E, K i D: chloroform – benzen (1:1), n-heksan – eter dietylowy (1:4; 1:3; 1:1); przy oznaczaniu witaminy C i B₁: lodowaty kwas octowy – aceton – metanol – benzen (5:5:20:70). Jako fazę stacjonarną zastosowano płytki z żelazem krzemionkowym. Identyfikację przeprowadzono w parach jodu oraz pod lampą UV.

Identyfikacja alginianów i fukoidyny

Odważono na wadze technicznej 3 x 5,0 g morskocynu, osobno z każdej firmy i przesypano do kolb stożkowych z dopasowanym korkiem. Mieszaninę

zalano 100 ml 3,7% formaldehydu i pozostawiono w zamkniętej kolbie na 24 godz. w celu usunięcia pozostałości lipidowych. Mieszaninę przesączono, a następnie surowiec wytrząsano ze 100 ml 0,1 M roztworu HCl przez godzinę.

Przeprowadzono identyfikację fukoidyny metodą elektroforezy na folii z octanu celulozy. Elektroforezę prowadzono (CA-SYS-MINI Cellulose Acetate Systems) w roztworze 0,2 M octanu wapnia (pH = 7,5) przez 1 godzinę. Warunki pomiaru: 7mA, maks 240V, 50W.

Następnie wybarwiono płytki w 0,5% roztworze błękitu toluidyny, opłukano je w wodzie destylowanej i wysuszono na powietrzu.

Wyniki i dyskusja

Suma zawartości związków ekstrahowanych wodą służy jako parametr dla porównawczej analizy jakości

materiału roślinnego przygotowywanego do produkcji ekstraktów i analizy fitochemicznej (2).

W tabeli 1 zestawiono zawartości związków ekstrahowanych w wodzie (3).

Zawartość lipidów w algach morskich zależy od warunków środowiskowych. W tabeli 2 zestawiono zawartość lipidów w morskich *Fucus vesiculosus* L. (3).

Zawartość chlorofilu w pozyskiwanym materiale roślinnym jest powszechnie oznaczanym parametrem jakościowym alg (4). Zawartość chlorofilu w ekstraktach (acetonowym, metanolem i eterowym) została obliczona z wartości absorbancji przy podanych długościach fali zgodnie z poniższymi wzorami:

dla acetonu (mg l^{-1}):

$$\text{Chlorofil a} = (12,7 \times A_{663}) - (2,69 \times A_{645})$$

$$\text{Chlorofil b} = (22,9 \times A_{645}) - (4,64 \times A_{663})$$

$$\text{Chlorofil a + b} = (8,02 \times A_{663}) + (20,2 \times A_{645})$$

Tabela 1. Określenie zawartości związków ekstrahowanych wodą.

Masa morskichy przed suszeniem w temp. 100°C		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	5,3442	5,9338
2	5,4891	5,4424
3	5,1534	5,3345
Średnia	$\bar{x} = 5,3289$	$\bar{x} = 5,5702$
Masa morskichy po suszeniu		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	3,1607	3,7341
2	3,3130	3,5712
3	3,2923	3,2727
Średnia	$\bar{x} = 3,2555$	$\bar{x} = 3,5260$
Masa osadu po odparowaniu roztworu do sucha		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	0,9046	0,9749
2	1,1075	0,9928
3	1,8938	0,9981
Średnia	$\bar{x} = 1,3019$	$\bar{x} = 0,9752$
Procentowa zawartość związków ekstrahowanych w wodzie		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	43,67	43,99
2	43,52	37,42
3	37,82	41,24
Średnia	$\bar{x} = 41,67$	$\bar{x} = 40,88$
Procentową zawartość związków ekstrahowanych wodą obliczono wg wzoru:		
$\frac{100 \cdot (a - b)}{c}$		
gdzie:		
a – masa morskichy przed suszeniem (g)		
b – masa morskichy po suszeniu (g)		
c – pobrana masa wysuszonego morskichy do analizy (5,0 g)		

Tabela 2. Zawartość lipidów w morskzynie.

Masa osadów		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	2,3608	2,9294
2	3,5883	1,8397
3	2,5034	3,0013
Średnia	$\bar{x} = 2,8157$	$\bar{x} = 2,5901$
Procentowa zawartość lipidów w ziołach		
Próbki	Flos (g)	Witherba (g)
1	47,216	58,588
2	71,766	36,794
3	50,068	60,026
Średnia	$\bar{x} = 56,350$	$\bar{x} = 51,803$
Procentową zawartość lipidów obliczono wg wzoru:		
$\frac{100 \cdot (a - b)}{c}$		
gdzie:		
a – masa morskzyny przed suszeniem (g)		
b – masa morskzyny po suszeniu (g)		
c – pobrana masa wysuszonego morskzyny do analizy (5,0 g)		

dla 90% methanolu (mg l^{-1}):

$$\text{Chlorofil a} = (16,5 \times A_{665}) - (8,3 \times A_{650})$$

$$\text{Chlorofil b} = (33,8 \times A_{650}) - (12,5 \times A_{665})$$

$$\text{Chlorofil a + b} = (4,0 \times A_{665}) + (25,5 \times A_{650})$$

dla eteru dietylowego (mg l^{-1}):

$$\text{Chlorofil a} = (9,92 \times A_{650}) - (0,77 \times A_{642.5})$$

$$\text{Chlorofil b} = (17,6 \times A_{642.5}) - (2,18 \times A_{650})$$

$$\text{Chlorofil a + b} = (7,12 \times A_{650}) + (16,8 \times A_{642.5})$$

W tabeli 3 zestawiono zawartość chlorofilu w morskzynie, natomiast w tabeli 4 wzory strukturalne oznaczanych w pracy związków chemicznych.

Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina) została zidentyfikowana w roślinach przez Dubbelsa i

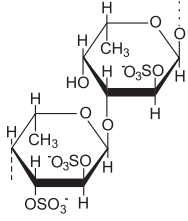
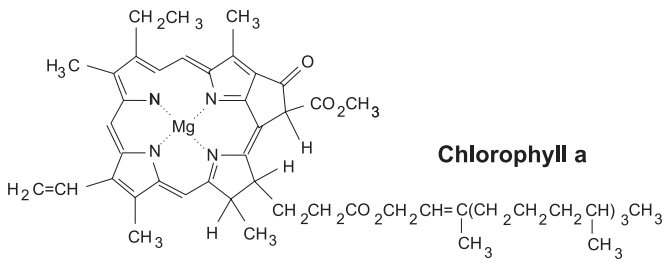
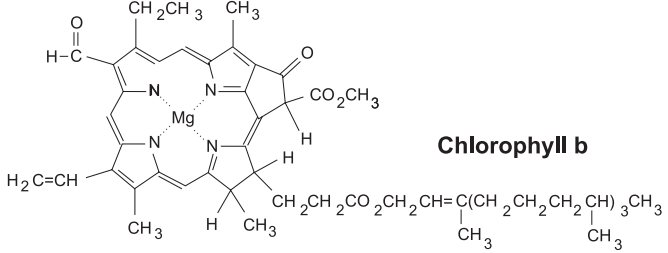
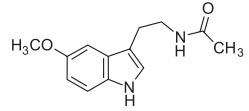
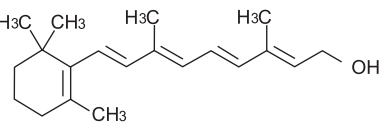
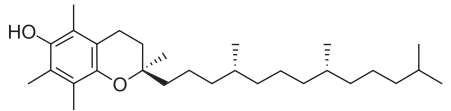
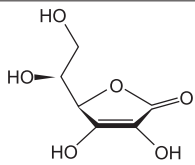
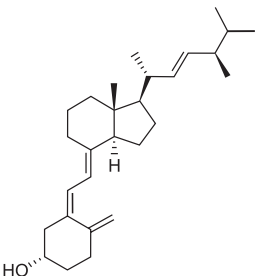
wsp. (5) i Hattori i wsp. (6) w 1995 roku. Od tej pory notuje się ciągły wzrost zainteresowania obecnością niniejszego związku w warzywach, owocach, ziarnach zbóż, roślinach leczniczych, a także w mikro- i makroalgach (7-13). Chociaż biochemiczny i enzymatyczny mechanizm formowania się melatoniny w roślinach nie jest do końca rozpoznany, to bardzo interesujące właściwości związku predestynują go do prowadzenia dynamicznych badań. Sugerowana rola melatoniny w regulacji rytmu biologicznego organizmu ludzkiego jest także jednym z powodów popularności badań klinicznych i farmakologicznych niniejszego związku.

Badano farmakologiczny wpływ melatoniny na zaburzenia psychiczne, zaburzenia snu, bóle głowy,

Tabela 3. Zawartość chlorofilu w morskzynie.

Zawartość chlorofilu w acetonie		
	Flos (mg l^{-1})	Witherba (mg l^{-1})
Chlorofil a	4,35	3,72
Chlorofil b	1,40	0,96
Chlorofil a + b	5,75	4,79
Zawartość chlorofilu w metanolu		
	Flos (mg l^{-1})	Witherba (mg l^{-1})
Chlorofil a	1,38	1,56
Chlorofil b	1,01	0,88
Chlorofil a + b	2,39	2,45
Zawartość chlorofilu w eterze dietylowym		
	Flos (mg l^{-1})	Witherba (mg l^{-1})
Chlorofil a	4,59	4,30
Chlorofil b	4,01	3,77
Chlorofil a + b	5,16	4,81

Tabela 4. Wzory strukturalne oznaczanych w pracy związków chemicznych.

Nazwa związku chemicznego	Wzór strukturalny
Fukoidyna (37)	
Chlorofil a i b	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Chlorophyll a</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Chlorophyll b</p> </div> </div>
Melatonina	
Witamina A – retinol	
Witamina E	
Witamina C	
Witamina D ₂	

chorobę Alzheimera, proces starzenia się organizmu czy hipercholesterolemię (14-17). Powszechnie uważa się, że właściwości melatoniny jako zmiatacza wolnych rodników są czynnikiem ochraniającym rośliny przed stresem oksydacyjnym, zapobiegając w ten sposób uszkodzeniom makrocząsteczek ścian komórkowych roślin (18). Wiadomo, że algi są glonami o właściwościach fotoprotekcyjnych w stosunku do zwiększonej ekspozycji na promieniowanie UV. Uważa się, że obecność melatoniny w algach odpowiada za powyższe właściwości (18-19). Prowadzono także badania dotyczące właściwości terapeutycznych melatoniny podczas leczenia nowotworów (20-22).

Identyfikacja i ocena ilościowa zawartości melatoniny w naturalnym materiale roślinnym napotyka na szereg problemów analitycznych, wynikających z kompleksowej budowy chemicznej tkanek zawierających znaczne ilości węglowodanów, lipidów, barwników, związków fenolowych, co wpływa na zafałszowanie wyników badań (23). Podobnie, proces suszenia roślin jest powodem obniżonej (od 15% do 30%) zawartości melatoniny w próbkach (24).

W analityce melatoniny znajdują zastosowanie następujące metody analityczne: chromatografia cienkowarstwowa (TLC) (25), chromatografia gazowa i spektroskopia masowa (GC-MS) (26), elektroforeza kapilarna (CE) (27), wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) (28-31), metody chemiluminescencji (32), metody spektrofotometryczne (33).

Celem niniejszych badań była próba identyfikacji melatoniny w naturalnych próbkach suszonych alg i żywności. Chodziło o znalezienie łatwej, taniej i szybkiej metody identyfikacji melatoniny. Analiza chromatograficzna potwierdziła obecność melatoniny w następujących próbkach: morskocyn firmy Witherba, morskocyn firmy Flos, zielona herbata, orzechy włoskie, domowa wiśniówka, pomidory mini, skórka z winogron, zielony ogórek, czerwone wino. Na podstawie porównania z wzorcowym roztworem melatoniny oraz wartości współczynnika retencji $R_f = 0,16$ dokonano identyfikacji melatoniny w naturalnych próbkach wybranych produktów.

Wiadomo, że algi są znanym źródłem witamin. W algach poszukuje się witamin z grupy A, B (B_1 , B_2 , B_5 , B_6 , B_{12}) E, C i D.

W tabeli 5 zestawiono wyniki analizy chromatograficznej witamin w morskocynie (3). W celu wyselekcjonowania optymalnej fazy ruchomej przeanalizowano następujące układy elucyjne: oznaczenie witaminy A, E, K i D: chloroform – benzen (1:1), n-heksan – eter dietylowy (1:4; 1:3; 1:1); oznaczenie witamin A, E, D i C: alkohol izopropylowy – n-heksan (2:8), oznaczenie witaminy C i B_1 : lodowaty kwas octowy – aceton – metanol – benzen (5:5:20:70). Identyfikację przeprowadzono na płytkach z żelazem krzemionkowym w parach jodu oraz pod lampą UV. Najkorzystniejszy rozdział otrzymano dla prób zestawionych w tabeli 5.

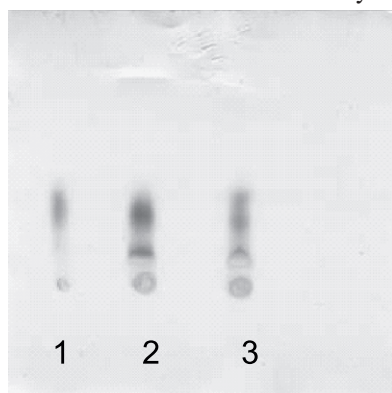
Tabela 5. Analiza chromatograficzna witamin w morskocynie.

Faza ruchoma: chloroform – benzen (1:1)			
	witaminy	R_f morskocyn firmy Flos	R_f morskocyn firmy Witherba
R_f wzorca wit. E (czysta witamina)	0,25	0,25	0,25
R_f wzorca wit. D (n-heksan)	0,32	0,32	0,32
Faza ruchoma: n-heksan – eter dietylowy (1:3)			
	witaminy	R_f morskocyn firmy Flos	R_f morskocyn firmy Witherba
R_f wzorca wit. A (n-heksan)	0,14; 0,63; 1	0,14; 0,63; 1	0,14; 0,63; 1
R_f wzorca wit. E (n-heksan)	0,77; 1	0,77; 1	0,77; 1
Faza ruchoma: izopropanol – n-heksan (2:8)			
	witaminy	R_f morskocyn firmy Flos	R_f morskocyn firmy Witherba
R_f wzorca wit. A (metanol)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)
R_f wzorca wit. E (metanol)	0,86	0,86	0,86
R_f wzorca wit. C (metanol)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)
R_f wzorca wit. D ₂ (metanol)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)	0 (na linii startu)

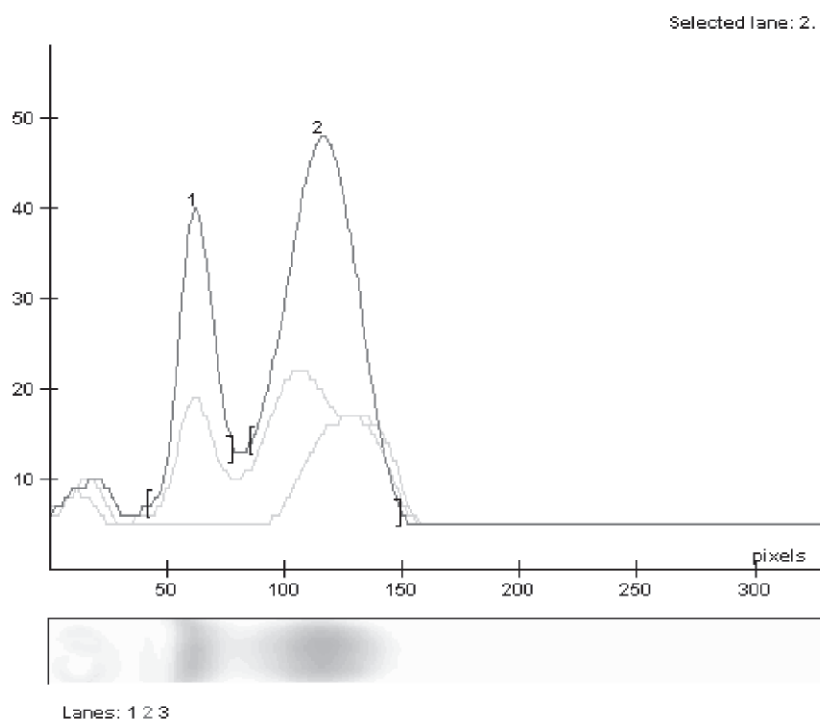
Polisacharydy, obok białek, lipidów, wody i substancji mineralnych należą do głównych związków chemicznych budujących makroalgi. Jednym z interesujących biologicznie i terapeutycznie, obecnie intensywnie badanych na świecie związków chemicznych, jest fukoidyna, zawierająca sulfonowany polisacharyd fukozę (34, 35). Stwierdzono różnorodną aktywność biologiczną i terapeutyczną fukoidyny, m.in. działanie przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwwirusowe, antykoagulacyjne i przeciwutleniające. Jest zaliczana do tzw. zmiataczy wolnych rodników oraz redukuje krzepliwość i poziom cholesterolu we krwi (34-36). Jedynym dostępnym w Polsce źródłem fukoidyny są komercyjne produkty algowe (np. morskoczyn *Fucus vesiculosus* L.). W niniejszej pracy na rycinie 1 pokazano przykład identyfikacji fukoidyny za pomocą elektroforezy na membranach z octanu celulozy.

Na podstawie danych zamieszczonych na rycinie 1 można stwierdzić, że dokonano wydzielenia i identyfikacji fukoidyny w trakcie ekstrakcji 0,1 M kwasem solnym. Na linii startu zaobserwowano także pasmo wskazujące na obecność alginianów lub kwasu alginowego w analizowanych próbach 2 i 3. W tabeli 6 i na towarzyszącym jej rysunku (ryc. 1) przedstawiono przykładową interpretację elektroforegramu na podstawie obliczeń przy pomocy programu Gelscan.

W tabeli 6 zamieszczono następujące parametry: położenie pasm w pikselach (wartości podawane na osi X odpowiadają wartościom położenia pasma liczonemu od początku ścieżki), położenie pasm w procentach R_f (wartości podawane na osi X odpowiadają wartościom położenia pasma w procentach długości ścieżki), masę cząsteczkową MW (wartości podawane na osi X odpowiadają wartościom względnej masy



- 1 – wzorzec fukoidyny
- 2 – fukoidyna morskoczynu firmy Witherba
- 3 – fukoidyna morskoczynu firmy Flos

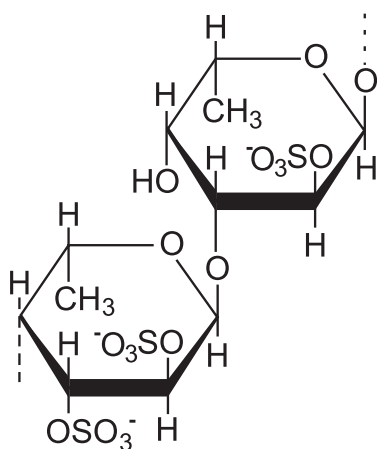


Ryc. 1. Elektroforegramy fukoidyny: 1 – wzorzec fukoidyny; 2 – fukoidyna morskoczynu firmy Witherba; 3 – fukoidyna morskoczynu firmy Flos.

Tabela 6. Interpretacja elektroforegramu na podstawie programu Gelscan.

Elektroforegram	Dystans (pix)	R _f (%)	Względna masa cząsteczkowa MW (kDa)	Powierzchnia (pix)	Powierzchnia (%)
Ścieżka 1					
Prążek 1	127	39	322	743	35,2
Ścieżka 2					
Prążek 1	63	19	157	942	23,4
Prążek 2	116	36	297	1888	46,9
Ścieżka 3					
Prążek 1	63	19	157	426	14,9
Prążek 2	107	33	272	642	22,5
Prążek 3	130	40	330	460	16,2

cząsteczkowej w danym punkcie, na podstawie wyników mas z wcześniej przeprowadzonej kalibracji) oraz powierzchnię pod pasmami poszczególnych prążków identyfikowanych na krzywej. Obecność dwóch pasm fukoidyny dla morskoczynu firmy Witherba, zaś trzech pasm dla morskoczynu firmy Flos świadczy pośrednio o różnej budowie strukturalnej fukoidyny pozyskiwanej z morskoczynu *Fucus vesiculosus* L.

**Ryc. 2.** Wzór strukturalny fukoidyny (37).

Wnioski

Informacje o zawartości związków ekstrahowanych wodą, zawartości lipidów oraz zawartości chlorofilu w morskoczynie *Fucus vesiculosus* L. należą do standardowych parametrów w porównawczej analizie jakościowej materiału roślinnego przygotowywanego do produkcji ekstraktów i analiz fitochemicznych. W wyniku przeprowadzonej analizy stwierdzono, że zarówno całkowita zawartość lipidów, zawartość związków ekstrahowanych wodą, jak i zawartość chlorofilu, jest większa dla morskoczynu *Fucus vesiculosus* L. firmy Flos niż morskoczynu firmy Witherba (tabela 1-3).

Celem badań identyfikacyjnych witamin i melatoniny metodą chromatografii cienkowarstwowej oraz identyfikacji fukoidyny metodą elektroforezy na membranach z octanu celulozy było opracowanie prostych, powtarzalnych procedur analitycznych z zastosowaniem stosunkowo taniej aparatury. W analizie dobrano warunki optymalne dla rozdziału chromatograficznego: fazę ruchomą – alkohol izopropylowy i n-heksan (2:8), rozpuszczalnik – metanol; sposób wywołania – pary sublimującego jodu (tab. 5).

Dokonano także wydzielenia i identyfikacji fukoidyny w wyniku ekstrakcji plech morskoczynu pęcherzykowego w 0,1 M kwasie solnym (ryc. 1). W tabeli 6 i na towarzyszącej jej rycinie przedstawiono przykładową interpretację elektroforegramu. Można stwierdzić, że fukoidyna identyfikowana w morskoczynie *Fucus vesiculosus* L. firmy Flos charakteryzuje się prawdopodobnie inną budową strukturalną niż fukoidyna z morskoczynu firmy Witherba (ryc. 1, ryc. i tab. 6).

Piśmiennictwo

1. Jensen A. Present and future needs for algae and algal products. *Hydrobiologia* 1993; 260/261:15-23. 2. Obluchinskaya ED. Comparative chemical composition of the Barents Sea brown algae. *Applied Biochem Microbiol* 2008; 44, 3:305-9. 3. Wiczyrek J. Analityczna ocena składu chemicznego morskoczynu *Fucus vesiculosus*. Praca inż. ATH 2010. 4. Becker EW. Microalgae, biotechnology and microbiology. New York, Cambridge University Press 1994; 58-9. 5. Dubbels R, Reiter RJ, Klenke E i wsp. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Pineal Res* 1995; 18:28-31. 6. Hattori A, Migitaka H, Iigo M i wsp. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochem Molec Biol Internat* 1995; 35:627-34. 7. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC i wsp. Melatonin in edible plants (phytomelatonin): identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Rev Nutr Diet* 2007; 97:211-30. 8. Balzer I, Hardeland R. Melatonin in algae and higher plants: possible new roles as a phytohormone and antioxidant. *Bot Acta* 1996; 109:180-3. 9. Fuhrberg B, Hardeland R, Poeggeler B i wsp. Dramatic rises of melatonin and 5-methoxytryptamine in Go-

- nyaulax exposed to decreased temperature. *Biological Rhythm Research* 1997; 28:144-50. **10.** Balzer I, Bartolomaeus B, Höcker B. Circadian rhythm of melatonin content in chlorophyceae. *Proceedings of the Conference: News from the plant chronobiology research.* Markgrafenhede 1998; 55-6. **11.** Lorenz M, Lüning K. Detection of endogenous melatonin in the marine red macroalgae *Porphyra umbilicalis* and *Palmaria palmata* by enzyme-linked immunoassay (ELISA) and effects of melatonin administration on algal growth. *Proceedings of the Conference News from the plant chronobiology research.* Markgrafenhede 1998; 42-3. **12.** Hardeland R. Melatonin and 5-methoxytryptamine in non-metazoans. *Reproduction Nutr Develop* 1999; 39:399-408. **13.** Pape C, Lüning K. Quantification of melatonin in phototrophic organisms. *J Pineal Res* 2006; 41:157-65. **14.** de Vries MW, Peeters FP. Melatonin as a therapeutic agent in the treatment of sleep disturbance in depression. *J Nerv Ment Dis* 1997; 185:201-2. **15.** Maurizi CP. The mystery of Alzheimer's disease and its prevention by melatonin. *Med Hypotheses* 1995; 45:339-40. **16.** Sandyk R. Melatonin supplements for aging. *Int J Neurosci* 1996; 87:219-24. **17.** Chart TY, Tang PL. Effect of melatonin on the maintenance of cholesterol homeostasis in the rat. *Endocrin Res* 1995; 21:681-96. **18.** Tan DX, Manchester LC, Di Mascio P i wsp. Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: importance for phytoremediation. *FASEB J* 2007; 21:1724-9. **19.** Hardeland R. New actions of melatonin and their relevance to biometeorology. *Inter J Biometeorol* 1997; 41:47-57. **20.** Maestroni G. Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology* 1996; 53:4346. **21.** Lissoni P, Barni S, Brivio F i wsp. A biological study on the efficacy of low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin in the treatment of cancer-related thrombocytopenia. *Oncology* 1995; 52:360-2. **22.** Aldeghi R, Lissoni P, Barni S i wsp. Low-dose interleukin-2 subcutaneous immunotherapy in association with the pineal hormone melatonin as a first-line therapy in locally advanced or metastatic hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 1994; 30:167-70. **23.** Van Tassel DL, Roberts N, Lewy A i wsp. Melatonin in plant organs. *J Pineal Res* 2001; 31: 8-15. **24.** Murch SJ, Simmons CB, Saxena PK. Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *Lancet* 1997; 350:1598-9. **25.** Costantini A, Paoli F. Melatonin: Quantitative analysis in pharmaceutical oral dosage forms using thinlayer chromatography (TLC) densitometry. *Farmaco* 1998; 53:443-7. **26.** Skene DJ, Leone RM, Young IM i wsp. The assessment of a plasma melatonin assay using gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrosc* 1983; 10:655-9. **27.** Kim YO, Chung HJ, Chung ST i wsp. Determination of melatonin in biological samples by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1999; 850:369-74. **28.** Chen G, Huo Y, Tan DX i wsp. Melatonin in Chinese medicinal herbs. *Life Sci* 2003; 73:19-26. **29.** Eriksson K, Östin A, Levin JO. Quantification of melatonin in human saliva by liquid chromatography tandem mass spectrometry using stable isotope dilution. *J Chromatogr B* 2003; 794:115-23. **30.** Barbosa R, Scialfa J, Terra I i wsp. Tryptophan hydroxylase is modulated by L-type calcium channels in the rat pineal gland. *Life Sci* 2008; 82: 29-35. **31.** Fuhrberg B, Balzer I, Hardeland R i wsp. The vertebrate pineal hormone melatonin is produced by the brown algae *Pterygophora californica* and mimics dark effects on growth rate in the light. *Planta* 1996; 200:125-31. **32.** Lu J, Lau C, Lee MK i wsp. Simple and convenient chemiluminescence method for the determination of melatonin. *Anal Chim Acta* 2002; 455:193-8. **33.** Iriti M, Rossoni M, Faoro F. Melatonin content in grape: myth or panacea? *J Scien Food Agricult* 2006; 86:1432-8. **34.** Li B, Fei L, Xinjun W i wsp. Fucooidan: structure and bioactivity. *Molecules* 2008; 13:1671-95. **35.** Maruyama H, Tamauchi H, Hashimoto M i wsp. Anti-tumor activity and immune response of fucooidan. *In Vivo* 2003; 17(3):245-9. **36.** Thorlacius H, Vollmar B, Seyfert UT i wsp. The polysaccharide fucooidan inhibits microvascular thrombus formation independently from P- and I-selectin function *in vivo*. *Eur J Clin Invest* 2000; 30:804-10. **37.** Berteau O, Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 2003; 13 (6): 29R-40R.

otrzymano/received: 06.04.2010
zaakceptowano/accepted: 29.11.2010

Adres/address:

*Anna Pielesz

Instytut Inżynierii Tekstyliów i Materiałów Polimerowych
Wydział Nauk o Materiałach i Środowisku
Akademia Techniczno-Humanistyczna
ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała
tel.: (33) 827-91-50
e-mail: apielesz@ath.bielsko.pl