

BioProspecting Jadranskog mora: Pregled dosadašnjih istraživanja isparljivih organskih spojeva

<https://doi.org/10.15255/KUI.2020.030>

KUI-35/2020

Pregledni rad

Prispjelo 28. travnja 2020.

Prihvaćeno 6. srpnja 2020.

M. Kranjac,^{a*} M. Zekić,^a A. Radonić,^a
Z. Marijanović,^a S. Jokić^b i I. Jerković^a

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



^aSveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Ruđera Boškovića 35, 21 000 Split, Hrvatska

^bSveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek, Hrvatska

Sažetak

Istraživanja predstavljena u ovom preglednom radu doprinose poznavanju isparljivih organskih spojeva iz morskih organizama, posebno iz makroalgi Jadranskog mora. Za izolaciju isparljivih spojeva iz svježih i/ili na zraku osušenih uzoraka primijenjene su komplementarne metode: mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) i/ili hidrodestilacija (HD). Dobiveni izolati analizirani su vezanim sustavom plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS). U vršnim parama i isparljivim uljima makroalgi *Halopteris filicina*, *Flabellia petiolata*, *Dictyota dichotoma*, *Taonia atomaria*, *Padina pavonica*, *Codium bursa* i morskoj cvjetnici *Posidonia oceanica* pronađeno je mnoštvo različitih spojeva, uglavnom seskviterpena, diterpena i alifatskih spojeva. Alifatski spojevi male molekulske mase, poput dimetil-sulfida (DMS), tribrommetana, 1-jodpentana, 3-metilbut-2-enala, heksanala i pent-1-en-3-ona, nađeni su u kemijskim profilima vršnih para. Također su identificirani i alifatski C₈- i C₁₁-spojevi (npr. oktan-1-ol, oktanal, okt-1-en-3-ol, 6-metilhept-5-en-2-on, fukoseraten i diktiptereni). Zajedno s višim acikličkim ugljikovodicima, također pronađenim u vršnim parama (npr. heptadekan), u ispitivanim isparljivim uljima identificirani su i viši alifatski alkoholi (npr. (Z)-oktadec-9-en-1-ol, heksadekan-1-ol, (Z,Z)-oktadeka-3,13-dien-1-ol) i esteri (npr. diizooktil-ftalat, dibutil-ftalat). Fenilpropanski derivati (npr. benzaldehid, benzil-alkohol) i C₁₃-norizoprenoidi (npr. α-jonon i β-jonon) također su pronađeni u isparljivim profilima, kao i mnoštvo seskviterpena (npr. germakren D, biciklogermakren, δ-kadinen, epizonaren, epibicikloeskivifelandren, β-kubeben, gleenol, (E)-β-farnezen). Isparljivi organski spojevi identificirani u morskim algama mogu poslužiti u kemotaksonomskim istraživanjima.

Ključne riječi

Morske makroalge, mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME), hidrodestilacija (HD), isparljiva ulja, plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS), isparljivi organski spojevi

Uvod

Bogatstvo i raznolikost morskih sustava odavno su poznati, ali istraživanje morskih sustava u Republici Hrvatskoj bilo je vrlo ograničeno. Projekt BioProspecting Jadranskog mora (KK.01.1.1.01) predstavlja prvi strukturiran (nacionalni) i organiziran pokušaj pristupa resursima hrvatskog morskog sustava.¹ Iako ne postoji jednoznačna definicija bioprospekcije, ona se može definirati kao sakupljanje biološkog materijala i analiza njegovih materijalnih svojstava ili njegova molekularnog, biokemijskog ili genetičkog sadržaja u svrhu razvoja komercijalnih proizvoda.² U okviru projekta započela su sustavna istraživanja kemijskih spojeva, gena, mikroorganizama i drugih vrijednih prirodnih resursa iz morskog okoliša. Primjenom bioloških znanja i najsuvremenijih tehnika omogućena su interdisciplinarna istraživanja s ciljem razvoja novih izvora biotehnoških proizvoda i njihove primjene (novi enzimi, proteini i peptidi, sekundarni metaboliti, polisaharidi, masne kiseline i lipidi). Projekt je organiziran i financiran kroz Znanstveni centar izvrsnosti za bioprospecting mora – BioProCro (<http://bioprocro.zci.hr/>).

Ovaj rad daje pregled dosadašnjih istraživanja isparljivih spojeva morskih organizmima provedenih u okviru projekta BioProspecting Jadranskog mora a obuhvaća i pregled sličnih istraživanja drugih autora. Znanstveno-istraživačka aktivnost usmjerena je na istraživanje kemijske raznolikosti morskih organizama Jadranskog mora. Dosadašnja istraživanja većinom se odnose na kemijsko profiliranje isparljivih spojeva izoliranih iz makroalgi koje predstavljaju bogat izvor biološki aktivnih sekundarnih metabolita.³ U morskom ekosustavu isparljivi organski spojevi algi imaju važnu ulogu u kemijskoj komunikaciji. Tako mogu djelovati kao feromoni, inhibitori bakterija, kvasaca i plijesni, atraktanti, imati ulogu obrane od predatora te alelopatsku ulogu.⁴ Provedena istraživanja doprinose znanju o isparljivim spojevima neistraženih ili slabo istraženih vrsta algi *Halopteris filicina* (Grateloup) Kützing, *Dictyota dichotoma* (Hudson) J. V. Lamouroux, *Flabellia petiolata* (Turra) Nizamuddin, *Codium bursa* (Olivi) C. Agardh, *Taonia atomaria* (Woodward) J. Agardh, 1848, *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy, 1960 te morske cvjetnice *Posidonia oceanica* (L.) Delile. U svrhu dobivanja potpunijeg kemijskog profila isparljivih spojeva, na svježim i/ili suhim uzorcima primijenjene su dvije komplementarne metode izolacije: mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) i/ili hidrodestilacija (HD). Za HS-SPME su upotrijebljena vlakna različite polarosti

* Autor za dopisivanje: dr. sc. Marina Kranjac, poslijedoktorandica
e-pošta: mkranjac@ktf-split.hr

polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) i/ili divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS). Dobiveni izolati isparljivih spojeva, vršne pare i isparljivo ulje (destilat) analizirani su vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).

Istraživanje kemijske raznolikosti

Morske makroalge sadrže velik broj strukturno raznolikih spojeva koji pokazuju antiviralna, antibakterijska, antifungalna, citotoksična, insekticidna, antihelmintska, antioksidacijska, protuizjedajuća ("antifeedant"), protuupalna te antitumorska svojstva.⁵ U makroalgama je identificirano gotovo 3000 spojeva, što predstavlja približno 20 % kemijskih spojeva podrijetlom iz morskog sustava.⁶ U smislu zastupljenosti i raznolikosti sekundarnih metabolita, crvene alge (Rhodophyta) s više od 1500 identificiranih spojeva bogatije su od smeđih (Phaeophyta) i zelenih (Chlorophyta) makroalgi.⁶ Crvene alge su glavni proizvođači halogeniranih spojeva s više od 90 % identificiranih spojeva s bromom ili klorom, u usporedbi sa samo 7 % takvih spojeva identificiranih u zelenim algama te manje od 1 % u smeđim algama.⁶ Halogenirani spojevi izolirani iz algi obuhvaćaju različite klase spojeva, kao što su peptidi, poliketidi, indoli, terpeni, acetogenini i fenoli te isparljivi halogenirani ugljikovodici.⁷ Poznato je da više od polovine identificiranih sekundarnih metabolita makroalgi čine terpeni,⁶ koji predstavljaju u glavnu grupu spojeva pronađenih u isparljivim uljima makroalgi.⁸ Za razliku od isparljivih organskih spojeva izoliranih iz biljaka, koji privlače pažnju od davnina, isparljivi spojevi morskih algi manje su poznati i istraženi. Do 1966. godine samo je jedan isparljivi spoj iz makroalgi identificiran i opisan u literaturi. Riječ je o dime-til-sulfidu (DMS). S vremenom, broj identificiranih isparljivih spojeva morskih algi raste,^{9,10} a provedena istraživanja opisana su u znanstvenim i preglednim radovima.^{5,7,10-16} Isparljivi spojevi morskih algi uključuju terpene, cikličke i acikličke C₁₁-spojeve, masne kiseline, organske spojeve sa sumporom, halogenirane ugljikovodike i ostale spojeve s bromom, klorom i jodom te druge spojeve,^{10,17} a njihov sastav ovisi o istraživanoj vrsti, geografskom podrijetlu, metodi izolacije i okolišnim čimbenicima.¹⁸ Isparljivi spojevi morskih makroalgi imaju ulogu feromona, služe kao kemijska obrana od predatora te kao inhibitori bakterija i gljivica.¹⁸ Primjerice, poznato je da diktipteren C' ima ulogu feromona.¹¹ U literaturi se navode različite metode za izolaciju isparljivih spojeva iz morskih algi kao što su hidrodestilacija (engl. *hydrodistillation*, HD), usmjerena hidrodestilacija potpomognuta mikrovalovima (engl. *focused microwave-assisted hydrodistillation*, FMA-HD), simultana destilacija-ekstrakcija (engl. *simultaneous distillation-extraction*, SDE), vakuum-SDE (engl. *vacuum-SDE*, V-SDE), superkritična ekstrakcija fluidima (engl. *supercritical fluid extraction*, SFE), statičke i dinamičke tehnike izolacije vršnih para (engl. *static and dynamic headspace extraction techniques*, SHE and DHE techniques) te mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (engl. *headspace solid-phase microextraction*, HS-SPME).^{3,12}

Pregledom literature pronađeno je nekoliko preglednih radova koji se odnose na istraživanja isparljivih spojeva morskih algi^{5,7,13-16} uključujući i vrste makroalgi koje se mogu pronaći u Sredozemnom moru. Istraživanja isparljivih organskih spojeva algi Sredozemnog mora obuhvaćaju znatan broj radova. *Boland i Müller* (1987.) objavili su prva istraživanja mirisnih spojeva makroalge iz Sredozemnog mora.^{19,20} GC-MS analizom isparljivih spojeva alge *Dictyopteris membranacea* prvi put su identificirani undekan-3-on, diktioprolen, 4-((E)-heks-1-enil)ciklopenten i 6-((E)-but-1-enil)ciklohepta-2,5-dien.²⁰ Provedena su i novija istraživanja isparljivih metabolita te vrste alge Sredozemnog mora.^{21,22} Istražene su različite vrste algi Sredozemnog mora iz kojih su izolirani i identificirani mnogi isparljivi i poluisparljivi organski spojevi: C₁₁-ugljikovodici, seskviterpeni, spojevi sa sumporom, 6-butilciklohepta-1,4-dien (*Dictyopteris membranacea*);^{21,22} masne kiseline i derivati, seskviterpeni, ugljikovodici i derivati (*Cystoseira sedoides*);²³ ugljikovodici, halogenirani spojevi, masne kiseline (*Corallina elongata*);²⁴ kubenol, heksan-1-ol, oktan-1-ol (*Cystoseira stricta* var. *amentacea*);²⁵ n-dokosan, n-eikosan i n-tetratriakontan (*Jania rubens*);²⁶ halometani i esteri halogeniranih karboksilnih kiselina (*Asparagopsis armata*);²⁷ derivat azulena (*Dictyota dichotoma*);²⁸ n-tetratriakontan, 1-heptadekanamin i dokosan (*Enteromorpha linza*);²⁹ halogenirani metaboliti (*Ulva rigida*).³⁰ O organizmima iz Jadranskog mora objavljen je mali broj istraživanja isparljivih spojeva morskih algi i cvjetnica. Pregledom dostupne literature pronađena su samo tri rada drugih autora o isparljivim spojevima makroalgi iz Jadranskog mora.³¹⁻³³ *Kamenarska i sur.* su za izolaciju isparljivih spojeva alge *Padina pavonia* iz Jadranskog mora primijenili simultanu destilaciju-ekstrakciju (SDE) toluenskog ekstrakta. GC-MS analizom isparljive frakcije identificirani su aromatski esteri, benzil-alkohol, benzaldehid i slobodne masne kiseline te u nižim koncentracijama terpeni, fenoli i spojevi sa sumporom.³² SDE je primijenjena i za izolaciju isparljivog ulja alge *P. pavonica* iz Crvenog mora. Glavni spoj identificiran u isparljivom ulju te alge je di-2-etilheksil-ftalat.³⁴ Iako za istraživane vrste *P. pavonica*, *D. dichotoma*, *T. atomaria*, *P. oceanica* postoji nekoliko objavljenih radova vezanih za isparljive i poluisparljive spojeve, ipak nema dostupnih podataka o kemijskom sastavu njihovih vršnih para. Tako su u krutom ekstraktu alge *D. dichotoma* identificirani terpeni kao što su bicikloheksilfelandren, germakren D, diktioksid, pačidiktiol A, izopačidiktiol A, aksenol, acetildiktiolal, diktiol B-acetat, izopačidiktiolal, 10-acetoksi-18-hidroksidolabela-2,7-dien, diktiol E, fukosterol, acetoksikrenulid, hidroksiacetildiktiolal, izodiktiohemiacetal, diktiol A, diktiol B, diktiol C i hidroksikrenulid.³⁵ U petroleterском ekstraktu alge *T. atomaria* iz Jadranskog mora identificirani su seskviterpeni 4-kadinen, kadinan-4(14),5-dien, (-)-germakren D, aksenol, (-)-kubebol i 4-epi-kubebol.³¹ U ekstraktu morske cvjetnice *P. oceanica* s kloroformom identificiran je novi metilirani seskviterpen (E)-3,7,12-trimetiltridec-2-en-1-ol (posidozinol) zajedno s β-sitosterolom i četiri masne kiseline.³⁶ Za vrste *Halopteris filicina*, *Flabellia petiolata* i *Codium bursa* nema raspoloživih podataka o sastavu isparljivih spojeva.

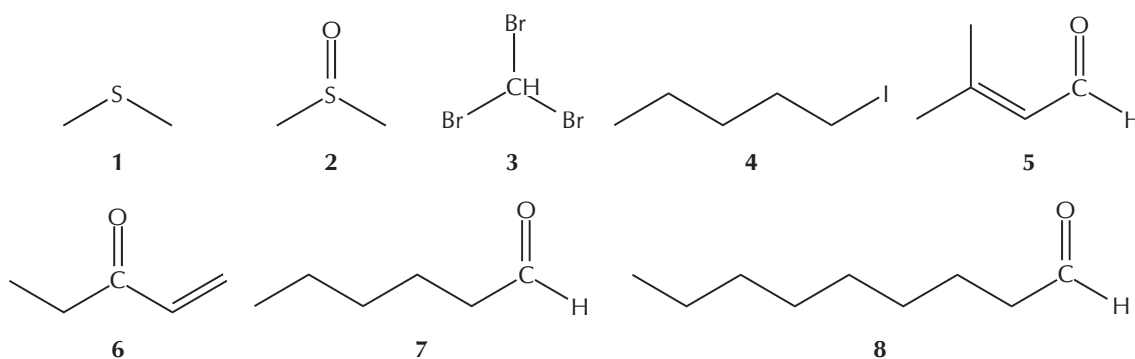
Isparljivi spojevi istraživanih vrsta morskih organizama

HS-SPME je uspješno primijenjen po prvi put za izolaciju isparljivih spojeva svježih uzoraka dviju smeđih algi *Halopteris filicina* (Grateloup) Kützing i *Dictyota dichotoma* (Hudson) J. V. Lamouroux, zelene alge *Flabellia petiolata* (Turra) Nizamuddin te endemične morske cvjetnice *Posidonia oceanica* (L.) Delile. Primijećene su značajne razlike u kemijskom sastavu vršnih para. Dimetil-sulfid (DMS) glavni je spoj identificiran u vrstama *P. oceanica* (59,3 %), *F. petiolata* (22,2 %) te *H. filicina* (12,8 %), što upućuje na to da su ti organizmi izvor sumpornih spojeva u morskom ekosustavu.¹² Nastanak DMS-a rezultat je enzimske razgradnje dimetilsulfoniopropionata (DMSP), metabolita metionina prilično raširenog u morskim vrstama.¹⁰ Visok postotak DMS-a (18,27 % (vlakno PDMS/DVB); 26,37 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)) pronađen je u vršnim parama smeđe alge *P. pavonica*.⁹ DMS je također identificiran kao glavni spoj i u vršnim parama svježih uzoraka zelene alge *Codium bursa* (Olivi) C. Agardh (36,22 % (vlakno DVB/CAR/PDMS); 56,61 % (vlakno PDMS/DVB)). Zastupljenost DMS-a u vršnim parama suhe alge *C. bursa* znatno je manja (3,72 % (vlakno DVB/CAR/PDMS); 3,10 % (vlakno PDMS/DVB)) što je vjerojatno posljedica njegove male molekulske mase i velike isparljivosti. Drugi razgradni produkt DMSP-a, dimetilsulfoksid (1,52 % (vlakno DVB/CAR/PDMS); 2,63 % (vlakno PDMS/DVB)), identificiran je u vršnim parama suhih uzoraka te alge.³⁷ Poznato je da zelene alge, posebno vrste roda *Ulva*, *Enteromorpha* i *Codium* te rod *Polysiphonia* crvenih algi, proizvode velike količine DMS-a za razliku od smeđih algi koje ga proizvode u manjoj količini.^{38,39} Ovi literaturni podatci su u skladu s provedenim istraživanjima.^{9,12,37} DMS služi kao kemijski atraktant za fitoplankton, bakterije, zooplankton, ribe i morske ptice.^{40,41}

Morske makroalge pokazuju veliku sposobnost vezivanja halogenidnih iona, pri čemu nastaju raznoliki halogenirani sekundarni metaboliti.¹⁰ U kemijskom profilu vršnih para *H. filicina* identificirani su halogenirani ugljikovodici tribrommetan (2,1 %) i 1-jodpentan (0,8 %). Tribrommetan (1,8 %) je također identificiran i u *F. petiolata*.¹² Iz literature

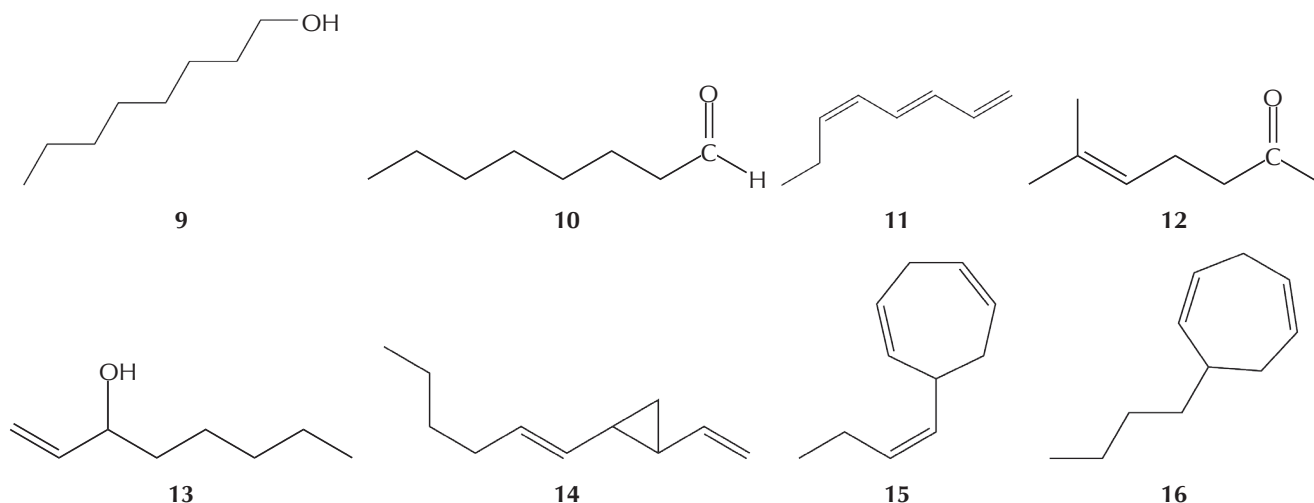
je poznato da su isparljivi halogenirani spojevi uključeni u obrambeni mehanizam (alelopatija) algi. Smatra se da enzimi haloperoksidaze kataliziraju sintezu halogeniranih organskih spojeva uz prisustvo halogenidnih iona (klorida, bromida ili jodida) i vodikova peroksida.⁴²

Najzastupljenija grupa spojeva u kemijskom profilu vršnih para smeđe alge *H. filicina* su alifatski spojevi, posebno C₈-spojevi poput oktan-1-ola (5,1 %), oktanala (4,7 %), oktan-3-ona (4,1 %), (3E)-okta-1,3-diena (2,3 %), (3E,5Z)-okta-1,3,5-triena (9,5 %) te okt-1-en-3-ola (1,2 %). Alifatski C₈-spojevi su pronađeni i u zelenoj algi *F. petiolata*, a među njima se mogu istaknuti (3E,5Z)-okta-1,3,5-trien (fukoseraten; 3,2 %), okt-1-en-3-ol (2,5 %), oktan-2-on (1,6 %) i okt-1-en-3-on (1,1 %). Isparljivi feromon fukoseraten pronađen je i u *D. dichotoma* (1,6 %).¹² Niži alifatski alkoholi okt-1-en-3-ol (1,12 % (vlakno DVB/CAR/PDMS); 9,71 % (vlakno PDMS/DVB)) i oktan-1-ol (0,62 % (vlakno DVB/CAR/PDMS); 0,20 % (vlakno PDMS/DVB)) identificirani su i u vršnim parama zelene alge *C. bursa*.³⁷ Alifatski alkohol oktan-1-ol glavni je spoj vršnih para smeđe alge *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy, 1960 (37,73 (vlakno PDMS/DVB); 38,60 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)), a zajedno s oksidiranim derivatom oktanalom (9,63 %; 7,98 %) prvi put se navodi za tu vrstu alge.⁹ Oksidirani alifatski spojevi kao što su heksan-1-ol, oktan-2,3-dion, 6-metilhept-5-en-2-on, 2-etilhept-5-en-2-on ili (E)-okt-2-enal identificirani su u vršnim parama suhih uzoraka alge *C. bursa*.³⁷ 6-Metilhept-5-en-2-on (9,5 %) najzastupljeniji je keton u algi *F. petiolata*, a identificiran je i u *D. dichotoma* (0,7 %). U vrstama *H. filicina* i *F. petiolata* prisutni su i alifatski spojevi do sedam ugljikovih atoma, posebno ketoni i aldehidi poput 3-metilbutanala (0,9 %; 1,0 %), 3-metilbut-2-enala (1,5 %; 1,6 %), heksanala (4,7 %; 1,5 %) i pent-1-en-3-ona (2,6 %; 2,9 %).¹² Kratkolančani (npr. C₆, C₉) i srednjelančani (npr. C₁₀) aldehidi prisutni u morskim algama nastaju uglavnom iz masnih kiselina (C₂₀), preko hidroperoksida.^{43,44} Gelidium, Pterocladia, Pterocladiaella, Pterocladiastrum, Ptilophora U vršnim parama svježih uzoraka zelene alge *C. bursa* pronađeno je nekoliko alifatskih aldehida male molekulske mase (vlakno DVB/CAR/PDMS; vlakno PDMS/DVB) kao što su nonanal (3,51 %; 2,51 %), oktanal (0,81 %; 0,10 %) i dekanal (1,01 %; 0,42 %).³⁷



Slika 1 – Odabrani alifatski spojevi male molekulske mase identificirani u kemijskim profilima vršnih para: (1) dimetil-sulfid; (2) dimetilsulfoksid; (3) tribrommetan; (4) 1-jodpentan; (5) 3-metilbut-2-enal; (6) pent-1-en-3-on; (7) heksanal; (8) nonanal

Fig. 1 – Selected low molecular aliphatic compounds identified in the headspace chemical profiles: (1) dimethyl sulphide; (2) dimethylsulfoxide; (3) tribromomethane; (4) 1-iodopentane; (5) 3-methylbut-2-enal; (6) pent-1-en-3-on; (7) hexanal; (8) nonanal



Slika 2 – Odabrani C₈- i C₁₁-alifatski spojevi identificirani u kemijskim profilima vršnih para: (9) oktan-1-ol; (10) oktanal; (11) (3E,5Z)-okta-1,3,5-trien; (12) 6-metilhept-5-en-2-on; (13) okt-1-en-3-ol; (14) diktipteren A; (15) diktipteren D'; (16) diktipteren C

Fig. 2 – Selected C₈- i C₁₁-aliphatic compounds identified in the headspace chemical profiles: (9) octan-1-ol; (10) octanal; (11) (3E,5Z)-octa-1,3,5-triene; (12) 6-methylhept-5-en-2-one; (13) oct-1-en-3-ol; (14) dictyopteren A; (15) dictyopteren D'; (16) dictyopteren C

Dva C₁₁-ugljikovodika diktipteren D' i diktipteren C, karakteristična za morske alge, identificirani su u *H. filicina* (1,9 %; 0,7 %) i *F. petiolata* (7,4 %; 0,7 %).¹² U vršnim parama alge *P. pavonica* u niskom su postotku pronađeni diktipteren A (1,27 % (vlakno PDMS/DVB); 0,87 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)) i diktipteren D' (1,15 % (vlakno PDMS/DVB); – (vlakno DVB/CAR/PDMS)), koji imaju ulogu seksualnih feromona.^{6,9} Većina kemijskih signala (specifični isparljivi feromoni) u makroalga su nezasićeni aciklički i/ili aliciklički C₁₁-ugljikovodici različitih veličina prstena i stupnjeva nezasićenosti, a aktivni su u pikomolarnim koncentracijama.^{45,46} C₈-Ugljikovodik (3E,5Z)-okta-1,3,5-trien (fukoseraten) također služi za intraspecifičnu kemijsku komunikaciju.^{45,47} Pretpostavlja se da biosinteza C₁₁- i C₈-ugljikovodika započinje iz istog ishodnog spoja, primjerice eikosapentaenske kiseline. Višestruko nezasićena masna kiselina aktivira se 9- ili 12-lipoksigenazom, što rezultira odgovarajućim 9- ili 12-hidroperoksidima koji se dalje oksidativno cijepaju dajući karakteristične C₁₁- i C₈-ugljikovodike (npr. fukoseraten).^{12,48} Druga grupa zastupljenijih alifatskih spojeva identificiranih u vršnim parama vrsta *H. filicina*, *F. petiolata* i *P. oceanica* su viši aciklički ugljikovodici kao što su heptadekan (4,0 %; 9,1 %; 7,2 %) i pentadekan (2,6 %; 1,4 %; 14,5 %).¹² Heptadekan (vlakno DVB/CAR/PDMS; vlakno PDMS/DVB) po zastupljenosti je drugi spoj vršnih para svježih uzoraka alge *C. bursa* (4,82 %; 32,51 %), dok je kod suhih uzoraka postotak heptadekana u vršnim parama povećan (41,50 %; 52,62 %). U vršnim parama suhih uzoraka *C. bursa* u manjem su postotku pronađeni i drugi zasićeni ugljikovodici poput pentadekana, heksadekana, oktadekana, nonadekana te dva alkena (*E*)-heptadec-8-en i nonadec-1-en. Viši zasićeni ugljikovodici heptadekan (23,44 %) i dokosan (13,90 %) glavni su spojevi pronađeni u destilatu svježih alge *C. bursa*.³⁷ U vrstama *H. filicina* i *F. petiolata* pronađen je pentadec-1-en (3,3 %; 3,2), dok je nonadecan (6,3 %) u većem postotku pronađen samo u vrsti *P. oceanica*.¹²

Glavni spojevi identificirani u isparljivom ulju smeđe alge *P. pavonica* su viši alifatski alkoholi: (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol (25,68 %), heksadekan-1-ol (17,29 %) i (*Z,Z*)-oktadeca-3,13-dien-1-ol (7,55 %) te u manjim postotcima (*Z*)-heksadec-11-en-1-ol (1,15 %), (*E*)-heksadec-11-en-1-ol (2,58 %), (*Z,Z*)-oktadeca-9,12-dien-1-ol (3,60 %) i drugi. Također, u isparljivom ulju te alge identificirani su i viši alifatski esteri metil-eikosa-5,8,11,14-tetraenoat (0,6 %), metil-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenoat (3,98 %) i metil-eikosa-8,11,14,17-tetraenoat (1,84 %).⁹ U destilatu svježih alge *C. bursa* identificirani su diizooktil-ftalat (13,30 %) i dibutil-ftalat (9,80 %). Diizooktil-ftalat nije pronađen u kemijskom profilu destilata suhe alge, dok je postotak dibutil-ftalata (1,03 %) znatno manji.³⁷ Dialkil-ftalati mogu prirodno potjecati iz morskih algi.⁴⁹

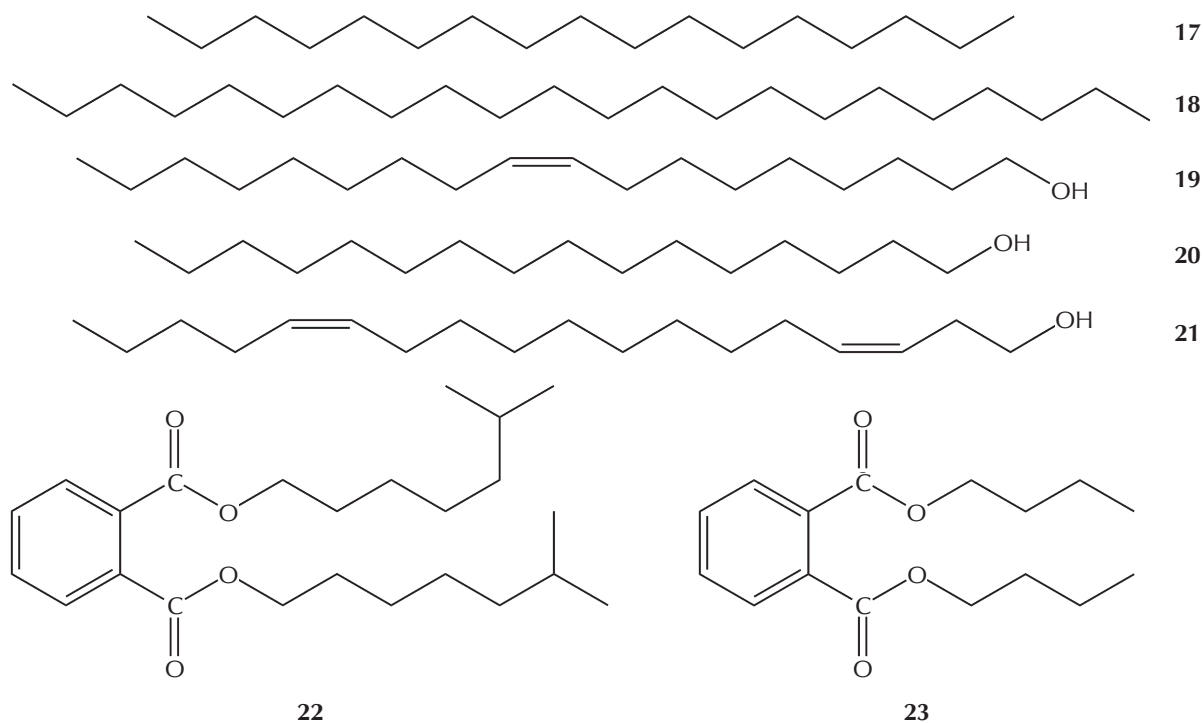
Od fenilpropanskih derivata u vršnim parama *H. filicina* i *F. petiolata* identificiran je benzaldehid (8,7 %; 6,5 %), koji je u manjem postotku pronađen i u *P. pavonica* (2,48 % (vlakno PDMS/DVB); 0,33 % (vlakno DVB/CAR/PDMS))⁹ te drugim istraživanim vrstama (0,2 – 0,5 %).¹¹ U vršnim parama alge *C. bursa* (vlakno DVB/CAR/PDMS; vlakno PDMS/DVB) identificirani su benzaldehid (5,21 %; 4,73 %) i benzil-alkohol (9,31 %; 0,20 %). Ti aromatski spojevi identificirani su i u destilatima svježih i suhih alge *C. bursa*. Primijećeno je da je postotak benzil-alkohola (0,10 %) znatno manji u destilatu suhe alge u usporedbi s destilatom svježih uzoraka (18,02 %).³⁷ Od drugih fenilpropanskih derivata pronađen je fenilacetaldehid (0,1 % – 0,9 %) i to u vrstama *H. filicina*, *F. petiolata* i *P. oceanica*.¹² Fenilpropanski derivati se ponajprije izvode iz fenilalanina, pri čemu se skraćivanje bočnog lanca za dva atoma ugljika može odvijati β-oksidacijskim putem ili neoksidativno.⁵⁰

Razgradni produkti karotenoida, C₁₃-norizoprenoidi α-jonon (0,4 %; 0,9 %), β-jonon (1,2 %; 0,7 %) i β-ciclocitral (0,5 %; 0,8 %) identificirani su u algama *H. filicina* i *F. petiolata*.¹² Primjenom dvaju vlakana (vlakno

DVB/CAR/PDMS; vlakno PDMS/DVB), uz α -jonon (6,40 %; 3,02 %) i β -jonon (1,52 %; 1,02 %) u vršnim parama suhe alge *C. bursa* identificiran je i 4-ketoizoforon (0,10 %; 0,10 %).³⁷ U destilatu svježje alge *P. pavonica* pronađen je C₁₃-norisoprenoid 3-okso- α -jonol.⁹

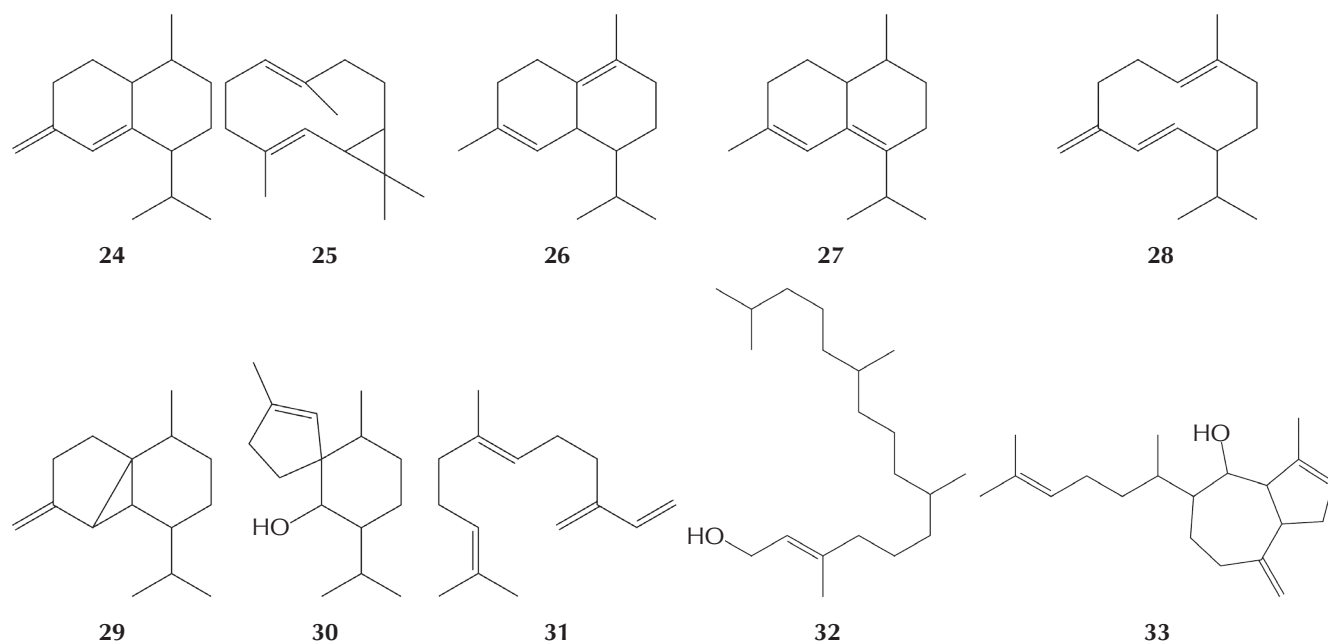
U zelenoj algi *F. petiolata* pronađen je samo jedan monoterpen, 1,8-cineol (0,6 %).¹² Iz literature je poznato da smeđe alge porodice Dictyotaceae proizvode mnoštvo sekundarnih metabolita, posebno diterpena, obično cikličke strukture.³⁵ Također, u literaturi se selinan i kadinan navode kao dva glavna strukturna tipa seskviterpena u smeđim algama.⁵¹ Za razliku od *H. filicina*, *F. petiolata* i *P. oceanica* glavni identificirani spojevi vršnih para *D. dichotoma* su seskviterpeni među kojima je najzastupljeniji germakren D (28,3 %). Germakren D (32,06 % (vlakno PDMS/DVB); 27,89 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)) također je glavni seskviterpen vršnih para svježih uzoraka smeđe alge *Taonia atomaria*. U *D. dichotoma* i *T. atomaria* identificiran je i biciklogermakren (4,7 %; 0,87 %) koji biosintetski vjerojatno nastaje iz germakrenil-kationa.⁹ Drugi seskviterpeni vršnih para *D. dichotoma*, biosintetski povezani s germakrenom, su: δ -kadinen (8,3 %), γ -kadinen (3,4 %), β -kadinen (2,8 %) te *trans*-kadina-1,4-dien (1,2 %). U vršnim parama te alge identificiran je i epizonaren (4,3 %), koji može nastati izravno iz germakrena D ili iz drugih međuprodukata kadinena. Pretpostavlja se da ciklizacijom germakrena D ili njegovih izomera s endocikličkom dvostrukom ve-

zom mogu nastati spojevi s bourbonen i kopaen strukturom, poput β -bourbonena (5,1 %) i α -kopaena (0,7 %). U nižim postotcima u algi *D. dichotoma* identificirani su i α -muurolen (2,2 %), γ -muurolen (2,1 %) te α -amorfen (3,5 %).¹² U vršnim parama *T. atomaria* identificirani su seskviterpeni kadinan strukture (vlakno PDMS/DVB; vlakno DVB/CAR/PDMS), koji se također biosintetski mogu izvesti iz germakrena D: epi-biciklokseskvifelandren (27,49 %; 25,13 %), kadina-3,5-dien (2,45 %; 3,60 %), *trans*-kadina-1(6),4-dien (1,21 %; 2,39 %) te zonaren (2,25 %; 2,53 %). Seskviterpen, pronađen u većem postotku, s tricikličkom strukturom kubebana je β -kubeben (12,80 % (vlakno PDMS/DVB); 10,74 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)). U manjem postotku je identificiran i njegov izomer α -kubeben (2,53 %; 2,48 %). Među glavnim identificiranim spojevima pronađen je bicklički spiro seskviterpen gleenol (9,68 %; 11,02 %). Međutim, u destilatu *T. atomaria* pronađeni su i terpenoidi veće molekulske mase kao što su diterpeni (pačidiktiol A, cembra-4,7,11,15-tetraen-3-ol), izocembrol seskviterpeni (*trans*- α -bergamoten, α -amorfen, junenol, di-epi-1,10-kubenol, δ -kadinol) te trisnorseskviterpen alben. Germakren D (22,24 %), epi-biciklokseskvifelandren (20,83 %) i gleenol (15,35 %) glavni su spojevi identificirani i u destilatu smeđe alge *T. atomaria*. Iz literature je poznato da glavni isparljivi spojevi pronađeni u vršnim parama i isparljivom ulju alge *T. atomaria* pokazuju različite biološke aktivnosti.⁹



Slika 3 – Odabrani viši alifatski ugljikovodici, alkoholi i esteri identificirani u kemijskim profilima isparljivih ulja: (17) heptadecan; (18) dokosan; (19) (Z)-oktadec-9-en-1-ol; (20) heksadecan-1-ol; (21) (Z,Z)-oktadeca-3,13-dien-1-ol; (22) diisooctil-ftalat; (23) dibutil-ftalat

Fig. 3 – Selected higher aliphatic hydrocarbons, alcohols and esters identified in the chemical profiles of volatile oils: (17) heptadecane; (18) docosane; (19) (Z)-octadec-9-en-1-ol; (20) hexadecan-1-ol; (21) (Z,Z)-octadeca-3,13-dien-1-ol; (22) diisooctyl phthalate; (23) dibutyl phthalate



Slika 4 – Odabrani di- i seskviterpeni identificirani u kemijskim profilima vršnih para i isparljivih ulja: (24) germakren D; (25) biciklogermakren; (26) δ -cadinen; (27) epizonaren; (28) epi-biciklozeskvifelandren; (29) β -kubeben; (30) gleenol; (31) (*E*)- β -farnezen; (32) (*E*)-fitol; (33) pačidiktol A

Fig. 4 – Selected di- and sesquiterpenes identified in the chemical profiles of headspace and volatile oils: (24) germacrene D; (25) bicyclogermacrene (26) δ -cadinene; (27) epizonarene; (28) epi-bicyclosesquiphellandrene; (29) β -cubebene; (30) gleenol; (31) (*E*)- β -farnesene; (32) (*E*)-phytol; (33) pachydictol A

(*E*)- β -Farnezen (7,92 % (vlakno PDMS/DVB); 6,28 % (vlakno DVB/CAR/PDMS)) glavni je seskviterpen identificiran u vršnim parama smeđe alge *P. pavonica*, a potom slijede α -farnezen (4,43 %; –) te *cis*- i *trans*-kalamenen (0,62 %; 0,19 %). U isparljivom ulju te alge identificiran je (*E*)-fitol (6,45 %). Taj diterpenski alkohol (3,31 %) identificiran je i u isparljivom ulju svježje alge *C. bursa*, a u destilatu suhe alge *C. bursa* je dominantan spoj (58,42 %). Taj povećan postotak u odnosu na destilat svježeg uzorka vjerojatno je posljedica raspada klorofila. Oksidacijom fitolnog lanca klorofila može nastati metilirani keton dugolančane masne kiseline kao što je heksahidroksifarnezil acetone (6,10,14-trimetilpentadekan-2-on, fiton) koji je pronađen u isparljivom ulju svježih i suhih uzoraka alge *C. bursa* (1,61 %; 5,91 %). Diterpenski alkoholi pačidiktol A (6,03 %), izopačidiktol A (0,15 %) te nekoliko seskviterpena (*trans*- α -bergamoten, epi- β -santalen, α -humulen, β -santalen, (*E*)- β -gvajen, β -bisabolen i (*E*)- α -bisabolen) identificirano je po prvi put u destilatu alge *P. pavonica*.

Zaključak

Provedena istraživanja pridonose proučavanju kemijske bioraznolikosti morskih algi i otkrivaju mnoštvo različitih isparljivih spojeva od kojih se mnogi po prvi put navode za određene vrste. Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) i hidrodestilacija (HD) predstavljaju prikladne i komplementarne metode za izolaciju isparljivih spojeva morskih algi. GC-MS analizom izolata dobiveni su karakteristični kemijski profili vršnih para i isparljivih ulja istraživa-

nih vrsta. Kod vrsta *H. filicina* i *F. petiolata* identificirani su dimetil-sulfid (DMS), C_8 -spojevi (npr. fukoseraten), benzaldehid, heptadekan, diktipteren D' i C, i dr. Dimetil-sulfid te viši aciklički ugljikovodici dominantni su spojevi vršnih para *P. oceanica*, dok su u vršnim parama *D. dichotoma* i *T. atomaria* najzastupljeniji seskviterpeni. Kemijski sastav vršnih para i isparljivog ulja alge *T. atomaria* veoma je sličan, dok se profili vršnih para i isparljivog ulja kod algi *P. pavonica* i *C. bursa* znatno razlikuju. Glavni spojevi pronađeni u vršnim parama *P. pavonica* su dimetil-sulfid, oktan-1-ol i oktanal, dok su u sastavu ulja glavni spojevi viši alifatski alkoholi, (*E*)-fitol i pačidiktol A. Također, primijećena je razlika u kemijskim profilima isparljivih spojeva između svježih i suhih uzoraka alge *C. bursa*. Dimetil-sulfid, glavni spoj vršnih para svježih uzoraka, u vršnim je parama suhih uzoraka prisutan u malom postotku. U destilatu svježje alge glavni su spojevi heptadekan i dokosan, dok je (*E*)-fitol glavni spoj destilata suhe alge. Identificirani spojevi, među kojima se nalaze i biološki aktivni spojevi, pridonose kemijskoj karakterizaciji morskih algi Jadranskog mora.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Croatian Government and the European Union (European Regional Development Fund – the Competitiveness and Cohesion Operational Programme – KK.01.1.1.01) for funding this research through project Bioprospecting of the Adriatic Sea (KK.01.1.1.01.0002) granted to The Scientific Centre of Excellence for Marine Bioprospecting-BioProCro.

Popis kratica**List of abbreviations**

HS-SPME	– mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi – headspace solid-phase microextraction
HD	– hidrodestilacija – hydrodistillation
GC-MS	– plinska kromatografija-spektrometrija masa – gas chromatography-mass spectrometry
VOCs	– isparljivi organski spojevi – volatile organic compounds
FMA-HD	– usmjerena hidrodestilacija potpomognuta mikrovalovima – focused microwave-assisted hydrodistillation
SDE	– simultana destilacija-ekstrakcija – simultaneous distillation-extraction
SFE	– superkritična ekstrakcija fluidima – supercritical fluid extraction
SHE	– statička ekstrakcija vršnih para – static headspace extraction
DHE	– dinamička ekstrakcija vršnih para – dynamic headspace extraction

Literatura**References**

- URL: <http://bioproadriatic.hr/> (6. 4. 2020.).
- S. Leston, M. Nunes, J. Rosa, M. F. L. Lemos, F. Ramos, M. A. Pardal, Prospection, Collection, and Preservation of Marine Samples, u T. Rocha-Santos, A. Duarte (ur.), Analysis of Marine Samples in Search of Bioactive Compounds. Vol. 65, Elsevier, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2014., str. 15–34.
- V. Gressler, P. Colepicolo and E. Pinto, Useful Strategies for Algal Volatile Analysis, *Curr. Anal. Chem.* **5** (2009) 271–292, doi: <https://doi.org/10.2174/157341109788680255>.
- O. López-Pérez, A. Picon, M. Nuñez, Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds, *Food Res. Int.* **99** (2016) 1002–1010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.013>.
- A.-M. Cikoš, M. Jurin, R. Čož-Rakovac, S. Jokić, I. Jerković, Update on monoterpenes from red macroalgae: Isolation, analysis, and bioactivity, *Mar. Drugs* **17** (2019) 1–20, doi: <https://doi.org/10.3390/md17090537>.
- J. A. Maschek, B. J. Baker, The Chemistry of Algal Secondary Metabolism, u C. D. Amsler (ur.), *Algal Chemical Ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008., str. 1–24.
- M. T. Cabrera, C. Vale, A. P. Rauter, Halogenated Compounds from Marine Algae, *Mar. Drugs* **8** (2010) 2301–2317, doi: <https://doi.org/10.3390/md8082301>.
- K. C. Güven, E. Sezik, F. Kaleağasıoğlu, H. Erdugan, B. Coban, E. Karakaş, Volatile Oils from Marine Macroalgae, u K. Ramawat, J. M. Mérillon (ur.), *Natural products*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013., str. 2883–2912.
- I. Jerković, M. Kranjac, Z. Marijanović, M. Roje, S. Jokić, Chemical Diversity of Headspace and Volatile Oil Composition of Two Brown Algae (*Taonia atomaria* and *Padina pavonica*) from the Adriatic Sea, *Molecules* **24** (2019) 495, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24030495>.
- R. E. Moore, Volatile Compounds from Marine Algae, *Acc. Chem. Res.* **10** (1976) 40–47, doi: <https://doi.org/10.1021/ar501110a002>.
- K. Ito, K. Hori, Seaweed: Chemical composition and potential food uses, *Food Rev. Int.* **5** (1989) 101–144, doi: <https://doi.org/10.1080/87559128909540845>.
- I. Jerković, Z. Marijanović, M. Roje, P. M. Kuš, S. Jokić, R. Čož-Rakovac, Phytochemical study of the headspace volatile organic compounds of fresh algae and seagrass from the Adriatic Sea (single point collection), *PLoS One* **13** (2018) 1–13, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196462>.
- E. G. Vilara, M. G. O'Sullivan, J. P. Kerry, K. N. Kilcawley, Volatile compounds of six species of edible seaweed: A review, *Algal Res.* **45** (2020) 1–11, doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101740>.
- G. A. Zatelli, A. C. Philippus, M. Falkenberg, An overview of odoriferous marine seaweeds of the *Dictyopteris* genus: insights into their chemical diversity, biological potential and ecological roles, *Rev. Bras. Farmacogn.* **28** (2018) 243–260, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjpp.2018.01.005>.
- M. Kladi, C. Vagias, V. Roussis, Volatile halogenated metabolites from marine red algae, *Phytochem. Rev.* **3** (2004) 337–366, doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-004-4155-9>.
- F. Laturnus, Marine Macroalgae in Polar Volatile Organohalogenes, *ESPR – Environ. Sci. Pollut. Res.* **8** (2001) 103–108, doi: <https://doi.org/10.1007/BF02987302>.
- Z. Zuo, Why Algae Release Volatile Organic Compounds-The Emission and Roles, *Front. Microbiol.* **10** (2019) 1–7, doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00491>.
- M. Terezinha Santos Leite Neta, N. Narain, Volatile Components in Seaweeds, *Examines Mar. Biol. Oceanogr.* **2** (2) (2018) 195–201, doi: <https://doi.org/10.31031/EIM-BO.2018.02.000535>.
- N. Hamid, Q. Ma, S. Boulom, T. Liu, Z. Zheng, J. Balbas, J. Robertson, Chapter 8 – Seaweed minor constituents, u B. K. Tiwari and D. J. Troy (ur.), *Seaweed Sustainability*, Academic Press, 2015., str. 193–242.
- W. Boland, D. G. Müller, On the odor of the Mediterranean seaweed *Dictyopteris membranacea*; new C11 hydrocarbons from marine brown algae -III., *Tetrahedron Lett.* **28** (1987) 307–310, doi: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)95714-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)95714-9).
- M. El Hattab, G. Culioli, L. Piovetti, S. E. Chitour, R. Valls, Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea*, *J. Chromatogr. A* **1143** (2007) 1–7, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.057>.
- G. Ozdemir, Z. Horzum, A. Sukatar, N. U. Karabay-Yavasoglu, Antimicrobial Activities of Volatile Components and Various Extracts of *Dictyopteris membranacea*. and *Cystoseira barbata*. from the Coast of Izmir, Turkey, *Pharm. Biol.* **44** (2006) 183–188, doi: <https://doi.org/10.1080/13880200600685949>.
- N. Bouzidi, H. Seridi, Y. Daghbouche, L. Piovetti, M. El Hattab, Comparison of the Chemical Composition of “*Cystoseira sedoides* (Desfontaines) C. Agardh” Volatile Compounds Obtained by Different Extraction Techniques, *Rec. Nat. Prod.* **10** (2016) 58–67.
- V. M. Dembitsky, M. Srebnik, Use of Serially Coupled Capillary Columns with Different Polarity of Stationary Phases for the Separation of the Natural Complex Volatile Mixture of the Marine Red Alga *Corallina elongata*, *Biochemistry (Moscow)* **67** (2002) 1068–1074, doi: <https://doi.org/10.1023/a:1020594507571>.
- A. Gall, N. Yiannovits, The Aroma Volatiles from *Cystoseira stricta* var. *amentacea*, *J. Essent. Oil Res.* **5** (1993) 27–32, doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698166>.
- N. U. Karabay-Yavasoglu, A. Sukatar, G. Ozdemir, Z. Horzum, Antimicrobial Activity of Volatile Components and Various

- Extracts of the Red Alga *Jania rubens*, *Phytother. Res.* **21** (2007) 153–156, doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.2045>.
27. O. McConenell, W. Fenical, Halogen chemistry of the red alga *Asparagopsis*, *Phytochemistry* **16** (1977) 367–374, doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(77\)80067-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(77)80067-8).
 28. M. A. Saleh, N. M. Abdel-Moein, N. A. Ibrahim, Insect antifeeding azulene derivative from the brown alga *Dictyota dichotoma*, *J. Agric. Food Chem.* **32** (1984) 1432–1434, doi: <https://doi.org/10.1021/jf00126a054>.
 29. A. Sukatar, N. U. Karabay-Yavasoglu, G. Ozdemir, Z. Horzum, Antimicrobial activity of volatile component and various extracts of *Enteromorpha linza* (Linnaeus) J. Agardh from the coast of Izmir, Turkey, *Ann. Microbiol.* **56** (2006) 275–279, doi: <https://doi.org/10.1007/BF03175018>.
 30. V. Roussis, T. Rapti, C. Vagias, C. Harvala, H. Caberi, Volatile Metabolites of the Green Alga *Ulva rigida* (C.Ag), *J. Essent. Oil Res.* **12** (2000) 201–204, doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9699497>.
 31. S. De Rosa, A. De Giulio, C. Iodice, N. Zavodink, Sesquiterpenes from the brown alga *Taonia atomaria*, *Phytochemistry* **37** (1994) 1327–1330, doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90407-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90407-2).
 32. Z. Kamenarska, M. J. Gasic, M. Zlatovic, A. Rasovic, D. Sladic, Z. Kljajic, K. Stefanov, K. Seizova, H. Najdenski, A. Kujumgiev, I. Tsvetkova, S. Popov, Chemical Composition of the Brown Alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea, *Bot. Mar.* **45** (2002) 339–345, doi: <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.034>.
 33. N. Djapic, *Corallina officinalis* chemical compounds obtained by supercritical fluid extraction, *AACL Bioflux* **11** (2018) 422–448.
 34. N. E. Awad, H. M. Motawe, M. A. Selim, A. A. Matloub, Volatile Constituents of the Brown Algae *Padina pavonia* (L.) Gaill. and *Hydroclathrus clathratus* (C. Agardh) Howe and their Antimicrobial Activity, *J. Med. Aromat. Plant Sci.* **3** (2009) 12–15.
 35. P. Siamopoulou, A. Bimplakis, D. Iliopoulou, C. Vagias, P. Cos, D. V. Berghe, V. Roussis, Diterpenes from the brown algae *Dictyota dichotoma* and *Dictyota linearis*, *Phytochemistry* **65** (2004) 2025–2030, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.06.018>.
 36. S. Hammami, A. B. Salem, M. L. Ashour, J. Cheriaa, G. Graziano, Z. Mighri, A novel methylated sesquiterpene from seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile, *Nat. Prod. Res.* **27** (2013) 1265–1270, doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.725401>.
 37. I. Jerković, M. Kranjac, Z. Marijanović, B. Šarkanj, A.-M. Cikoš, K. Aladić, S. Pedisić, S. Jokić, Chemical Diversity of *Codium bursa* (Olivi) C. Agardh headspace compounds, volatiles, fatty acids and insight into its antifungal activity, *Molecules* **24** (2019) 1–16, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24050842>.
 38. R. H. White, Analysis of dimethyl sulfonium compounds in marine algae, *J. Mar. Res.* **40** (1982) 529–536.
 39. K. L. Van Alstyne, M. P. Puglisi, DMSP in marine macroalgae and macroinvertebrates: Distribution, function, and ecological impacts, *Aquat. Sci.* **69** (2007) 394–402, doi: <https://doi.org/10.1007/s00027-007-0888-z>.
 40. J. R. Seymour, R. Simó, T. Ahmed, R. Stocker, Chemoattraction to Dimethylsulfoniopropionate Throughout the Marine Microbial Food Web, *Science* **329** (2010) 342–345, doi: <https://doi.org/10.1126/science.1188418>.
 41. U. Alcolombri, S. Ben-Dor, E. Feldmesser, Y. Levin, D. S. Tawfik, A. Vardi, Identification of the algal dimethyl sulfide-releasing enzyme: A missing link in the marine sulfur cycle, *Science* **348** (2015) 1–4, doi: <https://doi.org/10.1126/science.aab1586>.
 42. M. C. R. Franssen, Halogenation and oxidation reactions with haloperoxidases, *Biocatalysis* **10** (1994) 87–111, doi: <https://doi.org/10.3109/10242429409065220>.
 43. K. Boonprab, K. Matsui, Y. Akakabe, M. Yoshida, N. Yotsukura, A. Chirapart, T. Kajiwara, Formation of aldehyde flavor (*n*-hexanal, 3*Z*-nonenal and 2*E*-nonenal) in the brown alga, *Laminaria angustata*, *J. Appl. Phycol.* **18** (2006) 409–412, doi: <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9038-6>.
 44. Y. Akakabe, K. Matsui, T. Kajiwara, 2,4-Decadienals are produced via (R)-11-HPITE from arachidonic acid in marine green alga *Ulva conglobata*, *Bioorg. Med. Chem.* **11** (2003) 3607–3609, doi: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(03\)00364-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00364-X).
 45. P. Fink, Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems, *Mar. Freshwater Behav. Physiol.* **40** (2007) 155–168, doi: <https://doi.org/10.1080/10236240701602218>.
 46. W. Boland, The chemistry of gamete attraction: Chemical structures, biosynthesis, and (a)biotic degradation of algal pheromones, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92** (1995) 37–43, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.1.37>.
 47. D. G. Müller, G. Gassmann, Sexual Reproduction and the Role of Sperm Attractants in Monoecious Species of the Brown Algae Order Fucales (*Fucus*, *Hesperophycus*, *Pelvetia*, and *Pelvetiopsis*), *J. Plant Physiol.* **118** (1985) 401–408, doi: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(85\)80200-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80200-5).
 48. M. Hombeck, W. Boland, Biosynthesis of the Algal Pheromone Fucoserratene by the Fresh-water Diatom *Asterionella formosa* (Bacillariophyceae), *Tetrahedron* **54** (1998) 11033–11042, doi: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)00660-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)00660-7).
 49. M. Namikoshi, T. Fujiwara, T. Nishikawa, K. Ukai, Natural Abundance 14C Content of Dibutyl Phthalate (DBP) from Three Marine Algae, *Mar. Drugs* **4** (2006) 290–297, doi: <https://doi.org/10.3390/md404290>.
 50. J. Boatright, F. Negre, X. Chen, C. M. Kish, B. Wood, G. Peel, I. Orlova, D. Gang, D. Rhodes, N. Dudareva, Understanding *in Vivo* Benzenoid Metabolism in *Petunia* Petal Tissue, *Plant Physiol.* **135** (2004) 1993–2011, doi: <https://doi.org/10.1104/pp.104.045468>.
 51. J. Hu, B. Yang, X. Lin, X-F. Zhou, X-W. Yang, Y. Liu, Bioactive Metabolites from Seaweeds, u S-K. Kim (ur.), *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*, Wiley, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2011., str. 262–282.

SUMMARY

BioProspecting of the Adriatic Sea: A Review of Recent Studies of Volatile Organic Compounds

Marina Kranjac,^{a*} Marina Zekić,^a Ani Radonić,^a
Zvonimir Marijanović,^a Stela Jokić,^b and Igor Jerković^a

Studies presented in this review contribute to the knowledge of volatile organic compounds (VOCs) from marine organisms, especially macroalgae from the Adriatic Sea. Complementary methods were used for the isolation of VOCs from fresh and/or air-dried samples: headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and/or hydrodistillation (HD). The isolates were analysed by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). A variety of different volatile compounds, mainly sesquiterpenes, diterpenes and aliphatic compounds were found in headspace and volatile oils of macroalgae *Halopteris filicina*, *Flabellia petiolata*, *Dictyota dichotoma*, *Taonia atomaria*, *Padina pavonica*, *Codium bursa*, and one seagrass *Posidonia oceanica*. Low molecular aliphatic compounds were found in the chemical profiles of headspace, such as dimethyl sulphide (DMS), tribromomethane, 1-iodopentane, 3-methylbut-2-enal, hexanal and pent-1-en-3-one. Aliphatic C₈- and C₁₁-compounds (e.g., octan-1-ol, octanal, oct-1-en-3-ol, 6-methylhept-5-en-2-ol, fucoserratene and dictyopterenes) were also identified. Along with higher acyclic hydrocarbons, which are also found in headspace (e.g. heptadecane), in the investigated volatile oils higher aliphatics alcohols (e.g., (Z)-oktadec-9-en-1-ol, hexadecan-1-ol, (Z,Z)-oktadeca-3,13-dien-1-ol) and esters (e.g., diisooctyl phthalate, dibutyl phthalate) were found. Phenylpropane derivatives (e.g., benzaldehyde, benzyl alcohol) and C₁₃-norisoprenoids (e.g., α -ionone and β -ionone) were also identified in the volatile profiles, as well as an array of sesquiterpenes (e.g., germacrene D, bicyclogermacrene, δ -cadinene, epizonarene, epi-bicyclosquiphellandrene, β -cubebene, gleenol, (E)- β -farnesene). VOCs, identified in marine algae, could be useful for chemotaxonomic studies.

Keywords

Marine macroalgae, headspace solid-phase microextraction (HS-SPME), hydrodistillation (HD), volatile oils, gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS), volatile organic compounds (VOCs)

^aUniversity of Split, Faculty of Chemistry and Technology, Ruđera Boškovića 35, 21 000 Split, Croatia

^bJ. J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Food Technology, Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek, Croatia

Review
Received April 28, 2020
Accepted July 6, 2020