

УДК 582.272 : 577.1 : 543.062

Сравнительное исследование химического состава бурых водорослей *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum*

М.П. Клиндух, Е.Д. Облучинская

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН

Аннотация. Исследован биохимический состав фукусовых водорослей *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum* Баренцева, Белого и Балтийского морей. Определено, что в водорослях, собранных в Белом море, содержится больше белка и свободных аминокислот, чем в остальных исследуемых растениях. Содержание маннита в *F. vesiculosus* и *A. nodosum* из Белого и Баренцева морей составляет 8-12 % (аб.сух.мас.). Наибольшее количество полисахаридов (альгинатов и фукоидана) содержится в фукусе пузырчатом из Балтийского моря, где сочетаются низкая соленость и минимальная интенсивность движения воды. Максимальное содержание полифенолов (18,6 %) обнаружено в *F. vesiculosus* из Белого моря. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации технологий получения БАВ из бурых водорослей.

Abstract. The biochemical composition of *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum* from the Barents, White and Baltic Seas has been investigated. It has been determined that the algae collected in the White Sea, contains more protein and free amino acids than the rest of the studied plants. The content of mannitol in *F. vesiculosus* and *A. nodosum* from the White and Barents Seas is 8-12 % (dry weight). The greatest quantity of polysaccharides (alginates and fucoidan) is contained in *F. vesiculosus* from the Baltic Sea due to combination of low salinity and minimum intensity of water movement. The maximum content of polyphenols (18.6 %) has been found in *F. vesiculosus* from the White Sea. The data can be used to optimize the technologies of BAS from brown algae.

Ключевые слова: фукусовые водоросли, маннит, белок, свободные аминокислоты, полисахариды, полифенолы

Key words: fucoids, mannitol, protein, free amino acids, polysaccharides, polyphenols

1. Введение

Бурые водоросли являются природным источником различных биологически активных веществ (БАВ) и содержат углеводы (полисахариды, маннит), азотосодержащие вещества, липиды, пигменты, полифенолы и другие вещества. Качественный и количественный биохимический состав макрофитов зависит от многих факторов, в частности, и от условий их местообитания.

Фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus* L.) – широко распространенный вид фукусовых водорослей. Он произрастает в Баренцевом, Белом, Балтийском морях, обладает высокой способностью адаптироваться к самому широкому диапазону условий окружающей среды (Шошина, 1998). Обитает в приливно-отливной зоне, доступен для заготовки в любое время года (на побережье Баренцева моря). По фитохимическому составу, в том числе по содержанию полисахаридов, не уступает традиционным видам водорослевого сырья.

Наряду с фукусом пузырчатым широко распространен и аскофиллум узловатый (*Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis). В некоторых регионах этот вид водорослей считается наиболее экономически ценным за счет более высокого содержания альгинатов по сравнению с видами рода *Fucus*, например, в странах Северной Атлантики (Норвегия, Исландия, Ирландия и др.).

Сравнительные биохимические характеристики водорослей одного и того же вида, собранные в одно и то же время, но произрастающие в Баренцевом, Белом и Балтийском морях, в литературе не представлены. Большинство исследований в данной области посвящено сравнению разных видов водорослей из географически близких районов, отличающиеся одним или двумя факторами (соленость, интенсивность движения воды) (Клочкова, Березовская, 1997; Усов и др., 2001; Репина, 2005; Облучинская, 2008). Изучение водорослей, произрастающих в трех различных морях России, позволит выявить различия в биохимическом составе, связанные с климато-географическими особенностями районов сбора, а также позволит определить наиболее перспективное сырье для получения конкретных групп БАВ. Состав и содержание БАВ являются важной характеристикой при использовании этих водорослей как в качестве пищевого сырья, так и при производстве лечебно-профилактических препаратов.

Цель данного сравнительного исследования – определить содержание полисахаридов, маннита, полифенолов, белка и некоторых свободных аминокислот в *F. vesiculosus* и *A. nodosum*, собранных в

Белом, Балтийском и Баренцевом морях, и выявить среди них наиболее ценные бурые водоросли по содержанию данных веществ.

2. Материалы и методы

Материал для исследования был собран в летний период 2010-2011 гг. в Баренцевом, Белом и Балтийском морях (рис.). Более подробные характеристики мест сбора проб представлены в табл. 1.

Объектом исследования послужили бурые водоросли видов *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum*.



Рис. Места сбора проб

Таблица 1. Некоторые абиотические характеристики мест сбора водорослей

Вид водоросли	Место сбора	Тип берега	Солёность, ‰	ИДВ*
<i>F. vesiculosus</i> <i>A. nodosum</i>	Район мыса Картеш г. Чупа (Белое море)	Открытый берег	21,0-22,0	Высокая
<i>F. vesiculosus</i> <i>A. nodosum</i>	мыс Пробный г. Дальнезеленецкая (Баренцево море)	Слабо защищённый	31,5-34,0	Средняя
<i>F. vesiculosus</i>	Район о. Родшер Финский залив (Балтийское море)	Открытый берег	7,0-12,0	Низкая

* ИДВ – интенсивность движения водных масс.

Содержание маннита в бурых водорослях определяли методом обратного титрования (Cameron et al., 1948). Белок в водорослях определяли по модифицированному методу Лоури для бурых водорослей (Промысловые и перспективные..., 1998).

Для определения содержания свободных аминокислот использовали метод восходящего хроматографического разделения аминокислот на бумаге (*Методы физиолого-биохимического исследования...*, 1975; *Методика количественной...*, 1962).

Содержание свободного пролина, в отличие от остальных несвязанных аминокислот, определяли по методу Байтса (*Bates et al.*, 1973). Альгиновую кислоту и фукоидан – по методу Усова и др. (2002).

Общее содержание фенолов определяли по реакции Фолина-Чокальтеу в модификации Van Alsten (1995).

Определение абсолютно сухой массы образцов проводилось согласно общепринятой методике (*Водоросли...*, 2004).

Все полученные данные были обработаны в программе Microsoft Excel с использованием математических и статистических формул (*Ивантер, Коросов*, 2003).

3. Результаты и обсуждение

Из азотсодержащих веществ в водорослях содержатся главным образом белки и свободные аминокислоты. Содержание белков в бурых водорослях невысокое и зависит от условий обитания, стадии развития водоросли, возраста таллома, концентрации биогенов в воде, сезона года и других факторов (*Камнев*, 1989). В среднем водоросли содержат от 5 до 15 % белка. Согласно нашим данным, у бурой водоросли *F. vesiculosus*, произрастающей в Баренцевом море, весной содержание белка выше, чем осенью (*Клиндух*, 2010).

Состав и содержание свободных аминокислот во многом зависят от вида водоросли, условий произрастания, сезона сбора растений. В водорослях, обитающих на Камчатском побережье, содержится 15-20 индивидуальных аминокислот, среди которых аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота и аланин находятся в наибольшем количестве (*Клочкова, Березовская*, 1997). У фукусовых водорослей Белого моря в составе обнаружено 18 аминокислот, из них 7 незаменимых, а сезонные изменения количества аминокислот повторяют динамику накопления белка (*Репина*, 2005). В литературе имеются данные о зависимости состава аминокислот от солёности у некоторых видов бурых водорослей, обитающих в губах Западного и Восточного Мурмана (*Злобин*, 1976). Согласно проведённым нами ранее работам в *F. vesiculosus* б. Белокаменная Баренцева моря, собранного весной, содержится больше свободных аминокислот, чем в этой же водоросли в остальные сезоны года. Также в апикальной части фукуса пузырчатого содержится больше свободных аминокислот, в том числе и незаменимых, чем в остальной части таллома (*Клиндух*, 2012).

В состав бурых водорослей также входит шестиатомный спирт маннит, являющийся одним из первичных продуктов фотосинтеза, он выполняет функцию запасного вещества и участвует в процессах синтеза полисахаридов (*Барашков*, 1972). Его содержание зависит от вида водоросли, сезона сбора, условий произрастания и даже части слоевища, из которого он извлекается. Колебания в содержании маннита могут составлять от 1 до 30 % в зависимости от сезона сбора (*Промысловые и перспективные...*, 1998).

Ранее было показано (*Облущинская и др.*, 2002), что фукус пузырчатый с побережья Баренцева моря характеризуется высоким содержанием фукоидана в течение всего года, наибольшим количеством альгиновой кислоты в летне-осенний период и является самым перспективным сырьем для получения полисахаридов среди фукоидов Баренцева моря. В ходе дальнейших исследований было установлено, что содержание полисахаридов у фукуса пузырчатого непостоянно при сборе проб в разных местах произрастания: наибольшие значения для фукоидана и альгината найдены в случае наименьшей солёности и интенсивности движения воды (*Облущинская*, 2011).

Бурые водоросли накапливают большое количество полифенольных соединений, главным образом, флороглюцина (1,3,5-тригидроксибензола) и его полимеров – флоротаннинов (*Van Alsten*, 1995). Полифенолы водорослей обладают антиоксидантной активностью (*Kang et al.*, 2003). Содержание полифенолов водорослей Баренцева, Белого и Балтийского морей остается малоизученным.

В результате исследования биохимического состава водорослей были получены данные, представленные в табл. 2 и 3.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, содержание маннита в исследуемых бурых водорослях составляет 4-12 %. При этом наибольшее содержание маннита обнаружено в *F. vesiculosus*, собранном в Белом и Баренцевом морях, а наименьшее – в *F. vesiculosus* из Балтийского моря. Водоросли вида *A. nodosum* содержат в 1,4-1,5 раза меньше маннита, чем водоросли вида *F. vesiculosus*. Несмотря на разные условия произрастания *F. vesiculosus* из Белого и Баренцева морей содержит одинаковое количество маннита. Такая же особенность в содержании маннита наблюдается и для водорослей вида *A. nodosum* из Белого и Баренцева морей.

Таблица 2. Химический состав бурых водорослей, % от абсолютно сухой массы

Вид водоросли	Место сбора	Маннит	Белок	Сумма свободных аминокислот*	Альгиновая кислота	Фукоидан	Общие фенолы
<i>F. vesiculosus</i>	Белое море	12,1 ± 0,6	2,6 ± 0,37	10,4 ± 1,5	18,5 ± 1,7	15,2 ± 1,4	18,4 ± 2,0
	Балтийское море	4,0 ± 0,3	0,1 ± 0,02	1,8 ± 0,3	17,2 ± 1,3	20,6 ± 2,5	15,9 ± 1,2
	Баренцево море	12,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2	5,2 ± 0,7	14,5 ± 1,9	14,7 ± 1,8	15,4 ± 0,9
<i>A. nodosum</i>	Белое море	8,4 ± 1,1	1,2 ± 0,2	7,1 ± 1,1	17,7 ± 1,0	11,7 ± 0,8	14,6 ± 1,7
	Баренцево море	8,0 ± 0,6	0,8 ± 0,1	6,8 ± 1,0	11,2 ± 1,7	10,3 ± 0,9	14,8 ± 1,0

* Сумма свободных аминокислот указана в мг/г абсолютно сухой массы водорослей.

Содержание белка в зависимости от места сбора составило от 0,11 до 2,63 % в водорослях вида *F. vesiculosus* и от 0,83 до 1,17 % в водорослях вида *A. nodosum*. Наибольшее содержание белка определено в *F. vesiculosus* из Белого моря, а наименьшее – в *F. vesiculosus* из Балтийского моря. Водоросли вида *F. vesiculosus*, собранные в тех же местах произрастания, содержат в 1,8-2,3 раза больше белка, чем водоросли вида *A. nodosum*. При этом бурые водоросли, обитающие в Белом море, содержат в 1,4-1,8 раза больше белка, чем соответствующие виды, собранные в Баренцевом море.

Высокое содержание альгиновой кислоты обнаружено в водорослях вида *F. vesiculosus* из Белого и Балтийского морей и водорослях вида *A. nodosum* из Белого моря. По содержанию фукоидана наибольшее значение выявлено в балтийской водоросли вида *F. vesiculosus* (20,6 %), что превышает содержание этого полисахарида в других водорослях в 1,4-2 раза, а также данные литературы (Усов и др., 2001; Облучинская, 2008; 2011). Сильное распреснение и низкая интенсивность движения воды в местах обитания балтийского фукуса пузырчатого обусловили значительное накопление водорастворимого фукоидана, что подтверждает выявленные в Баренцевом море закономерности (Облучинская, 2011).

Общее содержание полифенолов для исследуемых водорослей находится в диапазоне от 14,6 до 15,9 %, при этом максимальное значение концентрации полифенолов найдено в водоросли вида *F. vesiculosus* из Белого моря (18,4 %).

Суммарное содержание свободных аминокислот у водоросли вида *F. vesiculosus* варьирует в больших пределах в зависимости от места сбора: от 1,83 мг/г у балтийского фукуса до 10,36 мг/г у беломорского фукуса. *F. vesiculosus*, собранный в Баренцевом море, содержит в 2 раза меньше свободных аминокислот, чем *F. vesiculosus* из Белого моря. У вида *A. nodosum* суммарное содержание свободных аминокислот незначительно отличается в зависимости от места сбора водоросли (табл. 2). Беломорский фукус содержит в 1,5 раза больше свободных аминокислот, чем беломорский аскофиллум, а фукус из Баренцева моря, по сравнению с аскофиллумом из этого же моря, содержит в 1,3 раза меньше несвязанных аминокислот.

Что касается содержания отдельных свободных аминокислот, то у водорослей вида *F. vesiculosus*, независимо от места сбора, в составе преобладают аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Подобная тенденция характерна для большинства бурых водорослей (Имбс и др., 2009). При этом *F. vesiculosus* из Белого моря также содержит большое количество гистидина по сравнению с остальными входящими в его состав свободными аминокислотами, а у *F. vesiculosus* из Балтийского и Баренцева морей в составе свободных аминокислот преобладают ещё аланин и пролин. У водорослей вида *A. nodosum* в составе свободных аминокислот содержится значительное количество гистидина и аспарагиновой кислоты. В беломорском аскофиллуме также содержится много глутаминовой кислоты, а в баренцевоморском – аланина (табл. 3).

Из незаменимых аминокислот в исследуемых водорослях были определены аминокислоты: валин, лейцин, изолейцин, лизин и фенилаланин, а из частично заменимых – гистидин. Наибольшее содержание валина, лизина, фенилаланина и гистидина определено в *F. vesiculosus* из Белого моря, а наибольшее содержание лейцина и изолейцина – в *A. nodosum* из Баренцева моря. В баренцевоморском аскофиллуме содержание всех перечисленных незаменимых аминокислот в 1,3-1,8 раза выше, чем в баренцевоморском фукусе и беломорском аскофиллуме. *A. nodosum*, произрастающий в Баренцевом

море, превосходит все остальные исследуемые водоросли по процентному соотношению незаменимых аминокислот к сумме свободных аминокислот (5,6 %).

Таблица 3. Содержание некоторых свободных аминокислот в бурых водорослях, % от суммы свободных аминокислот

Аминокислоты	<i>F. vesiculosus</i>			<i>A. nodosum</i>	
	Белое море	Балтийское море	Баренцево море	Белое море	Баренцево море
Аланин	5,1	16,7	8,0	5,7	6,2
Аспарагиновая кислота	10,5	13,7	11,1	11,1	6,1
Валин	0,4	следы	следы	0,5	0,6
Гистидин	18,5	5,3	6,6	10,7	12,4
Глицин	2,4	1,1	4,5	4,2	3,0
Глутаминовая кислота	10,6	10,7	9,0	6,6	3,8
Изолейцин + лейцин	0,5	следы	1,3	1,0	1,7
Лизин	2,0	следы	0,8	2,2	1,9
Пролин	3,2	8,5	9,0	2,4	3,8
Тирозин	0,5	следы	1,9	0,5	1,1
Фенилаланин	1,3	следы	1,9	0,3	1,4

На содержание биохимических веществ в водорослях влияет целый комплекс различных факторов окружающей среды. Движение водных масс способствует увеличению поглощения биогенов водорослями и повышает ассимиляцию, но слишком высокая скорость течения препятствует поглощению водорослями биогенных элементов (Рыжик, 2005). Солёность и её колебания также влияют на содержание маннита, полисахаридов, белка и пролина в бурых водорослях (Барашков, 1972; Клиндух, 2009; Клиндух и др., 2011; Облучинская, 2011). Существенное влияние на содержание биохимических веществ в водорослях оказывает количество биогенных элементов в воде, которые необходимы для протекания процессов ассимиляции в растениях. Существует много факторов окружающей среды, которые в комплексе оказывают положительное или отрицательное воздействие на накопление тех или иных веществ в водорослях. При этом одни и те же факторы могут как стимулировать накопление одних соединений, так и негативно влиять на содержание других биохимических компонентов в растениях.

По результатам данного исследования в водорослях, собранных в Белом море, содержится больше белка и свободных аминокислот, чем в остальных исследуемых растениях. Поэтому можно сказать, что комплекс природных факторов, который существует в районе произрастания водорослей из Белого моря, в большей степени способствует накоплению азотистых соединений в *F. vesiculosus* и *A. nodosum*, чем природные условия в районах произрастания фукусовых водорослей из Баренцева и Балтийского морей. Содержание маннита в *F. vesiculosus* и *A. nodosum* из Белого и Баренцева морей одинаково, что свидетельствует о схожести условий окружающей среды, способствующих аккумуляции маннита в этих видах водорослей. Наибольшее количество полисахаридов (альгинатов и фукоидана) содержится в фукусе пузырчатом из Балтийского моря, где сочетаются низкая солёность (граничащая с нижним пределом обитания вида *F. vesiculosus*) и крайне низкая ИДВ. Общие фенолы в исследуемых водорослях содержатся в примерно одинаковых количествах, кроме водоросли вида *F. vesiculosus* из Белого моря, которая характеризуется их максимальным содержанием.

4. Заключение

Среди всех исследованных образцов водорослей наиболее ценными по содержанию маннита, белка и свободных аминокислот оказались водоросли вида *F. vesiculosus*, произрастающие в районе мыса Картеш Белого моря. Наименьшее содержание этих веществ было обнаружено в *F. vesiculosus*, произрастающем в районе острова Родшер Финского залива Балтийского моря. Однако по содержанию полисахаридов эта водоросль превосходит все другие исследуемые. Максимальное содержание полифенолов обнаружено в *F. vesiculosus* из Белого моря.

У водорослей вида *F. vesiculosus* в составе свободных аминокислот преобладают аспарагиновая и глутаминовая кислоты, а у *A. nodosum* – гистидин и аспарагиновая кислота. По суммарному содержанию незаменимых аминокислот выделяется вид *A. nodosum*, произрастающий в г. Дальнезеленецкая Баренцева моря.

Водоросли вида *F. vesiculosus* содержат больше фукоидана, маннита и белка, чем водоросли вида *A. nodosum*.

Литература

- Bates L.S., Waldren S.P., Teare I.D.** Rapid determination of proline for water-stressed studies. *Plant Soil*, v. 39, p. 205-207, 1973.
- Cameron M.C., Ross A.G., Percival E.G.V.** Methods for the routine estimation of mannitol, alginic acid and combined fucose in seaweeds. *J. Soc. Chem. Ind.*, v. 67, p. 161-164, 1948.
- Kang K., Park Y., Hwang H. et al.** Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents. *Arch. Pharm. Res.*, v. 26, № 4, p. 286-293, 2003.
- Van Alstyne K.L.** Comparison of three methods for quantifying brown algal polyphenolic compounds. *J. Chem. Ecol.*, v. 21, p. 45-58, 1995.
- Барашков Г.К.** Сравнительная биохимия водорослей. М., *Пищевая промышленность*, 336 с., 1972.
- Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа. ГОСТ 26185-84. Введён 01.01.85. М., *Изд-во стандартов*, 34 с., 2004.
- Злобин В.С.** Первичная продукция и культивирование морского фитопланктона. М., *Пищевая промышленность*, 248 с., 1976.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В.** Введение в количественную биологию. Учеб. пособие. Петрозаводск, *ПетрГУ*, 304 с., 2003.
- Имбс Т.И., Красовская Н.П., Ермакова С.П., Макарьева Т.Н., Шевченко Н.М., Звягинцева Т.Н.** Сравнительное исследование химического состава и противоопухолевой активности водно-этанольных экстрактов бурых водорослей *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* и *Fucus evanesceus*. *Биология моря*, т. 35, № 2, с. 140-146, 2009.
- Камнев А.Н.** Структура и функции бурых водорослей. М., *МГУ*, 200 с., 1989.
- Клиндух М.П.** Исследование содержания общего белка в бурых водорослях, произрастающих в различных биотопах Восточного Мурмана. *Мат. XXVII конф. молод. уч. ММБИ. Мурманск, ММБИ КНЦ РАН*, с. 99-105, 2009.
- Клиндух М.П.** Маннит и общий белок в бурой водоросли *Fucus vesiculosus*. *Мат. XXVIII конф. молод. уч. ММБИ. Мурманск, ММБИ КНЦ РАН*, с. 123-130, 2010.
- Клиндух М.П.** Содержание некоторых свободных аминокислот в бурой водоросли *Fucus vesiculosus* б. Белокаменная Кольского залива Баренцева моря. *Мат. XXX юбилейной конф. молод. уч. ММБИ. Мурманск, ММБИ КНЦ РАН*, с. 90-97, 2012.
- Клиндух М.П., Облущинская Е.Д., Матишов Г.Г.** Сезонные изменения содержания маннита и пролина в бурой водоросли *Fucus vesiculosus* L. Мурманского побережья Баренцева моря. *Доклады академии наук*, т. 441, № 1, с. 1-4, 2011.
- Клочкова Н.Г., Березовская В.А.** Водоросли камчатского шельфа. Распространение, биология, химический состав. *Отв. ред. В.С. Леви. Владивосток; Петропавловск-Камчатский: Даль-наука*, 155 с., 1997.
- Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений. *Отв. ред. О.А. Семихатова. М., Изд-во Академии наук СССР*, 87 с., 1962.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. *Отв. ред. акад. АН УССР А.В. Топачевский. Киев, Наукова Думка*, 248 с., 1975.
- Облущинская Е.Д.** Влияние факторов внешней среды на содержание полисахаридов фукуса пузырчатого *Fucus vesiculosus* L. *Химия раст. сырья*, № 3, с. 47-51, 2011.
- Облущинская Е.Д.** Сравнительное исследование бурых водорослей Баренцева моря. *Прикладная биохимия и микробиология*, т. 44, № 3, с. 377-342, 2008.
- Облущинская Е.Д., Воскобойников Г.М., Галынкин В.А.** Содержание альгиновой кислоты и фукоидана в фукусовых водорослях Баренцева моря. *Прикладная биохимия и микробиология*, т. 38, № 2, с. 213-216, 2002.
- Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей. *Отв. ред. акад. РАН Г.Г. Матишов, Апатиты, КНЦ РАН*, 630 с., 1998.
- Репина О.И.** Фукоиды Белого моря: химический состав и перспективы использования. Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки. *Мат. II науч.-практич. конференции. М., ВНИРО*, с. 216-219, 2005.
- Рыжик И.В.** Морфофункциональные особенности промысловых водорослей из разных биотопов Баренцева моря. *Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 25.00.28. Мурманск*, 25 с., 2005.
- Усов А.И., Смирнова Г.П., Клочкова Н.Г.** Полисахариды водорослей. 55. Полисахаридный состав некоторых бурых водорослей Камчатки. *Биорг. химия*, т. 27, № 6, с. 444-448, 2001.
- Шошина Е.В.** Фукусовые водоросли. Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей. *Апатиты, КНЦ РАН*, с. 174-187, 1998.