

Auðlindir & afurðir
Resources & Products

Öryggi, umhverfi & erfðir
Food Safety, Environment
& Genetics

Viðskiptaþróun
Business Development

Líftækni & lífefni
Biotechnology & Biomolecules

Mælingar & miðlun
Analysis & Consulting



Áhrif vistfræði þangs og þara á lífvirk efni þeirra og nýtingu

Rósa Jónsdóttir
Ásta Heiðrún Pétursdóttir
Halldór Benediktsson
Hilma B. Eiðsdóttir
Karl Gunnarsson
Jóna Freysdóttir

Líftækni og lífefni

Skýrsla Matís 08-15
September 2015

ISSN 1670-7192

Skýrsla lokuð til 31.12.2017

| | | | |
|--------------------------|--|------------------------------|----------------|
| Titill / Title | Áhrif vistfræði þangs og þara á lífvirk efni þeirra og nýtingu/ Ecological impact on bioactive chemicals in brown seaweeds and their utilization | | |
| Höfundar / Authors | Rósa Jónsdóttir ¹ , Ásta Heiðrún Pétursdóttir ¹ , Halldór Benediktsson ¹ , Hilma B. Eiðsdóttir ¹ , Karl Gunnarsson ² , Jóna Freysdóttir ^{3,4} ¹ Matís; ² Hafrannsóknarstofnun; ³ Rannsóknastofa í gigtsjúkdómum og Ónæmisfræðideild LSH; ⁴ Háskóli Íslands. | | |
| Skýrsla / Report no. | 08-15 | Útgáfudagur / Date: | September 2015 |
| Verknr. / Project no. | 2158 | Skýrsla lokuð til 31.12.2017 | |
| Styrktaraðilar /Funding: | Verkefnasjóður sjávarútvegsins | | |
| Ágríp á íslensku: | <p>Markmið verkefnisins var að rannsaka áhrif umhverfisþátta á magn og lífvirkni fjölfenóla og fjölsykra í þangi og þara. Á þann hátt var stefnt að því til að auka þekkingu á vist- og efnafræði þessara tegunda fyrir hagkvæmari einangrun lífefna, nánari greiningu þeirra og nýtingu til lífvirknimælinga. Sýni af beltisþara, marinkjarna, bólupangi og klópangi voru tekin á þremur stöðum á landinu; á norðanverðu Reykjanesi, í Breiðafirði og Eskifirði, alls sex sinnum yfir árið, frá mars til júní, í ágúst og október. Þróuð var aðferð til að einangra fucoidan og laminaran fjölsykrur úr bólupangi og klópangi. Heildarmagn fjölfenóla var mælt í öllum sýnum en lífvirkni í völdum sýnum. Auk þess voru þungmálmur og jod mælt í völdum sýnum.</p> <p>Magn fjölfenóla mældist hátt í bólupangi og klópangi en lítið í marinkjarna og beltisþara. Andoxunavirkni, mæld sem ORAC og í frumukerfi, var mikil í þeim sýnum sem innihéldu mikið magn fjölfenóla. Bólupang og marinkjarni sýndu bólguhemjandi virkni.</p> <p>Niðurstöður verkefnisins auka verulega við þekkingu á sviði nýtingar þangs og þara. Nýtast þær vel við þróun á vinnslu þangs til manneldis sem nú stendur yfir.</p> | | |
| Lykilorð á íslensku: | <i>þang, þari, fjölsykrur, fjölfenól, lífvirkni, þungmálmur, jod</i> | | |
| Summary in English: | <p>The aim of the project was to study the effect of environmental factors on polyphenols and polysaccharides in seaweed. Thereby be able to better recognize the ecology and chemistry of these species for more efficient isolation of the biochemical, their further analysis and utilization in bioactive measurements. Samples of <i>Saccharina latissima</i>, <i>Alaria esculenta</i>, <i>Ascophyllum nodosum</i> and <i>Fucus vesiculosus</i> were collected at three different locations, Reykjanes, Breiðafjörður and Eskifjörður, from March till October, in total six times. Method to isolate fucoidan and laminaran polysaccharides was developed. Total polyphenol content (TPC) was measured in all samples and bioactivity in selected samples. In addition, contaminants and iodine were analysed in selected samples. The TPC was high in <i>F. vesiculosus</i> and <i>A. nodosum</i> but rather low in <i>A. esculenta</i> and <i>S. latissima</i>. The antioxidant activity, measured as ORAC value and in cells, was high in samples containing high amount of TPC. <i>F. vesiculosus</i> and <i>A. esculenta</i> had anti-inflammatory properties. The results of the project have increased the knowledge about the utilization of seaweed in Iceland substantially.</p> | | |
| English keywords: | <i>Seaweed, polysaccharides, polyphenols, bioactivity, contaminants, iodine</i> | | |

Efnisyfirlit

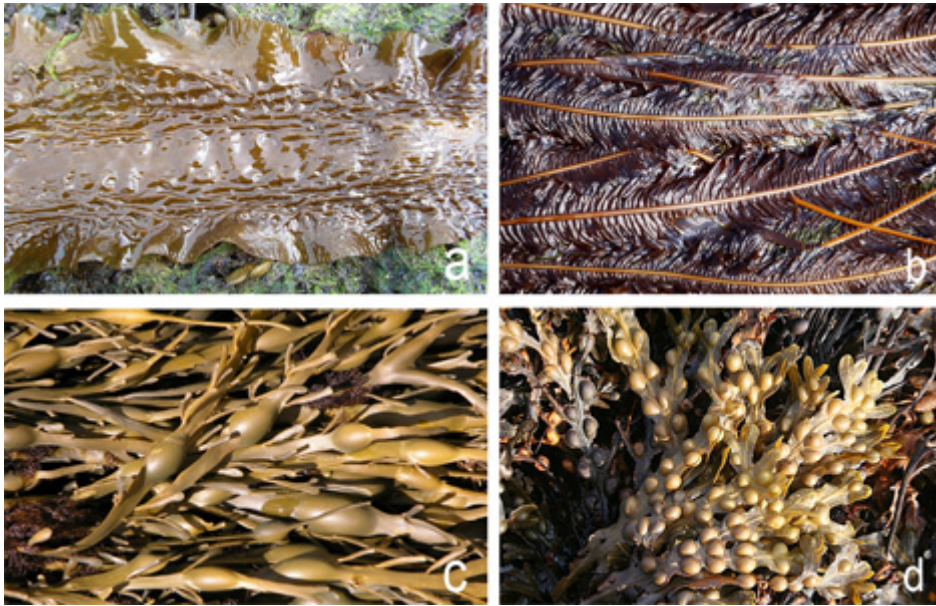
| | | |
|-------|--|----|
| 1. | INNGANGUR | 1 |
| 2. | SÖFUNUN SÝNA OG MÆLINGAR Á UMHVERFISÞÁTTUM | 4 |
| 2.1 | Sýnatökuleiðbeiningar..... | 4 |
| 2.2 | Brúnþörungasýni..... | 4 |
| 2.3 | Sýnasöfnunarstaðir..... | 7 |
| 2.3.1 | Sandgerði..... | 7 |
| 2.3.2 | Stykkishólmur..... | 11 |
| 2.3.3 | Reyðarfjörður/Eskifjörður..... | 13 |
| 2.4 | Sýnataka, vinnsla og meðhöndlun sýna | 15 |
| 2.5 | Umhverfisþættir..... | 15 |
| | Seltu- og næringarefnaeiningar sjávar | 18 |
| 3. | MAGNMÆLINGAR LÍFEFNA..... | 19 |
| 3.1 | Flórótannín..... | 19 |
| 3.2 | Fjölsykrur..... | 21 |
| 4. | IN VITRO LÍFVIRKNIMÆLINGAR | 22 |
| 4.1 | Lífvirkni þörungauádráttar | 22 |
| 4.1.1 | Aðferðir..... | 22 |
| 4.1.2 | Niðurstöður | 23 |
| 4.2 | Áhrif þörungauádráttar á þroskun og ræsingu angafrumna..... | 26 |
| 4.2.1 | Aðferðir | 26 |
| 4.2.2 | Niðurstöður | 27 |
| 4.2.3 | Samantekt og ályktun | 32 |
| 5. | MAGN ÞUNG MÁLMA OG JOÐS Í BRÚNÞÖRUNGUM | 33 |
| 5.1 | Introduction | 33 |
| 5.2 | Material and methods | 33 |
| 5.2.1 | Sampling and preparation of samples | 33 |
| 5.2.2 | Metals in brown seaweed | 33 |
| 5.2.3 | Inorganic contaminants and iodine | 33 |
| 5.3 | Results..... | 34 |
| 5.4 | Arsenic: An essential element for seaweed? | 39 |
| 6. | UMRÆÐA OG ÁLYKTANIR..... | 41 |
| 7. | ÞAKKARORÐ..... | 42 |
| 8. | HEIMILDIR..... | 43 |
| | VIÐAUKAR..... | 45 |
| | Ágrip fyrir veggspjaldakynningu á MIC ráðstefnu í Osló, september 2013..... | 46 |
| | Ágrip fyrir veggspjaldakynningu á IFT ráðstefnu í Chicago, júlí 2015..... | 47 |
| | Dagný Kristjánsdóttir. 2013. Utilization of Bioactive Polysaccharides from Brown Seaweeds..... | 48 |

1. Inngangur

Áhugi á nýtingu sjávarþörunga hefur aukist hér á landi síðustu ár en úr þeim má vinna ýmsar afurðir sem nýttar eru í matvælaiðnað, snyrtivöruíðnaði og til framleiðslu lífvirkra efna. Neytendur hneigjast í auknum mæli að notkun náttúrulegra lífvirkra efna og eru meira vakandi yfir notkun náttúrulegra efna í vörum (Jormalainen o.fl. 2003; Rioux o.fl. 2007). Vaxandi hópur neytenda leitar eftir matvælum með þekktu lífvirkni sem aðferð til að hafa fyrirbyggjandi áhrif á almenna sjúkdóma, s.s. hjarta- og krabbameinssjúkdóma, og almennt auka heilsu sína.

Stærri botnþörungar skiptast í þrjár meginfylkingar, rauð-, græn- og brúnþörunga. Mikill munur er á þessum fylkingum og eru þær lítið skyldar. Rannsóknir hafa sýnt að þörungaextrökt úr brúnþörungum eins og *Fucus vesiculosus*, hafa framúrskarandi andoxunavirkni til viðbótar öðrum einstökum eiginleikum (t.d. bólguhemjandi og vörn gegn sykursýki). Þörungaextrökt eru því mjög ákjósanlegur kostur sem fæðubót og innihaldsefni í snyrtivörur og matvæli. Vegna mikillar markaðseftirspurnar og mjög jákvæðra rannsóknaniðurstaðna á lífvirkni eru samkeppnismöguleikar þörungaextrakta miklir.

Beltisþari (*Saccharina latissima*) og marinkjarni (*Alaria esculenta*) eru í ættbálknum *Laminariales*, finnast frekar neðarlega í fjöru og kallast í almennu máli þari. Bólupang (*Fucus vesiculosus*) og klóþang (*Ascophyllum nodosum*) eru í ættbálknum *Fucales*, finnast í miðri fjöru og kallast í almennu máli þang. Þessar tegundir eru algengar við strendur Íslands og mikilvægar í vistfræði fjörunnar (Mynd 1). Lífefni gegna stóru hlutverki í afkomu brúnþörunga en hvert á sérstæðan hátt. Þannig tekur fucoxanthin þátt í ljóstillífun, fjölsykrur eru forðanæring og byggingareiningar og fjölfenól hafa hlutverk sem vörn gegn dýraáti og UV-ljósi. Lífvirkni þeirra er líka vel þekkt og getur hún verið fitubrennsla, bólgueyðing og jafnvel vörn gegn krabbameini svo eitthvað sé nefnt (Jormalainen o.fl. 2003; Rioux o.fl. 2007; Maeda o.fl. 2008; Bartsch o.fl. 2008).



Mynd 1. (a) Beltispari (*Saccharina latissima*), (b) marinkjarni (*Alaria esculenta*), (c) klóþang (*Ascophyllum nodosum*), (d) bólupang (*Fucus vesiculosus*). Myndirnar voru sóttar af eftirfarandi vefköngum: (a) <http://www.wildaboutbritain.co.uk/gallery/files/2/0/7/3/WABseabelt.jpg>, (b) http://www.seaweed.ie/_images/Alaesc4.jpg, (c) <http://www.unige.ch/sciences/biologie/biani/msg/teaching/photos%20liste/Ascophyllum%20nodosum.jpg>, (d) [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/80/Bladder_Wrack_\(Fucus_vesiculosus\)_-_geograph.org.uk_-_224125.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/80/Bladder_Wrack_(Fucus_vesiculosus)_-_geograph.org.uk_-_224125.jpg)

Fjölsykrur í brúnþörungum eru fucoidan, laminaran, mannitol, alginöt og beðmi. Þær flokkast annað hvort sem byggingareiningar eða forðanæring en gegna auk þess ýmsum öðrum hlutverkum. Fucoidan og laminaran vekja mestan áhuga. Þessi efni eru mjög margbreytileg, en gerð og magn þeirra er tegunda- og árstíðabundið.

Fucoidan er fjölsykra með súlfat hóp (e. sulfated polysaccharides) sem finnst í frumuvegg brúnþörungum og er fyrst og fremst byggingareining. Fucoidan hefur einnig ýmsa lífvirknieiginleika. Þar má nefna hindrun á blóðstorknun og blóðtappamyndun, vörn gegn vírusum, stilling ónæmiskerfis (e. immunomodulatory), bólguminnkun, minnkun á blóðfitu, andoxunaeiginleika, virkni gegn lifrar-, þvagfæra- og nýrnakvillum, hindrun á meinvarpi krabbameinsfruma, almenn hindrun á virkni þeirra og getur jafnvel sett í gang stýrðan frumudauða krabbameinsfruma (Cumashi o.fl. 2007; Li o.fl. 2008).

Laminaran er helsta forðanæring brúnþörungum og er algengari í þara en þangi. Laminaran hefur ekki eins mikla lífvirkni og fucoidan en þó má nefna dempun ónæmisviðbragðs, hindrun á sjálfvirkum frumudauða og hindrun á æxlismyndun (Rioux o.fl. 2010).

Brúnþörungar eru ríkir af **fjölfenólum** sem bera nafnið flórótannín (e. phlorotannin) en það er varnarefni í brúnþörungum sem finnst í sérstökum innanfrumublöðrum er kallast phytodes. Mikill breytileiki er innan tegunda, eftir árstíma og staðsetningu. Meira er af flórótanninum í þangi en þara og meira í brúnþörungum við tempruð hitaskilyrði en í heitum höfum. Flórótannín virkar sem vörn gegn UV-ljósi og myndar beltisþari meira flórótannín sem viðbragð við auknu UV-ljósi. Það virkar líka sem vörn gegn dýraáti og gegn örverum og hefur andoxunareiginleika (Bartsch o.fl. 2008; Pavia og Toth 200). Flórótannín hefur sterka lífvirkni en það hefur mælst með hugsanlega krabbameinsvarnandi virkni, andbólguvirkni, virkni gegn ofnæmi, blóðþrýstingslækkandi virkni, virkni gegn sykursýki og jafnvel virkni gegn HIV veirunni (Ahn o.fl. 2004; Cerantola o.fl. 2006; Jung o.fl. 2006; Shibata o.fl. 2007; Plaza o.fl. 2008).

Brúnþörungar taka upp þungmálma betur en rauð- eða grænþörungar (Hasim og Chu 2004) en vísbendingar eru um að þeir auki framleiðslu á fjölsykrum við aukið magn cadmíums og blýs í umhverfinu til þess að hindra upptöku þungmálmanna (Andrade o.fl. 2010). Þari er talin vera sú lífvera (plöntur og dýr) sem tekur upp mest joð. Þannig er að meðaltali 1,0% af þurrefnisinnihaldi í *Laminaria digitata* joð (Verhaeghe o.fl. 2008). Joð er mikilvægt fyrir virkni skjaldkirtilsins til að búa til hormónin thyroxine og tri-iodothyronine en þau eru mikilvæg fyrir efnaskipti í líkamanum. Skortur á joði getur leitt til ýmissa kvilla sem ganga undir samheitinu „iodine deficiency disorders“ (Andrade o.fl. 2010).

Þessi skýrsla greinir frá helstu niðurstöðum verkefnisins 'Áhrif vistfræði þangs og þara á lífvirk efni þeirra og nýtingu' sem hafði það að markmiði að rannsaka áhrif umhverfisþátta á magn og lífvirkni fjölsykra og fjölfenóla í beltisþara, marinkjarna, klóþangi og bóluþangi til að auka þekkingu á vist- og efnafræði þessara tegunda fyrir hagkvæmari einangrun lífefna, nánari greiningu þeirra og nýtingu til lífvirknimælinga. Skýrslunni er skipt upp í fimm kafla, fyrir utan inngang, sem byggjast á verkþáttum (VP) verkefnisins, þ.e. 2. kafli sem fjallar um söfnun sýna og mælingar á umhverfisþáttum (VP1), 3. kafli um magnmælingar lífefna (VP 2), 4. kafli um lífvirkni lífefna (VP 4), og 5. kafli um innihald þungmálma og joðs (VP5).

2. Söfunun sýna og mælingar á umhverfisþáttum

Sýni af beltispara, marinkjarna, bólupangi og klóþangi (Mynd 1a-d) voru tekin á þremur stöðum á landinu; á norðanverðu Reykjanesi, í Breiðafirði og í Reyðarfirði og Eskifirði, alls sex sinnum yfir árið, frá mars til júní, í ágúst og október.

2.1 Sýnatökuleiðbeiningar

Hér fyrir neðan eru leiðbeiningarnar sem farið var eftir við sýnatöku á brúnþörungum og sjósýnum. Halldór Benediktsson tók sýni við Sandgerði, Símon Sturluson hjá Íslenskri bláskel og sjávargróðri ehf tók sýni við Breiðafjörð og starfsmenn Náttúrustofu Austurlands tóku sýni við Reyðarfjörð og Eskifjörð.

2.2 Brúnþörungasýni

Einn söfnunarstaður er fjara sem er allt að 250 m á breidd eða lengd. Þörungar verða að vera rótfastir þegar þeir eru tíndir og á þeim stað í fjöru þar sem er eðlilegt að finna þá.

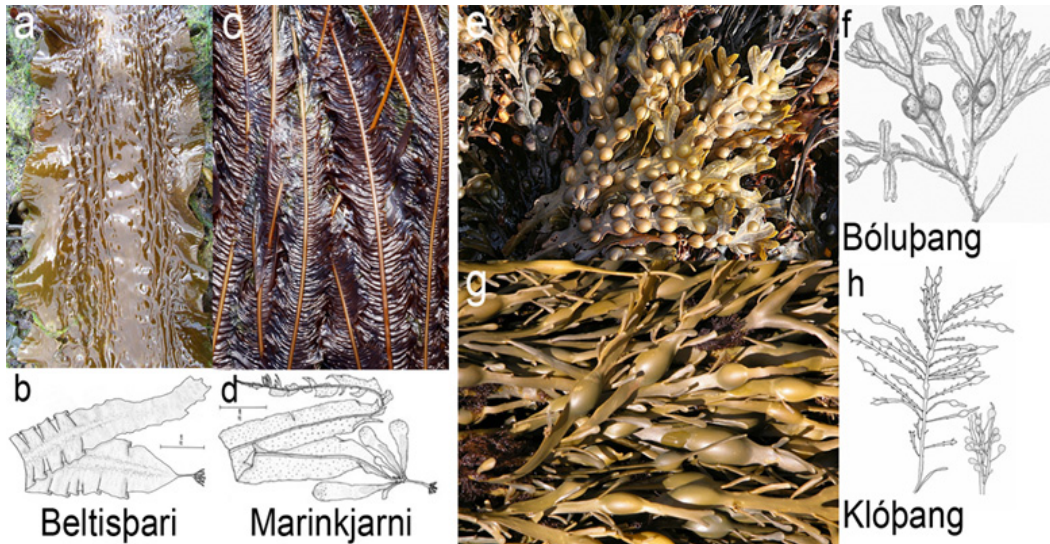
1. Eitt sýni eru fjórir eða fleiri aðskildir einstaklingar af hverri tegund.
2. Hafa a.m.k. 2 metra á milli einstaklinga til að hafa mismunandi arfgerðir.
3. Hvert sýni þarf að vera að lágmarki 3 kg.
4. Setja sýni í poka og í frauðplastkassa, með smá klökum/ís (í sér plastpoka) með.
5. Taka sjósýni fyrir næringarefna- og seltumælingar.

Beltispari (*Saccharina latissima*) og **marinkjarni** (*Alaria esculenta*)

Taka blöðkur sem eru lengri en 50 cm, mælt frá festu til brodds (Mynd 2). Skera þarf alveg við steininn þar sem festan er. Ef það er ómögulegt, þá að skera eins neðarlega og hægt er. Passa að hreinsa steinvölur og annað drasl úr festu eða allt sem þyngir óþarflega. Reyna að velja plöntur sem eru án ásætna eða með lítið af þeim. Sýnin af beltispara- og marinkjarna þurfa að vera að lágmarki 3,5 kg hvort.

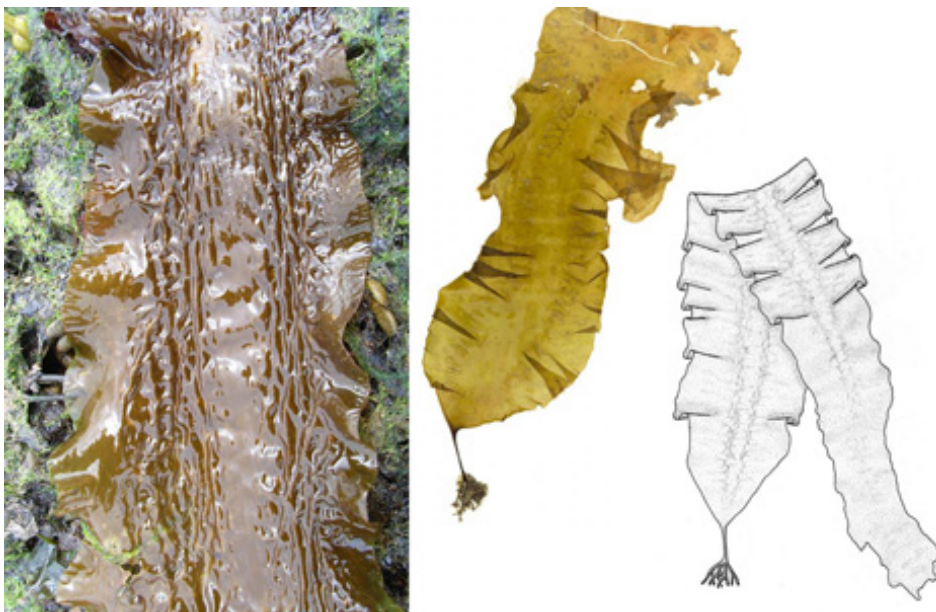
Bólupang (*Fucus vesiculosus*) og **klóþang** (*Ascophyllum nodosum*)

Taka margkvíslgreinda einstaklinga sem eru að lágmarki 30 cm að lengd (Mynd 2). Skera þarf rétt neðan við grein sem er næst festu. Það er óþarfi að taka festuna með því upp af henni geta nýjar blöðkur vaxið.



Mynd 2. Beltispari (a og b), marinkjarni (c og d), bólupang (e og f) og klóþang (g og h).

Beltispari: Ein löng blaðka sem hefur ekki miðstreng en rís upp af sívölum og sléttum stilk (Mynd 3). Er bylgjóttur á hliðunum og oft tættur á efri enda. Gulbrúnn að lit. Festan er lítil og kvíslgreind. Beltispari getur verið allt að 4 m langur, en algeng lengd er frá 1 til 1,5 m. Finnst neðarlega í fjöru.



Mynd 3. Beltispari (*Saccharina latissima*).

Marinkjarni: Ein löng, þunn og bylgjótt blaðka með greinilegum miðstreng sem gengur niður í stilk (Mynd 4). Á stilknum er röð af litlum gróblöðkum sitt hvorum megin. Marinkjarni er frá 30 cm til 1,5 m að lengd og finnst neðarlega í fjörunni.



Mynd 4. Marinkjarni (*Alaria esculenta*).

Bólupang: Mjóar, kvíslgreindar blöðkur með greinilegum miðstreng, að mestu flatar en með bólum (með holrými) sem eru oftast í pörum (Mynd 5). Brúnir eru sléttar. Það er ekki snúningur á blöðkum eins og í klapparþangi en því er oft ruglað saman við bólupang. Ef æxlunarfæri eru til staðar, þá eru þau á endum greinanna og eru stórar, sívalar og bólgnar bólur með litlum deplum á víð og dreif.



Mynd 5. Bólupang (*Fucus vesiculosus*).

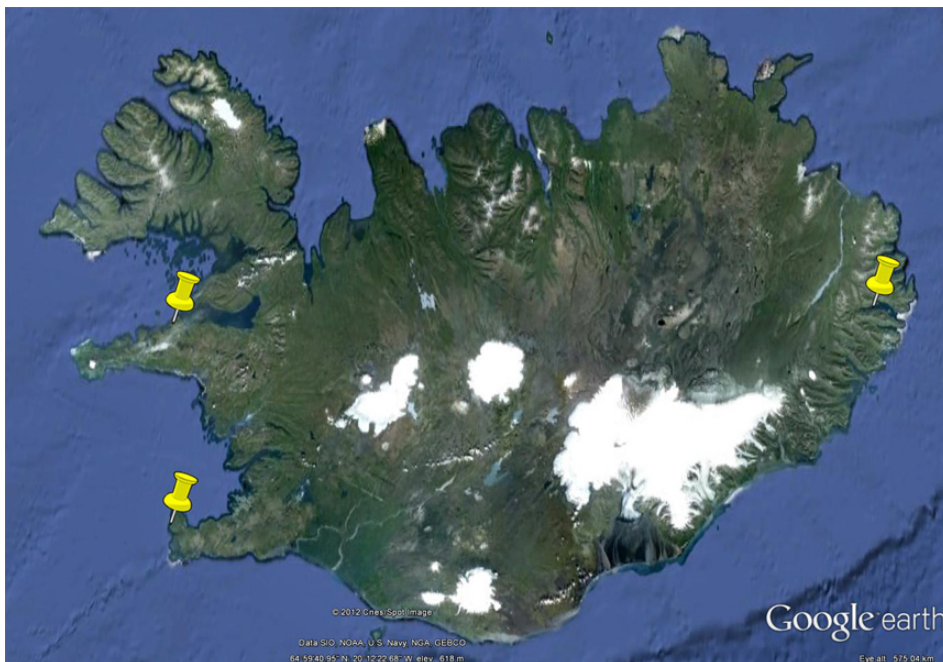
Klóþang: Mjóar, kvíslgreindar blöðkur, án miðstrengs, sporöskjulaga í þverskurði. Hliðargreinar vaxa út úr hliðum aðalstofnsins (Mynd 6). Stórar, stakar bólur (með holrými) með ákveðnu millibili á greinunum. Ef æxlunarfæri eru til staðar vaxa þær út úr hliðum greinanna sem litlir hnattlaga sekkir með stilk.



Mynd 6. Klóþang (*Ascophyllum nodosum*).

2.3 Sýnasöfnunarstaðir

Sýni voru tekin á þremur stöðum á landinu, þ.e. við Sandgerði, við Stykkishólm í Breiðafirði og í Reyðarfirði/Eskifirði (Mynd 7).



Mynd 7. Sýnatökusvæðin þrjú í kringum Ísland, merkt með gulum teiknibólum. Mynd tekin í Google earth.

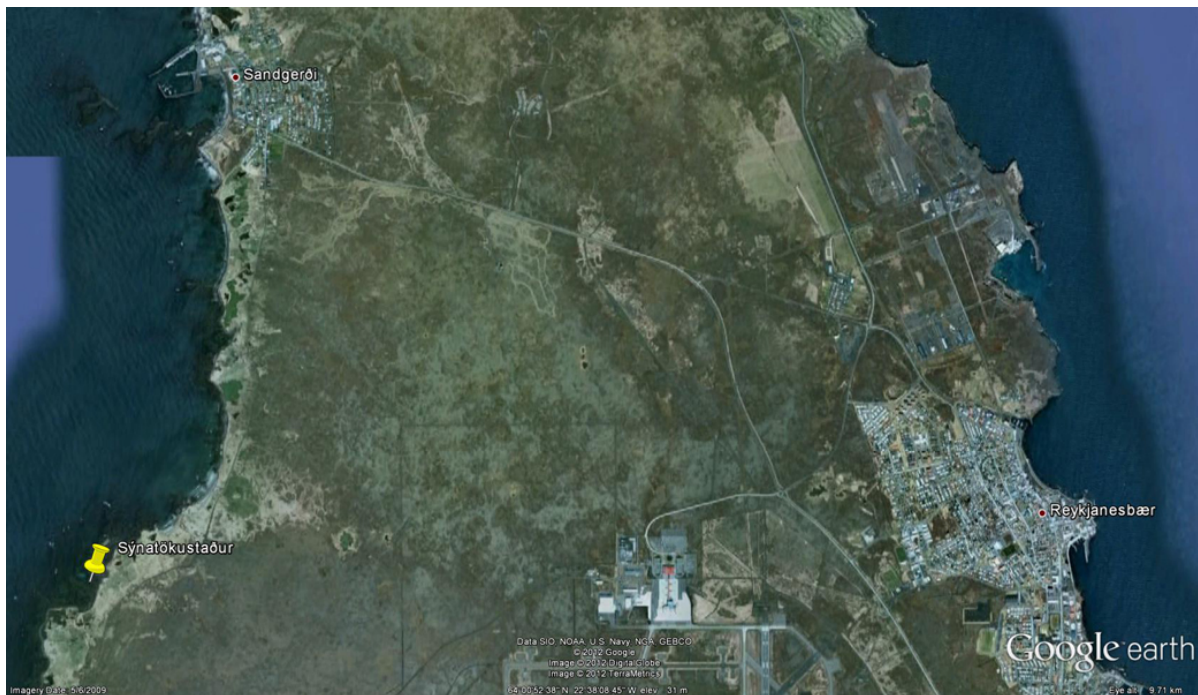
2.3.1 Sandgerði

Sýnatökustaðurinn við Sandgerði var um það bil 4,5 km frá Sandgerði í suðurátt, vestast á Reykjaneskaganum (Mynd 8 – 12). Fjaran þar er mjög víðfeðm og fjölbreytt sem er einkenni landrofs. Stórir hryggir eru í fjörunni og sá sem er næst landi hefur landgróður á sér sem

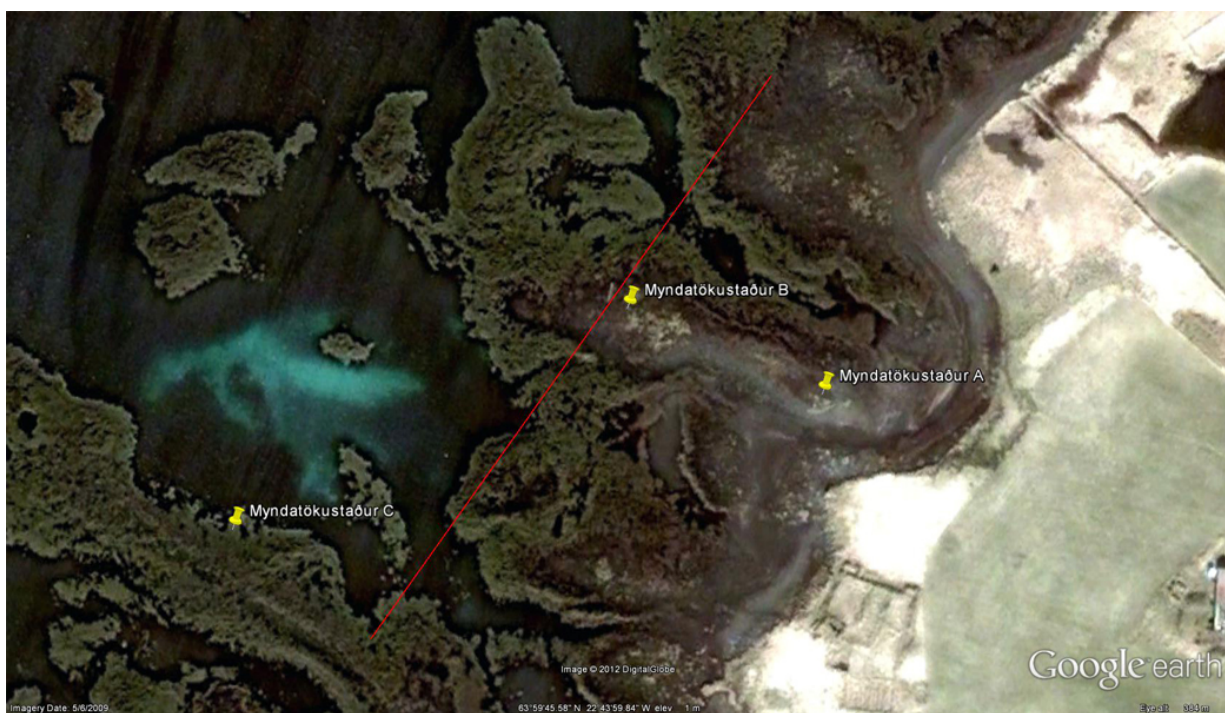
myndar litla eyju í flóði. Hægt er að sjá leifar bátarennu sem er um 50 m frá landi á einum hryggnum sem undirstrikar landrofið. Milli hryggjanna myndast stöðuvatn þegar fjara tekur og mikið er af þara á milli en sjórinn nær þá ekki að flæða jafn hratt út og sjávarhæð segir til um sem veldur þessari myndun stöðuvatns. Það er þó stöðugt flæði út sem er eins og flæðandi á. Þetta skapar frekar sérstök skilyrði fyrir þörungana þar á milli sem eru aðallega hrossapari (*Laminaria digitata*) og beltispari (*Saccharina latissima*). Án flæðisins væri vöxtur þarans líklega ekki eins áberandi.

Bólupangið (*Fucus vesiculosus*) er mjög strjált og er í meira magni nær landi. Það er þó hægt að finna það á hryggjunum lengra frá landi en allsstaðar á svipuðu beltí. Klóþangið (*Ascophyllum nodosum*) er út um allt en aldrei mjög neðarlega í beltaskiptingunni. Beltisparann er hægt að finna næstum allsstaðar í lægsta beltinu inn á milli hrossapara. Marinkjarninn (*Alaria esculenta*) er mikið strjálí og fannst aðeins nálægt landi í lægsta beltinu í apríl og maí, annars finnst hann bara langt frá landi, meira en 300 metra.

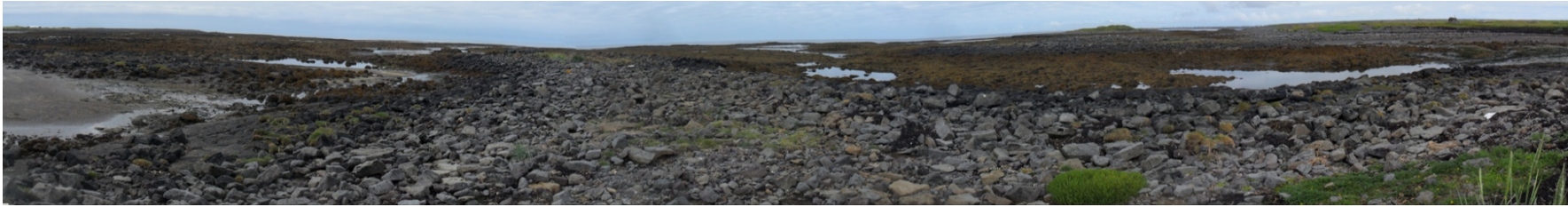
Helstu aðrar tegundir sem hægt er að sjá eru dvergþang (*Pelvetia canaliculata*) aðeins nálægt landi í efsta beltinu, klapparþang (*Fucus spiralis*) líka aðeins nálægt landi í efsta beltinu, skúfþang (*Fucus distichus*) strjálí en bólupang, sagþang (*Fucus serratus*) mjög algengt og er frekar neðarlega, neðar en bólupang og eiginlega í sama beltí og þarnir. Nokkuð var um söl (*Palmaria palmata*), þangskegg (*Polysiphonia lanosa*), purpurahimnur (*Porphyra spp.*), maríusvuntu (*Ulva lactuca*) og fleiri tegundir af brún-, græn- og rauðþörungum sem uxu að mestu í maí og júní en hurfu svo í ágúst og október.



Mynd 8. Sýnatökustaður 4,5 km frá Sandgerði. Mynd tekin í Google earth. Norður er beint upp.



Mynd 9. Nærmynd af sýnatökustað við Sandgerði. Rauða línan er 250 metrar að lengd. Teiknibólurnar merkja hvar myndir 9, 10 og 11 voru teknar. Mynd tekin í Google earth. Norður er beint upp.



Mynd 10. Myndatökustaður A á mynd 8.



Mynd 11. Myndatökustaður B á mynd 8.



Mynd 12. Myndatökustaður C á mynd 8. Nærmynd af þara, smá klóþangi og sagþangi ásamt ýmsu öðru.

2.3.2 Stykkishólmur

Sýnatökustaðurinn í Breiðafirðinum var um það bil 4,3 km frá Stykkishólmi í vesturátt alveg við Skjaldarvatn og á mótí Kiðey (Mynd 13 – 18). Þetta er dæmigerð aflíðandi fjara með greinilega beltaskiptingu.



Mynd 13. Sýnatökustaður 4,3 km frá Stykkishólmi. Mynd tekin í Google earth. Norður er beint upp.



Mynd 14. Nærmynd af sýnatökustað við Stykkishólm. Rauða línan er 250 m. Mynd tekin í Google earth. Norður er beint upp.



Mynd 15. Breiðafjörður, mynd tekin í vesturátt.



Mynd 17. Breiðafjörður, beltispari undir vatni og smá klóþang.



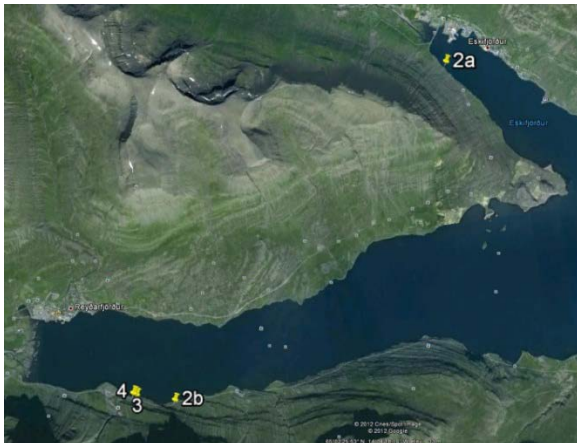
Mynd 16. Breiðafjörður, mynd tekin í norðurátt.



Mynd 18. Breiðafjörður, mynd tekin neðarlega í fjöru í norðurátt.

2.3.3 Reyðarfjörður/Eskifjörður

Sýnatökustaðirnir í Reyðarfirði og Eskifirði voru á fjórum mismunandi stöðum þar sem einn staður telst vera 250 m strandlengja (Mynd 19 – 25). Sýnatakan í Reyðarfirði og Eskifirði dreifðist á nokkur svæði í fjörðunum. Fyrsta sýnatakan var alveg við mynni Eskifjarðar bæjarmegin, sýnataka númer tvö byrjaði í Eskifirði beint á móti bænum en það þurfti að fara inn í Reyðarfjörð á móti bænum þar til að klára þar sem klóþang fannst ekki. Sýnataka þrjú, fjögur og fimm voru líka inn í Reyðarfirði á móti bænum en aðeins innar.



Mynd 19. Reyðarfjörður og Eskifjörður, fjórir sýnatökustaðir. Norður er beint upp.



Mynd 21. Reyðarfjörður, nærmynd af sýnatökustöðum 2b, 3 og 4, rauða línan er 250m. Norður er beint upp.



Mynd 20. Eskifjörður, nærmynd af sýnatökustöðum 1 og 2a, rauða línan er 250 m. Norður er beint upp.



Mynd 22. Eskifjörður, sýnatökustaður 2a, mynd tekin í norðurátt.



Mynd 24. Reyðarfjörður, nærmynd af sýnatökustað 3, mynd tekin í maí í norðvesturátt.



Mynd 23. Reyðarfjörður, mynd af sýnatökustöðum 2b, 3 og 4, tekin í austurátt í apríl.



Mynd 25. Reyðarfjörður, nærmynd af sýnatökustað 4, mynd tekin í júní í norðvesturátt.

2.4 Sýnataka, vinnsla og meðhöndlun sýna

Til einföldunar verða sýnatökustaðirnir kallaðir Sandgerði, Eskifjörður og Stykkishólmur. Hér er gerð grein fyrir hvernig tókst til við sýnatökuna á hverjum stað fyrir sig og fyrir hvern mánuð og hvernig tókst til við vinnslu sýna.

Upphaflega átti að frostþurrka öll sýni að fullu en magn sýna var það mikið að það borgaði sig ekki að frostþurrka allt saman. Því var ákveðið að skipta öllum sýnum til helminga, frostþurrka helminginn og frysta hinn. Hvert sýni fyrir sig var gert einsleitt áður en því var skipt til helminga með því að skera blöðkurnar þversum með 2-4 cm millibili og blanda bitunum vel saman. Allt að 1400g af hverju sýni var svo sett í frostþurrkun og afgangurinn í frysti.

Merkjakerfi var búið til fyrir öll sýni þar sem fyrstu tveir stafirnir standa fyrir sýnatökustað, talan í miðjunni táknar númer mánaðar á árinu og seinustu tveir stafirnir standa fyrir tegundina. Dæmi: SA3AE, en SA stendur fyrir Sandgerði, 3 stendur fyrir mars og AE stendur fyrir *Alaria esculenta* sem er marinkjarni.

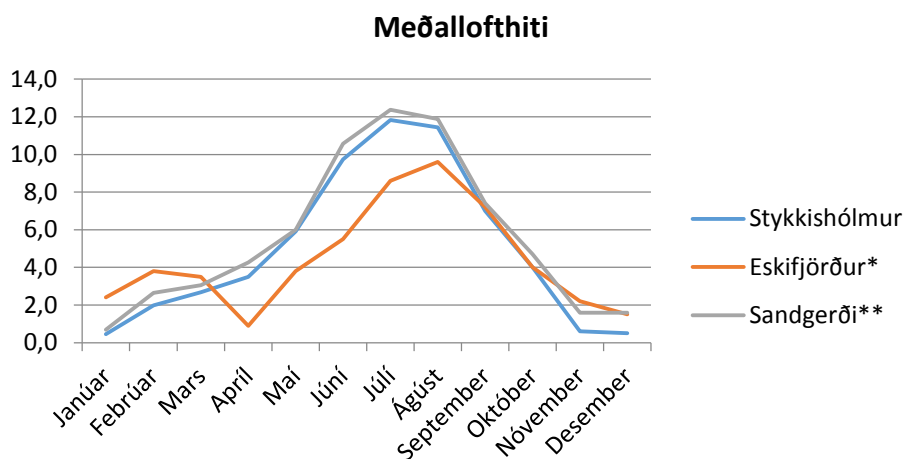
Eftir vinnslu á hverju sýni voru öll helstu atriði sem gætu skipt máli skrifuð niður. Fjöldi og gerð ásæta (lítið, nokkuð, mikið o.s.frv.), um það bil lengd allra einstaklinga (meðallengd, lengsti og stysti) og ýmislegt fleira. Sumar breytur eru bara bundnar við þara eða þang og sumar jafnvel bara við eina af fjórum tegundum en flestar breytur eiga við allar tegundirnar, bara mismikið. Þessar lýsingar verða svo notaðar til að búa til raðgildi fyrir hverja breytu sem er hugsanlega hægt að nota við mat á stressvöldum.

2.5 Umhverfisþættir

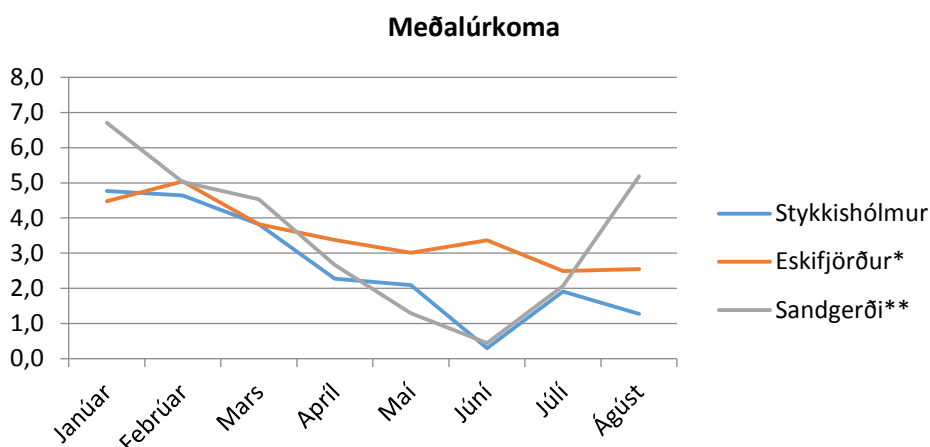
Stressvaldandi umhverfisaðstæður stórbrúnþörungum eru tvennskonar, ólífrænar og lífrænar. Vindur, rigning, öldugangur, hiti, selta, ljósstyrkur, eiturefni og ástand næringarefna eru dæmi um ólífrænar umhverfisaðstæður sem geta valdið stressi. Ljósstyrkur og hiti geta valdið stressi, þ.e. í of litlu og of miklu magni. Logn og ládeyða geta líka haft óbein áhrif. Ásætur og bakteríur eru oft í meira magni þar sem er lítil sem engin hreyfing á vatninu sem gerist í logni og/eða á afmörkuðum sjávarsvæðum. Of mikil næringarefni geta líka valdið óbeinum slæmum áhrifum, t.d. ef ágeng tegund nær að blómstra og taka þannig næringarefni eða pláss frá brúnþörungum. Í flestum tilfellum leiða allir þessir stressvaldar til truflunar í ljóstillífun og hamla vexti þörungana. Tegundir sem eru ofar í fjöru þurfa að kljást við fleiri stressvaldandi

þætti en tegundir sem eru neðar í fjöru eða koma sjaldan undan sjónum. Það kemur líka í ljós að tegund eins og *Laminaria solidungula* þolir verr stress en *L. digitata* en hin síðarnefnda er ofar í fjörum (Bartsch et al., 2008). Lífrænir stressvaldar eru margskonar en það er aðallega ágangur annarra lífvera svo sem ásætur, þörungætur eða bein samkeppni um næringarefni og pláss. Aukið þol gegn stressvöldum hefur líklega fylgni við aukið magn fucoxanthins, annars stigs fjölsykra og fjölfenóla ásamt öðrum andoxunarefnasamböndum (Bartsch et al., 2008).

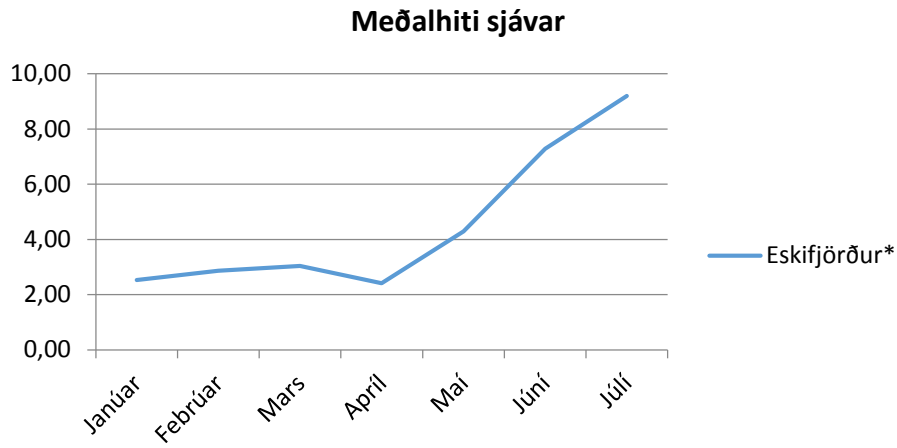
Þeir umhverfispættir sem voru metnir eru hiti sjávar, lofthiti, úrkoma, selta, vindur (sem segir til um öldugang), ljósmagn, ásætur og dýraát. Mynd 26 sýnir meðallofthita nálægt söfnunarstöðum árið 2012 en hann var mjög svipaður í Sandgerði og Stykkishólmi allt árið en þó nokkuð kaldara var fyrir austan á tímabilinu apríl til ágúst. Mynd 27 og Mynd 28 sýna meðalúrkomu og meðalhita sjávar við Eskifjörð, á tímabilinu janúar til ágúst en ekki tókst að fá gögn fyrir októbermánuð sem var síðasti söfnunarmánuðurinn.



Mynd 26. Meðallofthiti fyrir hvern mánuð. * mæling á Dalatanga. ** mæling í Keflavík.



Mynd 27. Meðalúrcoma fyrir hvern mánuð. * mæling á Neskaupsstað. ** mæling í Keflavík.



Mynd 28. Meðalhiti sjávar, mæling frá Neskaupsstað.

Seltu- og næringarefna mælingar sjávar

Seltumælingar voru gerðar með Guildlineautosal 8400B og næringarefna mælingar voru gerðar með Seal AA3 og AACE 6.05 forriti, hjá Hafrannsóknarstofnun.

Tafla 1. Seltu- og næringarefna mælingar árið 2012 á þremur stöðum á Íslandi og sex mismunandi tímum.

| Mánuður | Staður | Sýni | Nítrat µmol/L | Fosfat µmol/L | Kísill µmol/L | Selta g/kg |
|---------|-------------------------------|------|------------------|------------------|------------------|---------------|
| Mars | | ST3 | 12,53 | 0,92 | 13,38 | 31,313 |
| Apríl | | ST4 | 4,41 | 0,54 | 7,97 | 32,027 |
| Mái | Stykkishólmur | ST5 | 0,68 | 0,23 | 1,12 | 34,437 |
| Júní | | ST6 | 0,24 | 0,15 | 0,68 | 34,337 |
| Ágúst | | ST8 | 0,26 | 0,28 | 1,10 | 34,848 |
| Október | | ST10 | 3,45 | 0,60 | 7,06 | 34,440 |
| Mars | | SA3 | n/a | n/a | n/a | n/a |
| Apríl | | SA4 | 1,12 | 0,45 | 9,20 | 34,025 |
| Mái | Sandgerði | SA5 | 0,50 | 0,40 | 2,30 | 34,380 |
| Júní | | SA6 | 0,37 | 1,15 | 2,75 | 34,478 |
| Ágúst | | SA8 | 0,47 | 0,37 | 3,21 | 34,337 |
| Október | | SA10 | 1,33 | 0,57 | 9,15 | 34,251 |
| Mars | | ES3 | 6,47 | 0,64 | 8,31 | 33,745 |
| Apríl | | ES4 | 5,30 | 0,52 | 6,20 | 33,681 |
| Mái | Eskifjörður/ Reyðarfjörður | ES5 | 2,97 | 0,81 | 20,65 | 29,377 |
| Júní | | ES6 | 0,40 | 1,78 | 75,00 | 8,580 |
| Ágúst | | ES8 | 0,30 | 0,29 | 45,08 | 27,445 |
| Október | | ES10 | n/a | n/a | n/a | 31,941 |

Líklegasta skýringin á mjög háu magni af kísilefnum og mjög lágru seltu í júní í Reyðarfirði er mikil úrkoma og rennsli vatns til sjávar (Tafla 1). Selta sjávar og magn næringarefna getur haft áhrif á vöxt þörunga og magn fylgiefna (e. secondary metabolites). Há eða lág selta getur verið streituvaldandi fyrir þörunga en lág eða lægri selta er nokkuð algeng í fjörum. Rigning ásamt fráfalli vatns til sjávar er það sem helst veldur lágru seltu sem er sérstaklega slæmt í háfjörum. Skólp getur líka haft þar áhrif ef það fær að renna stutt frá fjöru. Há selta er ekki algeng við strendur Íslands en það kemur fyrir ef mikil uppgufun er vegna hita eða ef sjórinn frýs (Bartsch o.fl. 2009).

Aðlögunarhæfni stórbrúnþörunga er mikil gagnvart sveiflum í seltu og hita en það er ekki nema við mjög lága seltu (undir 20 p.s.u.) og hita yfir 16°C að lífvænleiki þeirra minnkar svo um munar (Fredersdorf o.fl. 2009).

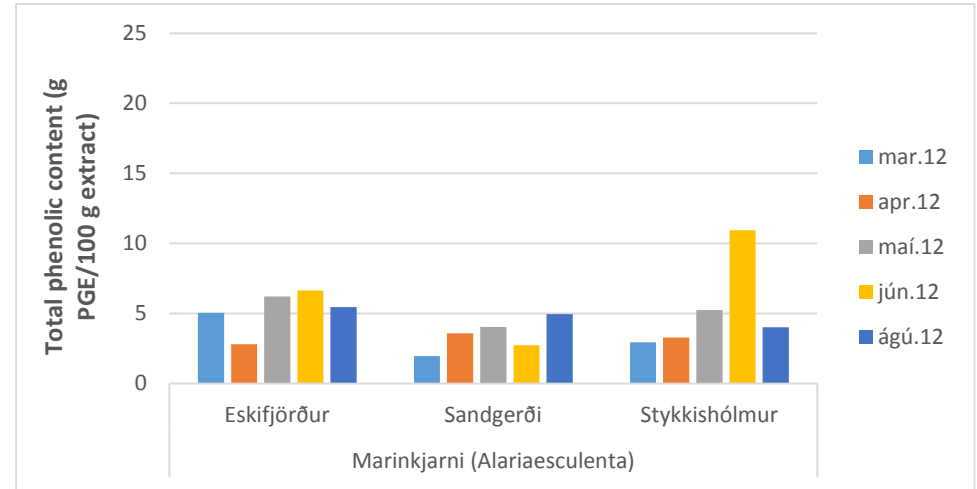
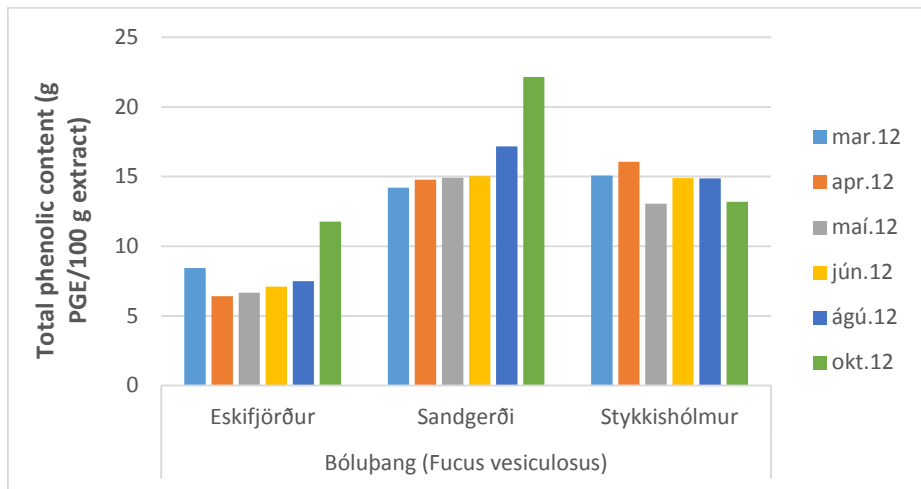
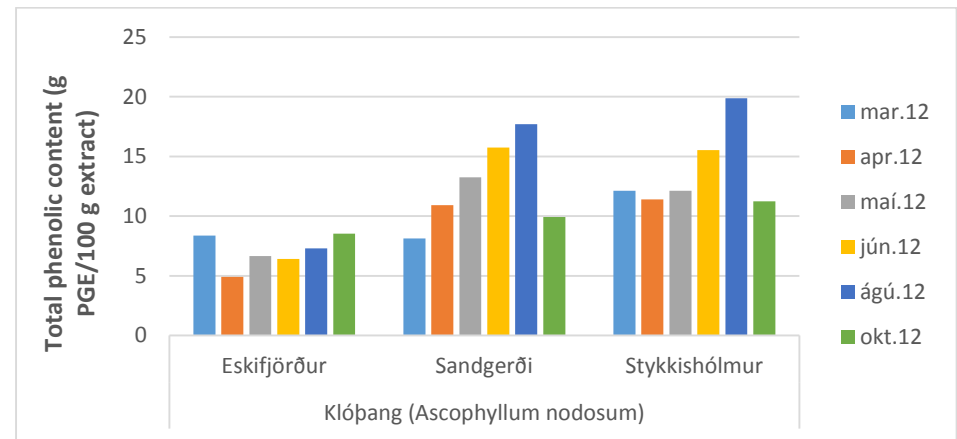
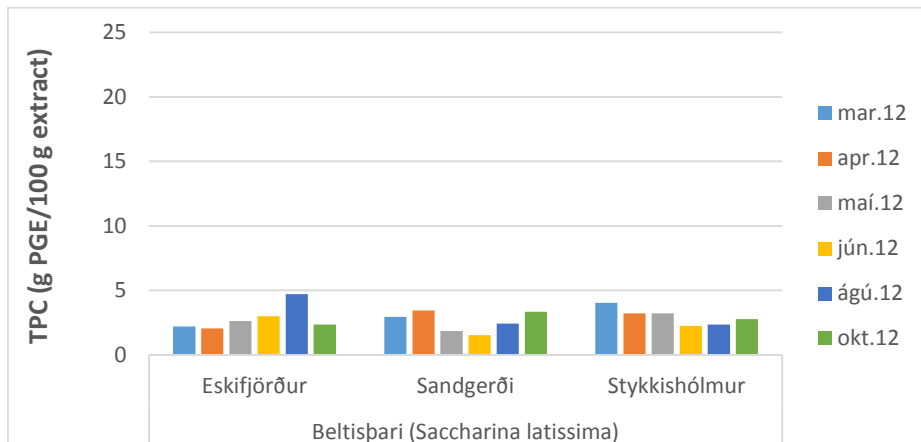
3. Magnmælingar lífefna

3.1 Flórótannín

Mælingar á fjölfenólum eða flórótannínum í brúnþörungum voru gerðar með Folin-Ciocalteu aðferð. Í stuttu máli er aðferðin þannig að 1 g af þurrkuðu þangi/þara er blandað saman við 40 ml af 70% acetone, sett í hristara í 24 tíma við u.þ.b. 200 rpm og síðan í skilvindu við 3500 rpm í 10 mín. Vökvinn er svo síaður með sögi í gegnum whatman #4 filter. Megnið af acetone tekið með inngufun og svo restin með því að geyma í stinkskáp. Vatnslausn sem verður eftir er frostþurrkuð, duftið leyst upp í þekktu rúmmáli og 1 ml af vökvanum blandað við 5 ml (10% styrk) Folin-Ciocalteu reagent, beðið í 5 mínútur og 4 ml (7,5% styrk) NaCO_3 sett útí og blandan látin standa í 2 klst. Að lokum er ljósgleypni mæld við 725 nm og gildin borin saman við phloroglucinol stillingarkúrfu. Niðurstöður eru settar fram sem grömm af phloroglucinol equivalent (PGE) í 100 g af þörungaútdrætti.

Mynd 29 sýnir að bólupang og klóþang hafa margfalt meira magn fjölfenóla en marinkjarni og beltisþari. Magnið var ávallt undir 5 g PGE/100g í beltisþara og svipað eða örlítið hærra í marinkjarna. Heildarmagn fjölfenóla jókst í bólupangi og klóþangi eftir því sem leið á árið, með einhverjum undantekningum, og var að jafnaði aðeins hærra í bólupangi. Magnið var marktækt lægra í þangi frá Eskifirði samanborið við þang frá Sandgerði og Stykkishólmi (Mynd 29).

Flórótannín eru fjölfenól sem finnast bara í brúnþörungum og eru fyrst og fremst annars stigs lífefni. Þau hafa takmarkað hlutverk í uppbyggingu frumuveggs og eitt megin hlutverk þeirra er að verja þörunginn gegn dýraáti og niðurbroti örvera en þau virka líka sem vörn gegn útfjólubláu ljósi og geta klófest (e. chelation) málmjónir (Koivikko, 2008). Flórótannín eru C-based varnarefni í brúnþörungum. Það er mikill breytileiki innan tegunda, í tíma og í rúmi (hvar í ákveðinni plöntu). Eitt mikilvægt módel sem útskýrir þennan breytileika er Carbon Nutrient Balance Model (CNBM) en það setur fram þá staðhæfingu að hlutfallslegt magn kolefnis og takmarkandi næringarefni ákveði á hvaða stigi varnarefnin eru á. Nitur er oftast talið vera stærsta takmarkandi næringarefnið fyrir vöxt stórbrúnþörunga og CNBM spáir þar af leiðandi því að þegar hlutfall kolefnis á móti nitur er hátt að kolefni sem er bundið í gegnum ljóstillífun fari í að búa til varnarefni (Pavia & Toth, 2000).



Mynd 29. Heildarmagn fjölfenóla (TPC, total polyphenol content) í beltispara, bólupangi, klóþangi og marinkjarna sem safnað var á Eskifirði, í Sandgerði og við Stykkishólm. Söfnunarmánuðir voru mars, apríl, maí, júní, ágúst og október 2012.

3.2 Fjölsykrur

Sykrur eru grundvallar byggingareiningar þörunga og plantna, þjóna mikilvægu hlutverki sem forðanæring þeirra og eru samþættar mörgum lífefnum þar með talið kjarnsýru, proteoglycans og glycolípíðum. Bygging sykra er þrennskonar, ein-, fá- og fjölsykrur. Fásykrur er tvær eða fleiri einsykrur tengdar saman með glýkósíð tengjum (glycosidic bonds) en takmarkast við stuttar keðjur. Tvísykrur eru algengustu fásykrurnar. Stærri keðjur af einsykrum og flóknari uppbygging flokkast sem fjölsykrur en línan er dregin við 20 eða fleiri einsykrur (Nelson & Cox, 2004).

Í þessu verkefni var þróuð aðferð við að einangra fucoidan og laminaran úr *F. vesiculosus* og *A. nodosum*. Stuðst var við nýjustu heimildir við þróun og uppsetningu aðferðarinnar. Þessi hluti var sumarverkefni Dagnýjar Kristinsdóttur nemanda við HÍ og má finna lokaskýrsluna „Utilization of bioactive polysaccharides from brown seaweeds“ í viðauka.

4. *In vitro* lífvirknimælingar

4.1 Lífvirkni þörungaútdráttá

Til að rannsaka lífvirkni lífefna sem einangruð voru úr þörungunum var *in vitro* lífvirkni metin með nokkrum kemískum prófum sem framkvæmd eru í tilraunaglössum sem og prófum í frumulíkönnum. Ákveðið var að velja einungis sýni frá Sandgerði sem safnað var í maí 2012 enda mælingarnar tímafrekar og kostnaðarsamar.

4.1.1 Aðferðir

Eftirfarandi próf voru notuð:

Fjölfenól – flórótannín

Fjölfenól innihald sýnanna var mælt með Folin-Ciocalteu hvarflausn og borið saman við staðla af gallínsýru og flóróglúsinóli.

Andoxunarpróf:

In vitro kemísk próf

- Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)
- 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity
- metal chelating capacity
- reducing power ability

In vitro frumupróf

- hindrun á AAPH-induced cellular ROS generation í HepG2 (hepatoma) frumum, CAA
- Áhrif afurðanna á frumudauða verða prófaðar með alamarBlue® prófi (Invitrogen, CA, USA).

Blóðsykurslækkandi virkni:

- α -glúkósíðasa hemjandi virkni.
- α -amýlasa hemjandi virkni.

Bæði þessi ensím taka þátt í niðurbroti og upptöku sykurs úr meltingarveginum.

Blóðþrýstingslækkandi áhrif:

- mæld með því að kanna virkni lífefnanna til að hindra „Angiotensin Converting“ ensímið sem er lykilensím í stjórnun á blóðþrýstingi.

Kólesterólækkandi áhrif í frumumódeli. HepG2 frumur eru meðhöndlaðar með próteinafurðum og heildarkólesterólmagn í frumunum ákvarðað með hjálp kits frá Calbiochem® (Novobiochem, San Diego, CA).

Matrix málmpróteasa (MMP) 2 og 9 lækkandi virkni í HT1080 húðfrumum var skoðuð með hjálp gelatín zymography tækni. Frumur voru meðhöndlaðar með lífefnum leystum upp í æti. Frumupróteinin eru rafdreigin í sérstöku geli sem innheldur gelatín þar sem virkni MMP er metin.

4.1.2 Niðurstöður

Heildarmagn fjölfenóla var, líkt og áður hefur komið fram, mun hærra í klóþangi (SA5AN) og bólupangi (SA5FV) samanborið við marinkjarna (SA5AE) og beltispara (SA5SL) (Tafla 2). Niðurstöðurnar sýna þó hærra magn TPC heldur en kemur fram í Mynd 29 sem skýrist fyrst og fremst af því að sýnin voru mæld af mismunandi persónum á mismunandi rannsóknarstofum (Matís í Reykjavík og á Sauðárkróki). Skýrt samband er á milli ORAC gilda og TPC, þar sem hátt ORAC gildi mælist í sýnum með miklu innihaldi af fjölfenólum (Tafla 2). ORAC gildin eru í samræmi við aðar mælingar sem gerðar hafa verið á t.d. bólupangi hjá Matís.

Tafla 2. Heildarmagn fjölfenóla (TPC), andoxunarvirkni (ORAC) í sýnum sem safnað var í Sandgerði í maí. Niðurstöður eru gefnar upp sem meðaltal þriggja mælinga ± staðfrávik.

| Sýni | GAE ¹ | PGE ² | ORAC ³ |
|-------|------------------|------------------|-------------------|
| SA5AE | 3,3 ± 0,3 | 5,9 ± 0,5 | 1128 ± 71,3 |
| SA5AN | 16,7 ± 1,0 | 27,8 ± 1,6 | 2442 ± 69,2 |
| SA5FV | 15,0 ± 1,0 | 25,0 ± 1,6 | 2339 ± 72,2 |
| SA5SL | 1,7 ± 0,4 | 3,3 ± 0,6 | 1110 ± 140,1 |

¹TPC g gallic acid equivalent (GAE)/100g sýni

²TPC in g phloroglucinol equivalent (PGE)/100g sýni

³µmol Trolox equivalents (TE)/g sýni

Sýnin voru prófuð í mennskum lifrarfrumum (HepG2) til að skoða andoxunareiginleika þeirra í líffræðilegu kerfi. Því miður var eitthvað í sýnunum sem truflaði mælingar á andoxunarvirkni með frumuprófunum. Fyrir hverja keyrslu var lífvænleiki eða lifun prófuð með svokölluðu PrestoBlue viability test með öllum þörungaútdráttum í mismunandi styrk. Við mælinguna í HepG2 sást aftur á móti að frumurnar voru mjög „stressaðar“ (visible loss of cytoplasm, sharp

cell membranes visible, release of microparticles) svo mælingar tókust ekki fullkomlega. Mælingarnar voru því endurteknar margsinis til að útiloka skekkju rannsóknamanns. Samantekt niðurstaðna má sjá í Töflu 3 en eins og sjá má var staðalfrávikin hátt og frekari rannsóknir nauðsynlegar til að ganga úr skugga um hvað veldur þessari truflun.

Tafla 3. Niðurstöður mælinga á andoxunarvirkni

| Sýnakeyrsla nr. | SA5FV 0,125mg/mL | SA5AE 1mg/mL | SA5SL 1mg/mL | SA5AN 0,125mg/mL |
|---------------------|---------------------|--------------|--------------|---------------------|
| 1 | 99% | 36% | 29% | 89% |
| 2 | 35% | 21% | 29% | 90% |
| 3 | 44% | 31% | 30% | 16% |
| 4 | 68% | 64% | 48% | 43% |
| 5 | 66% | 43% | 19% | 91% |
| 6 | 85% | 35% | 34% | 70% |
| 7 | 48% | 19% | 55% | 81% |
| 8 | 70% | 37% | | 36% |
| 9 | 88% | 57% | | 53% |
| 10 | 34% | 61% | | 78% |
| <i>Staðalfrávik</i> | 22% | 15% | 12% | 25% |

Tafla 4. Blóðþrýstingslækkandi virkni (ACE), og α -amylase og α -glucosidasa hindrandi virkni í sýnum sem safnað var í Sandgerði í maí. Niðurstöður eru gefnar um sem meðaltal þriggja mælinga \pm staðalfrávik.

| Sýni | ACE ¹ | α -amylase inhibitory ² | α -glucosidase inhibitory ² |
|-------|------------------|---|---|
| SA5AE | 58 \pm 9,0 | 2376 \pm 316,0 | 3,51 \pm 0,1 |
| SA5AN | 14 \pm 2,0 | 81 \pm 7,5 | 1,15 \pm 0,0 |
| SA5FV | 23 \pm 1,0 | 131 \pm 20,5 | 1,15 \pm 0,1 |
| SA5SL | - | - | 2912 \pm 43,0 |

¹ACE inhibitory activity. Niðurstöður birtar sem IC⁵⁰ values í μ g/mL

²IC⁵⁰ values í μ g/mL

Blóðþrýstingslækkandi virkni (ACE) var mjög lág en þó best í klóþangi (Tafla 4, sýni SA5AN). Alfa-amýlasa hemjandi virkni var lítil sem engin í sýnunum. Aftur á móti mældist alfa-glúkósídasá hemjandi virkni mjög góð, í bæði klóþangi og bólupangi, nokkuð góð í marinkjarna en engin í beltispara (Tafla 4). Eins og áður kom fram þá taka bæði þessi ensím þátt í niðurbroti og upptöku sykurs úr meltingarveginum. Því benda þessar niðurstöður til þess að klóþang og bólupang geti haft jákvæði áhrif gegn sykursýki.

Áhrif sýnanna á kólesteról framleiðslu mannskra lifrarfruma (HepG2) var einnig könnuð (niðurstöður ekki sýndar). Einungis SA5AE virðist hindra myndun kólesteróls með 1,1 μ g /mg á meðan blankur gefur 1,8 μ g/mg, það er hindrun um 39%.

Sýnin voru prófuð í mennskum bandvefsfrumum (HT1080) til að skoða áhrif á málmpróteinasana 2 og 9 sem brjóta niður kollagen. Niðurbrot kollagens leikur hlutverk í bólgusvörun, t.d. í liðagigt og hjarta og æðasjúkdómum ásamt því að valda hrukkum í húð. Út frá lifunarprófi voru þrjár hæstu styrkleikar sýnanna sem gáfu yfir 90% lifun keyrð á zymography gelum til að skoða málmpróteinasana (MMP) 2 og 9.

Bólupang (SA5FV) og marinkjarni (SA5AE) sýndu enga hemjandi virkni gegn MMP2 og MMP9 ensímunum samanborið við ómeðhöndluð sýni. Niðurstöður bentu til þess að beltispari (SA5SL) yki virkni MMP9 ensíms og virtist einnig hafa mikil hemjandi áhrif á MMP2 í þeim fjórum styrkjum sem voru prófaðir. Áhrifin voru ekki línuleg (31µg/mL dróg úr virkninni um 46%, 62,5µg/mL um 12%, 12,5µg/mL um 58% og 250µg minnkaði MMP2 virknina um 9%). Klóþang (SA5AN) í styrknum 31µg/mL virtist einnig hafa hemjandi virkni (að 59%).

Offramleiðsla á MMP2 er sterklega tengt við hrukkumyndun því þetta ensím brýtur niður kollagen og dregur þar með úr teygjanleika húðarinnar. Því væri áhugavert að skoða betur þessi sterku MMP2 hemjandi virkni beltispara (SA5SL) og hvort nýta mætti þessa þarategund í snyrtivörur.

4.2 Áhrif þörungaútdrátta á þroskun og ræsingu angafrumna

Kannað var hvort útdrættir úr íslensku þangi og þara söfnuðum á mismunandi stöðum á Íslandi og á mismunandi árstímum hafi áhrif á ónæmissvör. Sýni voru send frá Matís til ónæmisfræðideildar LSH og geymd í -80°C fram að mælingu.

4.2.1 Aðferðir

Notast var við angafrumulíkan sem var sett upp í þeim tilgangi að skima eftir ónæmisfræðilegum áhrifum náttúruafna (Omarsdóttir o.fl. 2006; Freysdóttir o.fl. 2008; Freysdóttir o.fl. 2011; Jónsdóttir G. o.fl. 2011). Í þessu líkani eru óþroskaðar angafrumur sérhæfðar úr mónócýtum og síðan þroskaðar og ræstar í þroskaðar angafrumur í návist eða fjarveru náttúruafna. Í þessu verkefni voru frumurnar þroskaðar og ræstar í návist útdrátta úr þangi og þara (Tafla 2) í styrkjunum 1, 10 og 100 µg/ml. Frumur án útdrátta voru notaðar sem viðmið. Áhrif útdráttanna á þroska og ræsingu angafrumnanna var metin með því að mæla magn seytunar frumnanna á IL-10 og IL-12p40 með ELISA aðferð og tjáningu þeirra á CD86 og HLA-DR með frumuflæðisjárlitun.

ELISA niðurstöðurnar eru gefnar sem seytistuðull sem er reiknaður þannig að styrkur boðefnis sem er seytt af angafrumum þroskuðum og ræstum án útdrátta er deilt í styrk boðefnis sem er seytt af angafrumum þroskuðum og ræstum með útdráttunum. Til að meta heildaráhrif á boðefnaseytun var reiknaður hlutfallsstuðull sem er seytistuðull fyrir IL-12p40 deilt með seytistuðli fyrir IL-10. Hlutfallsstuðull hærri en 1 gefur vísbendingu um ónæmisræsandi áhrif og hlutfallsstuðull lægri en 1 um ónæmisbælandi áhrif. Frumuflæðisjárniðurstöðurnar eru gefnar sem prósentu jákvæðra frumna og sem meðalflúrljómun (MFI) sem gefur vísbendingu um magn sameinda utan á hverri frumu.

Eitt sýni af þremur var leyst upp í frumuræktunaræti og síðan í frumuræktunaræti /og prófað í þremur tilraunum (þrjú DC próf). Meðaltöl og staðalvilla meðaltals voru reiknuð og samanburður milli angafrumna sem voru þroskaðar og ræstar án útdrátta annars vegar og með útdráttum hins vegar var metin með one-way ANOVA.

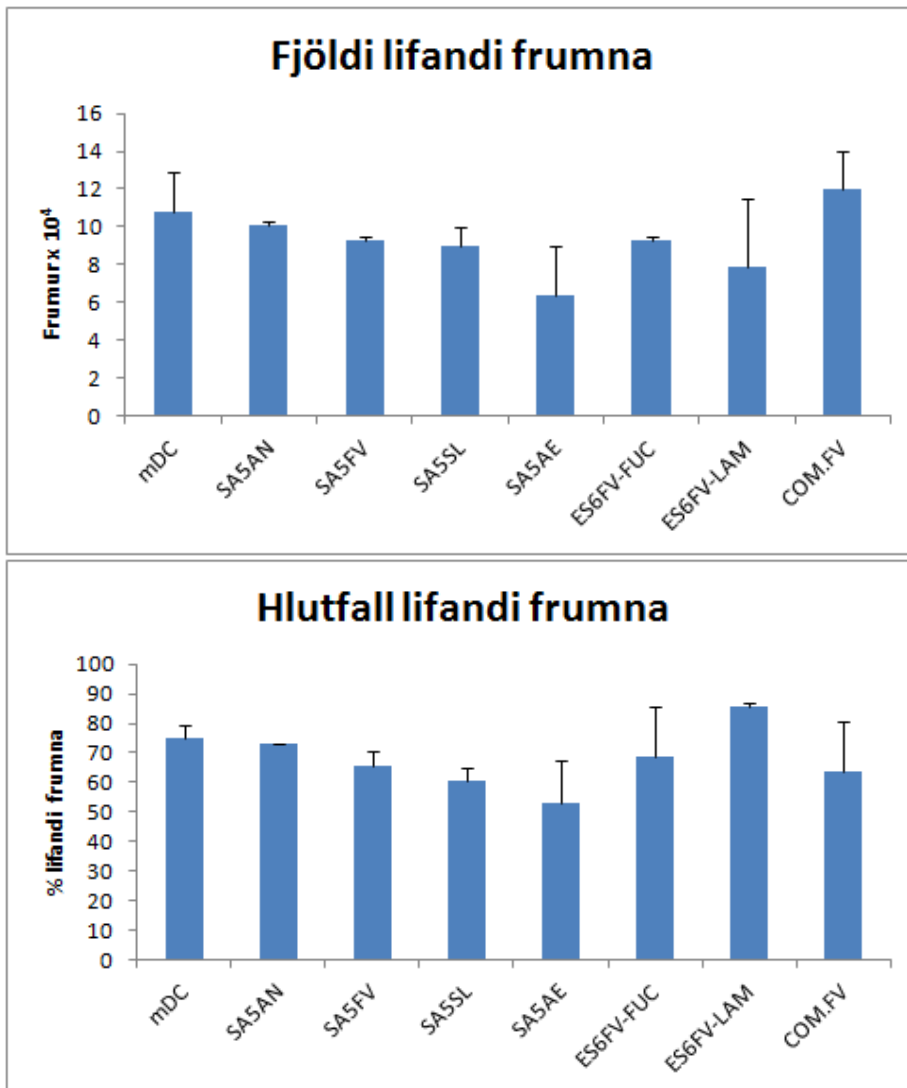
Tafla 2. List yfir sýni í ónæmismælingar

| Flórótannín útdrættir, 70% acetone | |
|--|-----------|
| <i>Ascophyllum nodosum</i> , Sandgerði May 2012 | SA5AN |
| <i>Fucus vesiculosus</i> , Sandgerði May 2012 | SA5FV |
| <i>Saccharina latissima</i> , Sandgerði May 2012 | SA5SL |
| <i>Alaria esculenta</i> , Sandgerði May 2012 | SA5AE |
| Fucoidans | |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - FUC | ES6FV-FUC |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - FUC | ES6FV-FUC |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - FUC | ES6FV-FUC |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - LAM | ES6FV-LAM |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - LAM | ES6FV-LAM |
| <i>F. vesiculosus</i> , Eskifjörður, June 2012 - LAM | ES6FV-LAM |
| Commercial sample, FUC | COM.FV |
| Commercial sample, FUC | COM.FV |
| Commercial sample, FUC | COM.FV |

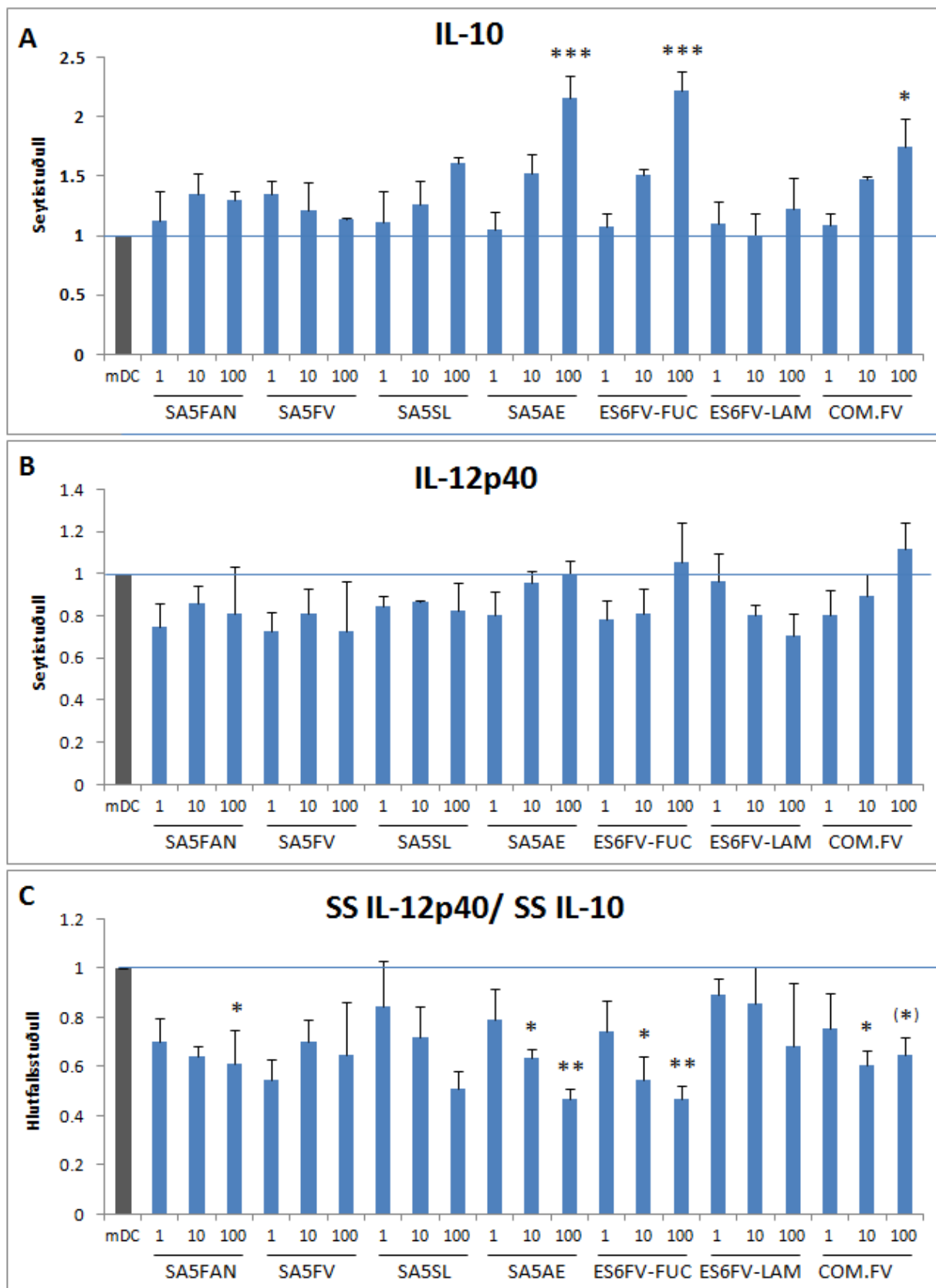
4.2.2 Niðurstöður

Lífvænleiki var aðeins metinn í tveimur tilraunum af þremur. Það var aðeins lægri frumufjöldi þar sem frumur höfðu verið þroskaðar og ræstar með SA5AE og ES6FV-LAM (Mynd 30). Það var vegna lágrar tölu í annarri tilrauninni. Ekki sást þó munur á öðrum parametrum milli þessara tveggja tilrauna.

Angafrumur sem voru þroskaðar og ræstar með útdráttum SA5AE og ES6FV-FUC og COM.FV í styrknum 100 µg/ml seyttu meira af IL-10 en angafrumu sem voru þroskaðar og ræstar án útdrátta (Mynd 31A). Þroskun og ræsing angafrumna með útdráttum eða COM.FV hafði engin áhrif á IL-12p40 seytun angafrumnanna (Mynd 31B).



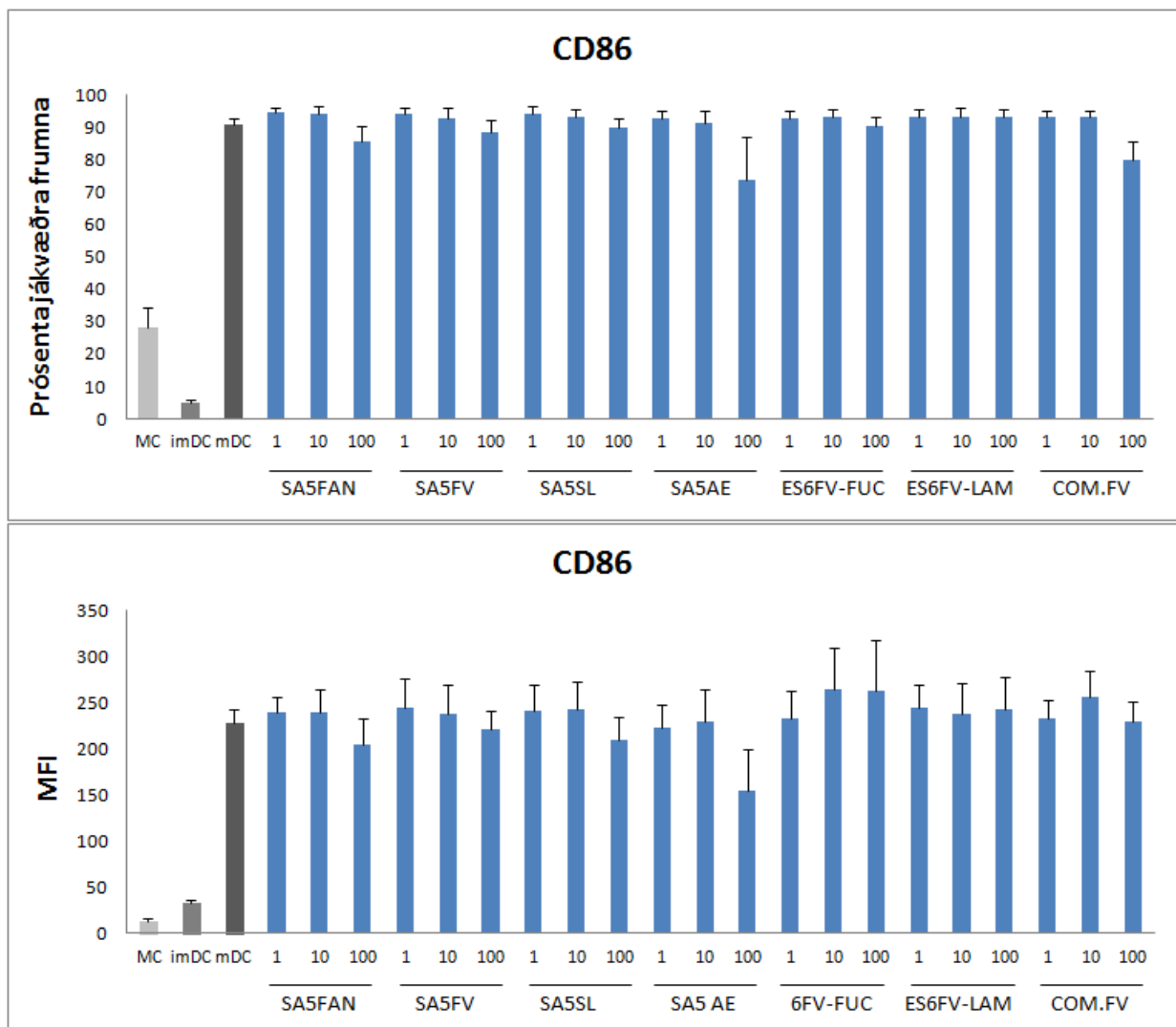
Mynd 30. Lífvænleiki frumna. Angafrumur voru þroskaðar og ræstar án útdráttá (mDC) eða ýmsum útdráttum úr þara og þangi (1, 10 eða 100 µg/ml) og lífvænleiki þeirra mældur.



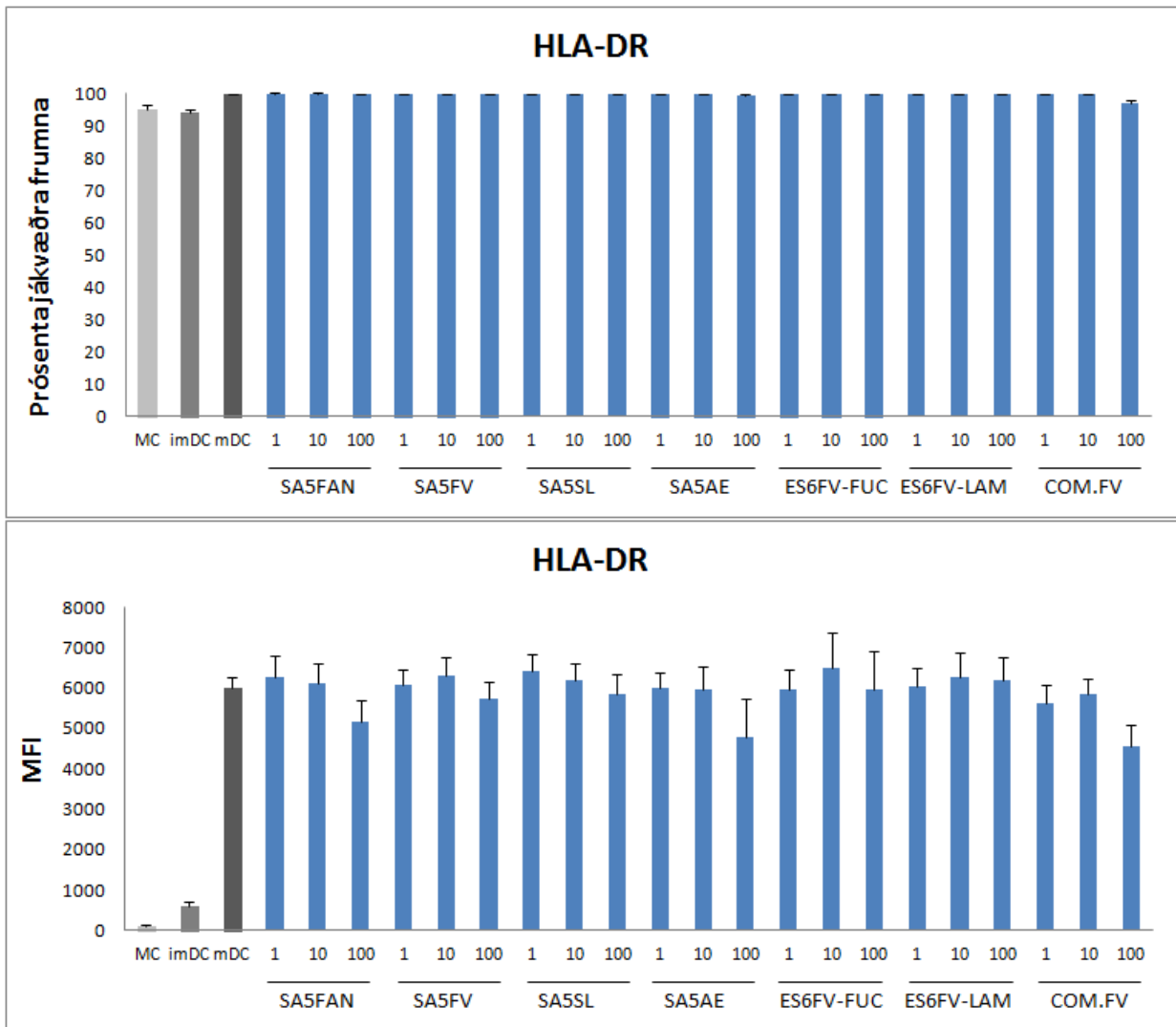
Mynd 31. Boðefnaseytun angafrumna. Angafrumur voru þroskaðar og ræstar án útdráttá (mDC) eða ýmsum útdráttum úr þara og þangi (1, 10 eða 100 µg/ml) og seytun þeirra á IL-10 (A) og IL-12p40 (B) mæld með ELISA aðferð og hlutfallsstuðull reiknaður (C).

Til að kanna nánar heildaráhrif útdráttanna á boðefnaseytun angafrumanna var reiknaður út hlutfallsstuðull sem leiddi í ljós ónæmisbælingu hjá SA5AE og ES6FV-FUC í styrkjunum 10 og 100 µg/ml og hjá SA5AN í styrknum 100 µg/ml (Mynd 31C). COM.FV hafði líka ónæmisbælandi áhrif í styrknum 10 µg/ml og nálægt því í styrknum 100 µg/ml.

Proskun og ræsing angafrumna í návist útdráttanna hafði engin áhrif á tjáningu þeirra á CD86 (Mynd 32) eða HLA-DR (Mynd 33), hvorki hlutfall jákvæðra frumna né meðalflúrljómunina.



Mynd 32. CD86 tjáning angafrumna. Mónócýtar (MC) voru sérhæfðir í óþorskaðar angafrumur (imDC) sem síðan voru þorskaðar og ræstar án útdráttanna (mDC) eða ýmsum útdráttum úr þara og þangi (1, 10 eða 100 µg/ml) og tjáning þeirra á CD86 mæld. Niðurstöður eru gefnar sem prósentu jákvæðra frumna og meðalflúrljómun (MFI).



Mynd 33. HLA-DR tjáning angafrumna. Mónócýtar (MC) voru sérhæfðir í óþorskaðar angafrumur (imDC) sem síðan voru þorskaðar og ræstar án útdráttá (mDC) eða ýmsum útdráttum úr þara og þangi (1, 10 eða 100 µg/ml) og tjáning þeirra á HLA-DR mæld. Niðurstöður eru gefnar sem prósentu jákvæðra frumna og meðaflurljómun (MFI).

4.2.3 Samantekt og ályktun

Þrátt fyrir að lífvænleiki og frumufjöldi hafi hugsanlega verið lækkaður þar sem angafumur voru þroskaðar og ræstar með SA5AE seyttu frumurnar meira af IL-10 en angafrumur sem voru þroskaðar og ræstar án útdráttá.

Af þessum niðurstöðum má því draga þá ályktun að flórótannín útdráttur úr *Alaria esculenta* sem var safnað við Sandgerði í maí 2012 og að fucoidan (FUC) útdráttur úr *Fucus vesiculosus* sem var safnað á Eskifirði í júní 2012 hafi ónæmisbælandi áhrif á angafrumur með því að auka tjáningu þeirra á IL-10 án þess að hafa áhrif á IL-12p40 tjáningu þeirra. Það sást líka þegar hlutfallsstuðull IL-12p40/IL-10 var reiknaður. Commercial sample (FUC) hafði svipuð, en minni, áhrif á IL-10 seytun angafrumanna og hlutfallsstuðulinn.

5. Magn þungmálma og joðs í brúnþörungum

Hluti af þessum kafla um þungmálma og joð er skrifaður á ensku þar sem erlendur starfsmaður kom að þessu verki.

5.1 Introduction

The aim of the work was to study the content of inorganic contaminants and iodine in four species of brown seaweed, collected in May 2012, at three different locations in Iceland. The work is a part of the project *Ecological impact on bioactive chemicals in brown seaweeds and their utilization*.

5.2 Material and methods

5.2.1 Sampling and preparation of samples

Samples of the four brown seaweed species were collected at three locations in Iceland in May 2012. The seaweeds were washed with clean seawater to remove epiphytes and sand attached to the surface and transported to the laboratory. The samples were carefully rinsed with tap water. Small pieces were cut and then freeze-dried, pulverized into fine powder and stored in tightly sealed polystyrene containers at room temperature until analyzed.

5.2.2 Metals in brown seaweed

The trace metal analysis of iron, lead, cadmium, copper, zinc, mercury, arsenic and selenium was carried out at Matis. The iodine analysis was by LUFA-Agrolab group in Germany.

5.2.3 Inorganic contaminants and iodine

Inorganic contaminants (Fe, Cd, Cu, Zn, As, Se, Hg, Pb) in the samples were determined by ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) after mineralization of the samples with closed vessel acid digestion. Portions (up to 200 mg weighed to 0.1 mg) of freeze dried samples together with 3 ml HNO₃ and 1.5 ml H₂O₂ were transferred to 50 ml digestion bombs. Samples were digested in a Mars5 microwave oven (CEM, North Carolina, USA), according to method SV-25-02-SN in Matis Quality manual. The Matis method is according to the validated NMKL

method no. 186. The digested sample solutions were quantitatively transferred to 50 ml polypropylene tubes and diluted to 30 ml with Milli-Q water. The concentration of the different elements (Fe, Cd, Cu, Zn, As, Se, Hg, Pb) in these digests was determined by ICP-MS (Agilent 7500ce, Waldbronn, Germany). ^{115}In was used as internal standard. The organochlorine compounds were analyzed by GC-ECD using HP5890 Series II with an automatic injector (HP7673). The iodine was determined by ICP-MS, method DIN EN 15111.

5.3 Results

Results of the inorganic contaminants are in Table 4 (Tafla 4). The variation in iron (Fe) content was large, ranging from 64 to 430 mg/kg. However, the high content of iron is not of concern. The arsenic (As) was in rather high concentration in all samples but further analysis are needed in order to get information about the concentration of inorganic arsenic. According to French recommendation, the content of inorganic arsenic in edible seaweed and powders produced from them should not exceed 3 mg/kg dw (CEVA, 2010).

The content of cadmium (Cd) was also high and some values were close to the maximum level of 3 mg/kg, according to Commission Regulation (EU), No 420/2011. This was especially observed in *A. esculenta* from Eskifjordur and *F. vesiculosus* from Sandgerdi and Stykkisholmur. This needs to be considered if the seaweeds are to be used for consumption, e.g. nutraceuticals. Other contaminants were in low concentration and below the maximum values as recommended in France (Tafla 5).

Figure 31a (Mynd 31) shows a principal component biplot of all samples as scores and inorganic contaminants as loadings. In Fig. 31b, the samples are grouped according to species and according to locations in Fig. 31c. The data set is the same for all figures. PC1 describes 45% of the variation in the data set with higher values of especially Pb, Fe, Se, and Sn in two samples of *F. vesiculosus* and two of *A. esculenta*. Fig. 31b shows clearly that the difference between samples of *A. nodosum* and *S. latissima* is not large since these samples are grouped together on the biplot. The difference between locations for the other two species is however substantial.

The relationship between Hg and Se has been subjected to numbers of studies and that the Se could suppress the toxicity of Hg. Therefore, it is of interest to study the ratio between these contaminants in the seaweed, i.e. Sn/Hg. However, the relationship seems to be relatively constant between Se and Hg in the seaweed samples (Mynd 32).

There was a large difference in the iodine content between seaweed species (Tafla 4). *S. latissima* contained high amount of iodine (1100 – 1500 mg/kg), much higher than other species and highest in Sandgerdi. This was also seen in other species, i.e. highest amount of iodine within species was in samples from Sandgerdi. However, these values are lower than the maximum value of iodine allowed in edible seaweeds and supplements in France (Tafla 5). The amount of iodine was also rather high in *A. nodosum* (640 – 960 mg/kg, but from 120 – 330 mg/kg in the other two species, *A. esculenta* and *F. vesiculosus*).

Insufficient or excessive iodine intake can result in thyroid disease. The term "iodine deficiency disorders" refers to the several consequences that iodine deficiency imposes on individuals. Utilisation of seaweed or seaweed extract e.g. as a supplement could therefore contribute to the necessary daily intake of iodine. However, it must be kept in mind that both iodine intake levels below and above the recommended interval can increase the risk of disease in the population (Andrade o.fl. 2010). Therefore, if seaweed are to be used in supplements the level of iodine needs to be within acceptable limits.

Tafla 5. Results of trace metals (mg/kg ± 20%) and iodine (mg/kg) in four species of brown seaweed, collected at three locations in May 2012.

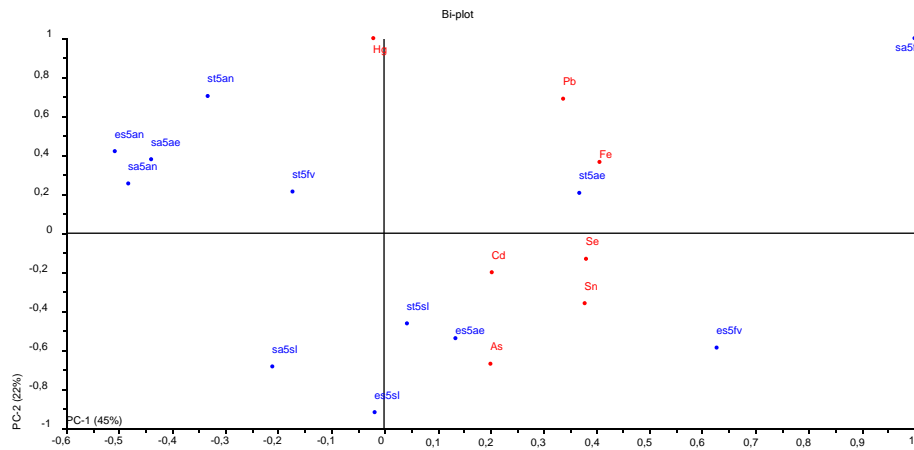
| Sample id | Month | Location | Species | Fe, mg/kg | | As, mg/kg | | Se, mg/kg | | Cd, mg/kg | | Sn, mg/kg | | Hg, mg/kg | | Pb, mg/kg | | I mg/kg |
|-----------|-------|---------------|-----------------------------|-----------|----|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|-------|------------|
| | | | | dw | ± | dw | ± | dw | ± | dw | ± | dw | ± | dw | ± | dw | ± | |
| es5ae | May | Eskifjörður | <i>Alaria esculenta</i> | 218,1 | 44 | 40,07 | 8,0 | 0,135 | 0,03 | 2,888 | 0,58 | 0,006 | 0,001 | 0,055 | 0,011 | 0,027 | 0,005 | 240 |
| es5an | May | Eskifjörður | <i>Ascophyllum nodosum</i> | 72,0 | 14 | 34,98 | 7,0 | 0,095 | 0,02 | 0,376 | 0,08 | 0,002 | 0,000 | 0,070 | 0,014 | 0,025 | 0,005 | 640 |
| es5fv | May | Eskifjörður | <i>Fucus vesiculosus</i> | 201,4 | 40 | 51,62 | 10,3 | 0,209 | 0,04 | 1,454 | 0,29 | 0,014 | 0,003 | 0,060 | 0,012 | 0,046 | 0,009 | 120 |
| es5sl | May | Eskifjörður | <i>Saccharina latissima</i> | 114,4 | 23 | 60,39 | 12,1 | 0,099 | 0,02 | 1,851 | 0,37 | 0,009 | 0,002 | 0,061 | 0,012 | 0,013 | 0,003 | 1100 |
| sa5ae | May | Sandgerði | <i>Alaria esculenta</i> | 88,3 | 18 | 23,42 | 4,7 | 0,097 | 0,02 | 1,129 | 0,23 | 0,002 | 0,000 | 0,062 | 0,012 | 0,037 | 0,007 | 720 |
| sa5an | May | Sandgerði | <i>Ascophyllum nodosum</i> | 82,3 | 16 | 39,12 | 7,8 | 0,103 | 0,02 | 0,390 | 0,08 | 0,002 | 0,000 | 0,070 | 0,014 | 0,017 | 0,003 | 960 |
| sa5fv | May | Sandgerði | <i>Fucus vesiculosus</i> | 432,9 | 87 | 49,46 | 9,9 | 0,201 | 0,04 | 2,014 | 0,40 | 0,009 | 0,002 | 0,074 | 0,015 | 0,101 | 0,020 | 330 |
| sa5sl | May | Sandgerði | <i>Saccharina latissima</i> | 64,4 | 13 | 48,57 | 9,7 | 0,139 | 0,03 | 0,918 | 0,18 | 0,002 | 0,000 | 0,053 | 0,011 | 0,032 | 0,006 | 1500 |
| st5ae | May | Stykkishólmur | <i>Alaria esculenta</i> | 322,9 | 65 | 30,26 | 6,1 | 0,150 | 0,03 | 1,819 | 0,36 | 0,010 | 0,002 | 0,061 | 0,012 | 0,047 | 0,009 | 270 |
| st5an | May | Stykkishólmur | <i>Ascophyllum nodosum</i> | 101,7 | 20 | 35,99 | 7,2 | 0,112 | 0,02 | 0,532 | 0,11 | 0,002 | 0,000 | 0,073 | 0,015 | 0,041 | 0,008 | 690 |
| st5fv | May | Stykkishólmur | <i>Fucus vesiculosus</i> | 108,0 | 22 | 37,35 | 7,5 | 0,115 | 0,02 | 3,275 | 0,65 | 0,002 | 0,000 | 0,070 | 0,014 | 0,028 | 0,006 | 210 |
| st5sl | May | Stykkishólmur | <i>Saccharina latissima</i> | 130,8 | 26 | 44,78 | 9,0 | 0,194 | 0,04 | 1,052 | 0,21 | 0,005 | 0,001 | 0,060 | 0,012 | 0,021 | 0,004 | 1200 |

LOQ=0,06

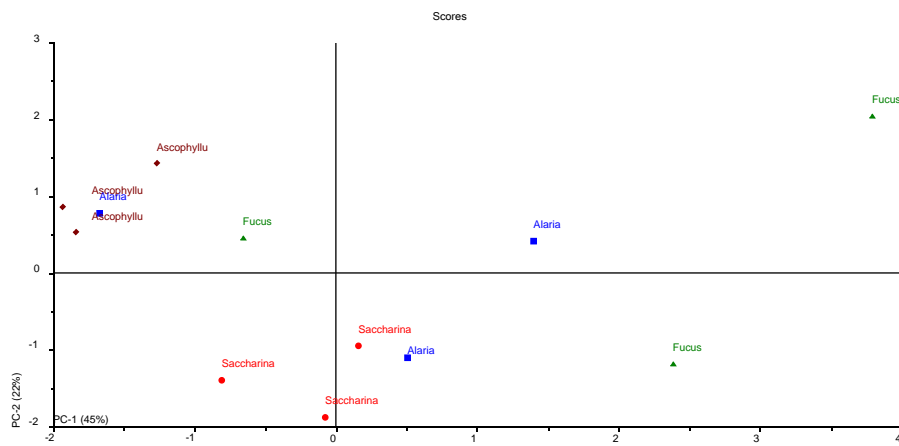
LOQ=0,04

Tafla 6. Maximum value of inorganic contaminants and iodine allowed in edible seaweeds and supplements in France.

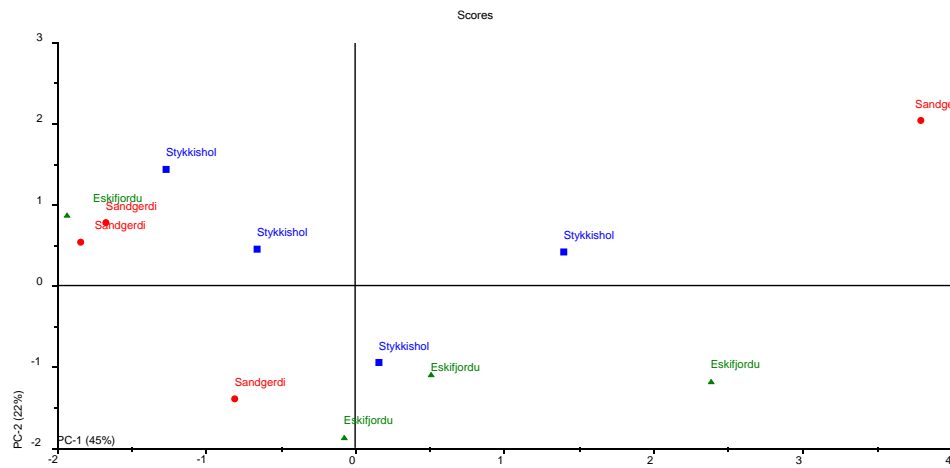
| Chemical | Edible seaweed and powder | Dietary supplements |
|---------------|---------------------------|---------------------|
| | mg/kg dry weight | mg/kg |
| Arsenic (As), | 3 | |
| Cadmium (Cd) | 0,5 | 3 |
| Mercury (Hg) | 0,1 | 0,1 |
| Lead (Pb) | 5 | 3 |
| Zink (Sn) | 5 | |
| Iodine (I) | 2000 | |



a

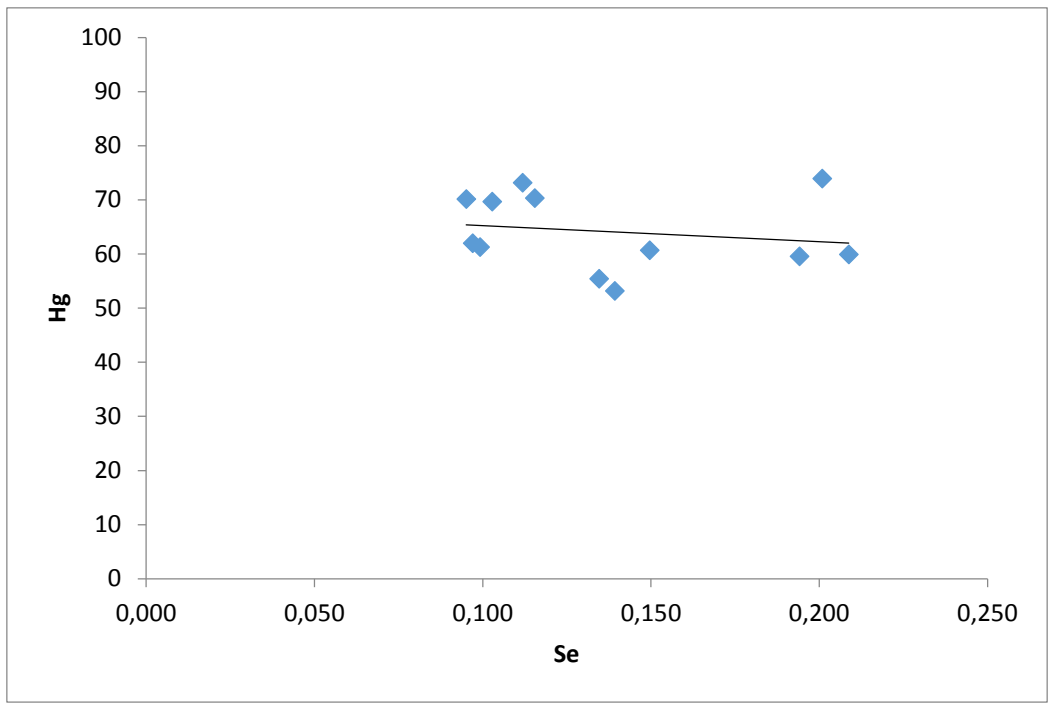


b



c

Mynd 30. Principal component analysis of the inorganic contaminants in 4 species, collected at three locations in Iceland in May 2012. (a) biplot; (b) score plot grouped by species; (c) score plot grouped by locations



Mynd 31. The relationship between Hg (ng/g) and Se (µg/g) in seaweed.

5.4 Arsenic: An essential element for seaweed?

Aukalega hlaust styrkur frá Rannsóknasjóði fyrir 12 mánaða vinnu sem að gefur ýtarlegar upplýsingar um stöðu þungmálma í þanginu. Verkefnið sem fékk styrk heitir: „Arsenic: An essential element for seaweed?“ og var heildarmagn arsens og aðrir þungmálmur mældir í 52 sýnum (mars, maí, júní, ágúst, október af öllum fjórum tegundum) en einnig var eitruð ólífrænt arsen greint í 40 sýnum (mars, maí, júní, ágúst, október í þremur þangtegundum). Lokaskýrsla um verkefnið var send til Rannís í apríl, en fyrir liggja drög að grein um þessar mælingar.

Til að greina heildararsen 0.1-0.15 g af frostþurrkuðu þangi var brotið niður í CEM Mars rannsóknarörbylgjuofni í 3 mL af fullsterkri HNO_3 og 1.5 mL af 30% w/w H_2O_2 . Sýnin voru þynnt til 50 mL með MilliQ vatni og mæld með ICPMS. Ólífrænt arsen (e. Inorganic arsenic; iAs) var dregið út með örbylgjun en 0.1 g af sýni var dregið út í 10 mL af 2% HNO_3 og 3% H_2O_2 (prógramm: 5 mín 50 °C, 5 mín 75 °C, 20 mín 90°C). Sýnin voru síðan sett í skilvindu (Thermo, Biofuge Stratos) og undin við 13500 rpm (16500) í 5 mín áður en sýnin voru mæld með HPLC–HG–ICPMS. Öll sýni voru undirbúin í þrísýni. Sjá má nánari útlistun á HPLC aðferð ofl í: Pétursdóttir Á, Gunnlaugsdóttir H, Jörundsdóttir H, Mestrot A, Krupp E, Feldmann J: HPLC–HG–ICP–MS: a sensitive and selective method for inorganic arsenic in seafood. Anal Bioanal Chem 2012:1-7.

Heildararsen spannaði frá um 25-80 mg kg^{-1} , en þetta er í góðu samræmi við áður birt gildi um arsen í brúnþörungum. *S. latissima* (SL) var almennt hæst í heildararseni, en *A. nodosum* (AN) lægst í heildararseni. Í ljós kom að magn ólífræns arsens var í öllum tilvikum undir einu prósentu af heildararseni. Heildararsenstyrkur virðist háður árstíma þar sem það var almennt hæst í vetrartíni (mars/okt) en lægra á sumartíma (júní/ágúst).

Tafla 7. Styrkur ólífræns arsens mældu með HPLC-ICPMS (n=3) og heildararsen mældu með ICPMS (n=3).

| | Ólífrænt arsen (iAs) (mg / kg) | Heildararsen (mg / kg) | % iAs |
|--------|--------------------------------------|---------------------------|-------|
| ES3AN | 0.053 ± 0.007 | 41.5 ± 1.7 | 0.13 |
| ES5AN | 0.056 ± 0.008 | 35.0 ± 2.1 | 0.16 |
| ES6AN | 0.0228 ± 0.0002 | 32.2 ± 0.6 | 0.07 |
| ES8AN | 0.063 ± 0.007 | 25.9 ± 0.3 | 0.24 |
| ES10AN | 0.034 ± 0.002 | 29.6 ± 0.7 | 0.11 |
| SA3AN | 0.071 ± 0.002 | 30.5 ± 0.3 | 0.23 |
| SA5AN | 0.050 ± 0.004 | 39.1 ± 0.6 | 0.13 |
| SA6AN | 0.085 ± 0.004 | 32.0 ± 0.6 | 0.27 |
| SA8AN | 0.083 ± 0.004 | 29.9 ± 0.0 | 0.28 |
| SA10AN | 0.040 ± 0.002 | 28.3 ± 0.5 | 0.14 |
| ST3AN | 0.108 ± 0.003 | 44.7 ± 1.4 | 0.24 |
| ST5AN | 0.087 ± 0.003 | 36.0 ± 1.9 | 0.24 |
| ST6AN | 0.074 ± 0.001 | 35.9 ± 0.3 | 0.21 |
| ST8AN | 0.053 ± 0.004 | 26.0 ± 0.4 | 0.20 |
| ST10AN | 0.05 ± 0.01 | 31.2 ± 0.7 | 0.16 |
| ES3FV | 0.204 ± 0.001 | 62.6 ± 0.7 | 0.33 |
| ES5FV | 0.237 ± 0.004 | 51.6 ± 1.5 | 0.46 |
| ES6FV | 0.147 ± 0.006 | 45.2 ± 0.1 | 0.33 |
| ES8FV | 0.12 ± 0.02 | 34.8 ± 0.4 | 0.35 |
| ES10FV | 0.25 ± 0.01 | 46.2 ± 0.3 | 0.54 |
| SA3FV | 0.21 ± 0.02 | 47.7 ± 0.1 | 0.45 |
| SA5FV | 0.166 ± 0.009 | 49.5 ± 2.5 | 0.34 |
| SA6FV | 0.102 ± 0.007 | 42.6 ± 0.3 | 0.24 |
| SA8FV | 0.111 ± 0.003 | 29.2 ± 0.1 | 0.38 |
| SA10FV | 0.123 ± 0.002 | 39.5 ± 0.2 | 0.31 |
| ST3FV | 0.22 ± 0.01 | 61.4 ± 3.2 | 0.36 |
| ST5FV | 0.148 ± 0.007 | 37.4 ± 1.1 | 0.40 |
| ST6FV | 0.171 ± 0.008 | 40.9 ± 0.4 | 0.42 |
| ST8FV | 0.111 ± 0.003 | 32.8 ± 0.2 | 0.34 |
| ST10FV | 0.14 ± 0.01 | 40.0 ± 0.5 | 0.35 |
| ES3SL | 0.150 ± 0.007 | 54.7 ± 0.7 | 0.27 |
| ES5SL | 0.214 ± 0.009 | 60.4 ± 2.6 | 0.36 |
| ES6SL | 0.13 ± 0.03 | 55.9 ± 0.5 | 0.23 |
| ES8SL | 0.156 ± 0.005 | 54.9 ± 0.4 | 0.28 |
| ES10SL | 0.255 ± 0.004 | 80.3 ± 1.5 | 0.32 |
| ST3SL | 0.21 ± 0.01 | 62.6 ± 1.6 | 0.33 |
| ST5SL | 0.164 ± 0.002 | 44.8 ± 2.1 | 0.37 |
| ST6FV | 0.10 ± 0.01 | 38.3 ± 0.5 | 0.27 |
| ST8SL | 0.17 ± 0.01 | 41.5 ± 0.6 | 0.42 |
| ST10SL | 0.23 ± 0.05 | 58.0 ± 0.6 | 0.40 |
| ES3AE | nm | 52.7 ± 0.3 | |
| ES5AE | nm | 40.1 ± 4.5 | |
| ES6AE | nm | 28.2 ± 0.3 | |
| ES8AE | nm | 27.0 ± 0.4 | |
| SA3AE | nm | 42.3 ± 0.9 | |
| SA5AE | nm | 23.4 ± 0.9 | |
| SA6AE | nm | 35.9 ± 0.1 | |
| SA8AE | nm | 36.1 ± 0.9 | |
| ST3AE | nm | 45.0 ± 0.9 | |
| ST5AE | nm | 30.3 ± 1.5 | |
| ST6AE | nm | 26.7 ± 0.2 | |
| ST8AE | nm | 26.1 ± 0.3 | |

6. Umræða og ályktanir

Fjölsykrur voru einangraðar úr bólupangi og klóþangi og þáttaðar niður í fucoidan og laminaran. Magn þeirra var mismunandi eftir tegund og árstíðum auk þess sem magn fjölfenóla í þessum fjölsykrútdráttum var mismunandi sem styður þá kenningu um breytanleika eftir árstíðum. Andoxunavirkni fucoidans var svipuð í báðum tegundum, bólupangi og klóþangi en munur var á andoxunavirkni laminaran milli tegunda.

Magn fjölfenóla var margfalt meira í bólupangi og klóþangi en í marinkjarna og beltispara. Heildarmagn fjölfenóla jókst í bólupangi og klóþangi eftir því sem leið á árið, með einhverjum undantekningum, og var að jafnaði aðeins hærra í bólupangi. Magnið var marktækt lægra í þangi frá Eskifirði samanborið við þang frá Sandgerði og Stykkishólmi. Skýrt samband var á milli ORAC gilda og TPC, þar sem hátt ORAC gildi mælist í sýnum með miklu innihaldi af fjölfenólum. Andoxunavirkni mæld í frumum var einnig há í bólupangi og klóþangi.

Blóðþrýstingslækkandi virkni (ACE) var mjög lág en þó mest í klóþangi. Alfa-amýlasa hemjandi virkni var lítil sem engin í sýnunum. Aftur á móti mældist alfa- glúkósídasa hemjandi virkni mjög góð, í bæði klóþangi og bólupangi, nokkuð góð í marinkjarna en engin í beltispara. Þessar niðurstöður benda til þess að klóþang og bólupang geti haft jákvæði áhrif gegn sykursýki en þessi ensím (alfa-amýlasi og alfa-glúkósídasi) taka þátt í niðurbroti og upptöku sykurs úr meltingarveginum. Áhrif þörungaútdrátta gegn myndun kólesteróls var lítil.

Niðurstöður rannsókna á húðfrumum benda til þess að beltispari hafi mikil hemjandi áhrif á MMP2 ensím. Offramleiðsla á MMP2 er sterklega tengt við hrukkumyndun því þetta ensím brýtur niður kollagen og dregur þar með úr teygjanleika húðarinnar. Því væri áhugavert að skoða betur þessi sterku MMP2 hemjandi virkni beltispara og hvort nýta mætti þessa þategund í snyrtivörur.

Fjölfenól-útdráttur úr marinkjarna og fucoidan úr bólupangi reyndist hafa bestu ónæmisbælandi áhrif á angafrumur með því að auka tjáningu þeirra á IL-10 án þess að hafa áhrif á IL-12p40 tjáningu þeirra, sem gefur til kynna bólguhemjandi virkni.

Magn þungmálma var innan eðlilegra marka með nokkrum undantekningum. Einnig var magn joðs innan marka nema í beltispara sem innihélt mikið magn joðs. Magn ólífræns arsens var sérstaklega skoðað og kom í ljós að magn þess var mælt í öllum tilvikum undir einu prósentu af heildararseni. Heildararsenstyrkur virðist háður árstíma þar sem það var almennt hæst í vetrartínslu (mars/okt) en lægra á sumartíma (júní/ágúst).

Mikilvægar upplýsingar um áhrif staðsetningar og árstíðar á magn lífefna og lífvirkra efna í fjórum tegundum brúnþörungum fengust í verkefninu. Nýting þeirra hér við land hefur verið lítil því einungis Þörungaverksmiðjan hefur nýtt þetta hráefni á stórskala en þörungamjölíð sem þeir framleiða er að mestu flutt út og möguleikar til að skapa dýrari vöruflokkum hér á landi ekki nýttir. Nú eru í gangi verkefni sem miða að vinnslu lífefna og lífvirkra efna úr brúnþörungum á stórskala. Niðurstöður þessa verkefnis hafa reynst mikilvægt innilegg í þá þróunarvinnu og aukið þekkingu okkar á brúnþörungum við Ísland.

7. Þakkarorð

Höfundar skýrslunnar þakka Verkefnasjóði sjávarútvegsins fyrir veittan styrk til verkefnisins.

8. Heimildir

- Ahn M.J., Yoon K.D., Min S.Y., Lee J.S., Kim J.H., Kim T.G., Kim S.H., Kim N.G., Huh H. and Kim J. 2004. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(4), 544-547.
- Andrade, L. R., Leal, R. N., Nosedá, M., Duarte, M. E. R., Pereira, M. S., Mourão, P. A. S., et al. 2010. Brown algae overproduce cell wall polysaccharides as a protection mechanism against the heavy metal toxicity. *Marine Pollution Bulletin*, 60(9), 1482-1488.
- Bartsch, I. , Wiencke, C. , Bischof, K. , Buchholz, C. , Buck, B. , Eggert, A. , Feuerpfeil, P. , Hanelt, D. , Jacobsen, S. , Karez, R. , Karsten, U. , Molis, M. , Roleda, M. , Schumann, R. , Schubert, H. , Valentin, K. , Weinberger, F. and Wiese, J. 2008. The genus *Laminaria* sensu lato: recent insights and developments, *European Journal of Phycology*, 43 (1), pp. 1-86 . doi: 10.1080/09670260701711376
- Cerantola S., Breton F., Ar Gall E. and Deslandes E. 2006. Co-occurrence and antioxidant activities of fucol and fucophlorethol classes of polymeric phenols in *Fucus spiralis*. *Botanica Marina*, 49(4), 347-351.
- CEVA. 2010. Réglementation algues alimentaires Synthèse CEVA au 1/04/2010. Pleubian: Centre d'Etude et de valorisation des algues.
- Cumashi, A., Ushakova, N. A., Preobrazhenskaya, M. E., D'Incecco, A., Piccoli, A., Totani, L., et al. 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17(5), 541-552.
- Fredersdorf, J., Müller, R., Becker, S., Wiencke, C., & Bischof, K. 2009. Interactive effects of radiation, temperature and salinity on different life history stages of the Arctic kelp *Alaria esculenta* (Phaeophyceae). *Oecologia*, 160(3), 483–92. doi:10.1007/s00442-009-1326-9.
- Freysdóttir J, Omarsdóttir S, Ingólfssdóttir K, Víkingsson A, Ólafsdóttir ES. 2008. *In vitro* and *in vivo* immunomodulating effect of traditionally prepared aqueous extract and purified compounds from *Cetraria islandica*. *Int Immunopharmacol*; 8: 423-430.
- Freysdóttir J, Sigurpálsson MB, Omarsdóttir S, Ólafsdóttir ES, Víkingsson A, Hardardóttir I. 2011. Ethanol extract from birch bark (*Betula pubescens*) suppresses human dendritic cell mediated Th1 responses and directs it towards a Th17 regulatory response *in vitro*. *Immunol Lett*; 136: 90-96.
- Hashim, M. A., & Chu, K. H. 2004. Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds. *Chemical Engineering Journal*, 97(2-3), 249-255.
- Jonsdóttir G, Omarsdóttir S, Víkingsson A, Hardardóttir I, Freysdóttir J. 2011. Aqueous extracts from *Menyanthes trifoliata* and *Achillea millefolium* affect maturation of human dendritic cells and their activation of allogeneic CD4+ T cells *in vitro*. *J Ethnopharmacol*; 136: 88-93.
- Jormalainen, V., Honkanen, T., Koivikko, R., & Eränen, J. 2003. Induction of phlorotannin production in a brown alga: defense or resource dynamics? *Oikos*, 103(3), 640-650.

- Jung H.A., Hyun S.K., Kim H.R. and Choi J.S. 2006. Angiotensin-converting enzyme I inhibitory activity of phlorotannins from *Ecklonia stolonifera*. *Fisheries Science*, 72(6), 1292-1299.
- Li, B., Lu, F., Wei, X. J., & Zhao, R. X. 2008. Fucoidan: Structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671-1695.
- Maeda, H., Tsukui, T., Sashima, T., Hosokawa, M., & Miyashita, K. 2008. Seaweed carotenoid, fucoxanthin, as a multi-functional nutrient. *Asia Pac J Clin Nutr*, 17, 196-199.
- Nelson D.L., Cox M.M. 2004. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Fourth Edition. Publisher: W. H. Freeman,
- Omarsdottir S, Olafsdottir ES, Freysdottir J. 2006. Immunomodulating effects of lichen-derived polysaccharides on monocyte-derived dendritic cells. *Int Immunopharmacol*; 6: 1642-1650.
- Pavia, H., & Toth, G. B. 2000. Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Hydrobiologia*, 440(1), 299-305.
- Plaza M., Cifuentes A. and Ibanez E. 2008. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in food science & technology*, 19(1), 31-39.
- Rioux, L. E., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 530-537.
- Rioux, L.-E., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. 2010. Structural characterization of laminaran and galactofucan extracted from the brown seaweed *Saccharina longicuris*. *Phytochemistry*, 71(13), 1586-1595.
- Shibata, T., Ishimaru, K., Kawaguchi, S., Yoshikawa H. and Hama, Y. 2007. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *J Appl Phycol*. 9254-9258.
- Verhaeghe, E. F., Fraysse, A., Guerquin-Kern, J. L., Wu, T. D., Deves, G., Mioskowski, C., et al. 2008. Microchemical imaging of iodine distribution in the brown alga *Laminaria digitata* suggests a new mechanism for its accumulation. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 13(2), 257-269.

Viðaukar

International Marine Ingredients Conference, September 22-24 2013, Oslo Norway

Seasonal variance in polyphenol and polysaccharide content in seaweed

Jónsdóttir R¹, Aðalbjörnsson B¹, Kristinsdóttir D², Kristinsson HG², Gunnarsson K³
¹Matís ohf. Vinlandsleid 12, Reykjavík, Iceland; ²Marinox ehf, Vinlandsleid 14, Reykjavík
Iceland; ³Marine Research Institute, Skulagata 4, Reykjavík

The bioactivity, anti-oxidative and potential utilization of chemicals extracted from seaweed has been extensively researched in the recent years. Polysaccharides, such as fucoidan and laminarin, have great bioactivity potential and can be used in functional food, nutraceuticals and cosmetics. The bioactivity includes anticoagulant and antithrombotic, antiviral, antitumor and immunomodulatory, anti-inflammatory, antioxidant properties and gastric protective effects.

We used seaweed samples collected on the east coast of Iceland in 2012 and studied seasonal variance in the polysaccharide content and bioactivity of extracts by comparing samples collected in March, June and October of that year. The species used were *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. Our focus was on the two polysaccharides that have garnered the most interest for their bioactive properties: fucoidan and laminarin. Polysaccharide extracts were subjected to standard bioactivity tests to determine variance between the two species as well as the time of harvest.

Research has focused on phlorotannins and polysaccharides from different species and shown variance in the amount between species. While it is common to state which species is worked with in research there is a lack of specifying which season the seaweed harvested. We will address this season variance and the effect on bioactivity. This factor is important as the different ratio of sugars and polyphenols can affect the bioactivity of seaweed extracts.

Ágrip fyrir veggspjaldakynningu á IFT ráðstefnu í Chicago, júlí 2015

The IFT Annual Meeting being held in Chicago, Illinois, July 11 –14, 2015

The bioactivity of phlorotannins, fucoidans and laminarins in *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*

Jónsdóttir R^{1,2}, Aðalbjörnsson B¹, Kristinsdóttir D², Gunnarsson K³, Kristinsson HG^{1,2}

¹Matís ohf. Vinlandsleid 12, Reykjavík, Iceland; ²Marinox ehf, Vinlandsleid 14, Reykjavík, Iceland; ³Marine Research Institute, Skulagata 4, Reykjavík

Representing author: hordur@matis.is

The bioactivity, anti-oxidative and potential utilization of chemicals extracted from seaweed have been extensively researched in the recent years. Polysaccharides, such as fucoidan and laminarin, have great bioactivity potential, such as antioxidant properties, and can be used in functional food, nutraceuticals and cosmetics.

The overall aim was to study the seasonal variations of bioactive compounds from *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. Seaweed samples were collected in three different locations in Iceland in 2012. The seasonal variance was studied by comparing the polyphenols and polysaccharide content and bioactivity of different extracts. Our focus was on the two polysaccharides that have garnered the most interest for their bioactive properties: fucoidan and laminarin.

Results showed different quantities of polysaccharides and polyphenols confirming that the seaweeds physiology changes over the seasons. Less seasonal changes were seen in the content of fucoidan and laminaran polysaccharides of *F. vesiculosus* compared to *A. nodosum*. The polyphenols content of laminaran fraction varied between seasons and was highest in the same season for both seaweed species. The polyphenol content in the fucoidan fractions was similar between seasons and species. Similar antioxidant activity was seen in the fucoidan extracts from both species but difference was seen between in the laminaran extracts.

In literature it is common to state which species is collected and worked with, in fewer cases the location is mentioned. It is important to specify not only where the seaweed was harvested but when, especially when measuring bioactivity. This factor is important as the different ratio of sugars and polyphenols can affect the bioactivity of seaweed extracts.

Dagný Kristjánsdóttir. 2013. Utilization of Bioactive Polysaccharides from Brown Seaweeds