

A C T A A D R I A T I C A

INSTITUT ZA OCEANOGRAFIJU I RIBARSTVO — SPLIT
FNR JUGOSLAVIJA

Vol. X, No. 1.

ODNOS SADRŽAJA FIZODA I REDUKTIVNIH SUPSTANCA U NEKIM JADRANSKIM SMEĐIM ALGAMA

RELATION BETWEEN THE AMOUNT OF PHYSODES
AND REDUCING COMPOUNDS IN SOME
ADRIATIC BROWN ALGAE

Ivka Munda

SPLIT 1962

ODNOS SADRŽAJA FIZODA I REDUKTIVNIH SUPSTANCA U NEKIM JADRANSKIM SMEDJIM ALGAMA

RELATION BETWEEN THE AMOUNT OF PHYSODES AND REDUCING
COMPOUNDS IN SOME ADRIATIC BROWN ALGAE

Ivka Mundaa

Norsk Institutt for Tang og Tareforskning NTH, Trondheim

UVOD

Za citoplazmu smedih algi karakteristična je prisutnost *fizoda* (C r a t o 1893), tj. vakuola sa tekućim sadržajem koje lako lome svjetlost. Tekući sadržaj ovih vakuola se u botaničkoj literaturi zove fukoza (H a n s t e n 1892). Fukoza ima veoma jake reduktivne osobine i vjerojatno predstavlja smjesu različitih vrsta fenola koji kemijski još nisu bili identificirani. Ipak se može reduktivna snaga prisutnih fenola kvantitativno mjeriti pomoću potenciometričke titracije (H a u g, L a r s e n 1958).

Fizodi lako apsorbiraju vitalne boje iz vakuola. Njihov sadržaj je kiseo (prema reakciji sa krezilnim modrilom i neutralnim crvenilom) i ozmiofilan. Zbog ozmofilije je R e i n k e (1876) smatrao fizode za masne vakuole, a L e T o u z é (1912) je pretpostavljao prisutnost tanina.

C r a t o (1893) je dokazao da fizodi reduciraju srebrni nitrat i da se oboje crveno s vanilin hidrokloridom. Posljednja reakcija značajna je za floroglucin. K y l i n (1912, 1938) je kasnije potvrdio opažanja i zaključio da fizodi sadrže fenola među kojima preovlađuje floroglucinol. Kylin je opazio da se taninski sadržaj fizoda brzo oksidira u alkalnom mediju, tvoreći smeđe obojene supstance.

Fizodi daju specifično obojene reakcije sa diazo-spojevima (H a u g, J e n s e n 1952).

H a n s t e n (1892) je smatrao fizode za stadij pirenoida, koji su se oslobođili u citoplazmu. Schmitz i kasnije Kylin su ih morfološki i prema postanku razlikovali od pirenoida.

C h a d e f a u d (1932) je pretpostavio da se fizode razvijaju iz mitohondrija. Ova pretpostavka može se smatrati inadekvatnom, i fizode možemo danas smatrati posebnom vrstom vakuola nepoznatog porijekla i još nepoznate fiziološke funkcije.

Fizodi se nalaze obično u stanicama gdje je metabolizam najintenzivniji (površinske stanice, inicijalne stanice, gametangiji). Većina autora smatra ih rezervnim supstancama: primarnim ili sekundarnim produktom fotosinteze (K y l i n, H a n s t e n), L e T o u z é i C h a d e f a u d smatraju ih produkтом, ekskrecije.

U samim stanicama fizode su obično sakupljene oko jezgre. Njihov oblik, veličina i broj dosta su varijabilni. Morfološke opise i crteže fizoda nalazimo u radovima mnogih autora (npr. Chadeau 1935).

Bardseth (1958) je u svojim istraživanjima dokazao odnos između količina fizoda i reducirajućih supstanca u nekim atlantskim fukacejama. Izradio je i metodu direktnog kvantitativnog određivanja fizoda.

U toku istraživanja sezonskih varijacija kemijskog sastava nekih najčešćih jadranskih algi (Munda, 1962) opažena je vrlo niska reduktivna moć istih. Daljnja istraživanja odnose se na relaciju između količine fizoda i reduktivnih supstanca u jadranskim smeđim algama.

MATERIJAL I METODIKA RADA

Analize i mjerena izvršena su u Norsk Institutt for Tang-og Tareforsking, Trondheim, Norveška. Algološki materijal bio je poslan s Oceanografskog instituta u Splitu i Instituta za biologiju mora u Rovinju.

Na ovom mjestu se zahvaljujem vodstvu Norsk Institut for Tang-og Taraforsking u Trondheim-u, Norveška za savjete i radne mogućnosti. Isto zahvaljujem asistentima A. Španu i D. Zavodniku sa gore spomenutih jugoslavenskih instituta za algološki materijal.

Reduktivne supstance bile su određene u sljedećim algama:

Cystoseira spicata Erc.

Cystoseira barbata J. Ag.

Cystoseira abrotanifolia C. Ag.

Cystoseira crinita Bory

Cystoseira discors C. Ag.

Fucus virsoides J. Ag.

Sargassum vulgare C. Ag.

Sargassum hornschuchii J. Ag.

Dictyota dichotoma Lam.

Dictyopteris polypodioides (Desf.) Lam.

Padina pavonia Gaill.

Halopteris scoparis (L.) Sauv.

Laminaria rodriguezii Born.

Količina reduktivnih supstanca određena je bila pomoću potenciometrijske titracije H_2SO_4 kiselog ekstrakta sušenih i mljevenih algi. Prije titracije ekstrakti se neutraliziraju sa NaOH i titracija se vrši kalijevim ferocijanidom u alkalnom mediju. Ovu metodiku uveli su Haug i Larsen (1958). Analize svježeg materijala izvedene su bile istom metodom. Količina suhe supstance u uzorcima određena je bila sušenjem na $105^{\circ}C$ 24 h. Količina reduktivnih supstanca izražena je u meqiu za g supstance.

Prisutnost fenolnih supstanca u kiselim ekstraktima kao i u samim algama bila je određena benzidin reagensom (Haug, Jensen 1952).

Količina fizoda određena je prema direktnoj metodici koju je izradio Bardseth (1958). Prethodno je bila određena specifična težina svježih algi.

Svježe alge potrebno je fiksirati u 5% formalinu, u kojem postaje tekući sadržaj fizoda čvrst i rezistentan prema ekstremnim temperaturama i snažnim

kemikalijama (conc NaOH ili HCL). U svježem stanju su fizode nestabilne i vrlo osjetljive prema različitim reagensima. Pod utjecajem formalina stvori se iz sadržaja fizoda taman, tvrd produkt, sličan bakelitu (Chadefau 1935). Poslije fiksacije u formalinu Baardseth se služio fiksativom Karpečenka koji načini tkivo tvrdim i krhkim te time olakša mljevenje i homogenizaciju.

Jadranske alge, naročito Dictyotaceae, u ovom fiksativu nisu dovoljno otvrđele i homogenizacija tkiva nije bila moguća.

U našem primjeru služili smo se maceracijom tkiva u 10% NaOH za 24 h. Uzorci su bili poslije isprani destiliranom vodom, stavljeni u glicerin i mljeveni u staklenom homogenizatoru. Ovim postupkom bila je postignuta potpuna homogenizacija tkiva i dobivena suspenzija slobodnih fizoda.

U uzorcima poznatog volumena određen je bio broj fizoda. U istim uzorcima određivali smo i prosječni volumen fizoda. Mjerili smo dijmetar pojedinačnih fizoda u probama (250 mjerjenja). Fizode su rijetko sasvim okrugle. Određeni prosječni volumeni fizoda bili su naime, određeni s pretpostavkom, da su fizode okrugle. Najdulji dijmetar partikla se smatra za $2r$ kugle. Iz aproksimativnih vrijednosti poprečnog volumena i broja fizoda računao se sadržaj fizoda kao procenat totalnog volumena svježih algi.

Slijedila su informativna opažanja položaja fizoda u stanicama istraživanih algi.

REZULTATI I DISKUSIJA

U istraživanim jadranskim algama bio je prema gore opisanoj metodici određen veoma nijak sadržaj reduktivnih supstanca (Tabela 1, 2) u usporedbi sa atlantskim algama (podaci H a u g, & L a r s e n 1958). Najviše vrijednosti bile su zapažene za vrste *Fucus virsoides* i *Cystoseira crinita* (maksimalni opanjeni iznos 0,7 mequiv/g).

Sezonske varijacije u sadržaju reduktivnih supstanca su neznatne. *Fucus virsoides* ima veće vrijednosti u proljeću i ljeti a najviši iznos bio je zapažen u uzorcima od 21. XI iz Rovinja. *Cystoseira crinita* pokazuje tendenciju pada u reduktivne moći u jeseni. U ostalim promatranim algama količina reduktivnih supstanca je tako mala da ove varijacije padaju u područje analitičkih grešaka.

Promatrajući prosječne vrijednosti godišnjih mjerjenja reduktivnih supstanca, postaje vidljiva razlika među promatranim vrstama pa i među lokalitetima (tabela 4). S iznimkom vrste *Fucus virsoides*, imaju uzorci iz Rovinja niži sadržaj reduktivnih supstanca. Budući da nemamo podatke o salinitetu za vrijeme sakupljanja uzorka algi, ne možemo postaviti zaključke o uzroku ove razlike.

H a u g i L a r s e n (1958) utvrdili su da je reduktivna moć algi zavisna od saliniteta okolne vode (veća u slanoj nego u brakičnoj vodi). Vlastita, još nepublicirana istraživanja (M u n d a, F. Rapport N 111, Norsk Institutt for Tang og Tareforskning) utjecaja saliniteta na kemijski sastav fukaceja pokazala su da se reduktivna moć algi mijenja, ako se prenesu iz brakične u morsku vodu, i obratno. Dapače, ove promjene nastupe tek poslije jedan do dva mjeseca jer fenoli ne učestvuju u aktivnom metabolizmu. Moglo bi se zato prepo-

Table 1

REDUKCIONE SUBSTANCIJE (mequiv/g) ODREĐENE NA SUŠENOM MATERIJALU
REDUCING COMPOUNDS (mequiv/g) DETERMINED ON DRY MATERIAL

I

ROVINJ

	Datum	21/11	20/12	25/1	11/2	23/3	22/4	23/5	14/6	16/7	18/8	19/9	28/10	16/11
<i>Cystoseira barbata</i>		0.054	0.139	0.062	0.046	0.077	0.077	0.051	—	0.103	0.103	0.036	0.030	0.030
<i>Cystoseira abrotanifolia</i>		—	—	0.098	0.025	0.025	0.033	0.063	0.077	0.077	0.051	0.026	0.020	0.031
<i>Fucus virsoides</i>		0.725	0.513	0.399	0.235	0.308	0.610	0.650	0.696	0.465	—	—	0.103	0.103
<i>Sargassum horneri</i>		0.036	—	0.026	0.025	0.025	0.036	0.042	—	0.026	0.025	0.020	0.020	0.026
<i>Cystoseira crinita</i>		0.413	0.334	0.130	0.255	0.670	—	0.309	0.310	0.309	0.225	0.041	0.036	0.030
<i>Dictyota dichotoma</i>		0.026	0.019	0.017	0.018	0.010	0.005	—	—	0.011	—	0.015	0.018	0.011
<i>Padina pavonia</i>		0.040	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Halopteris scoparia</i>		0.020	0.020	0.025	0.019	0.025	0.011	0.022	0.036	0.015	0.041	0.015	—	0.015

Table 2

REDUKCIONE SUBSTANCIJE (mequiv/g) ODREĐENE NA SUŠENOM MATERIJALU
REDUCING COMPOUNDS (mequiv/g) DETERMINED ON DRY MATERIAL

II

SPLIT

	Datum	10/10	30/12	31/1	3/3	31/3	5/5	8/6	5/7	1/9
<i>Cystoseira spicata</i>		0.058	0.052	0.077	0.072	0.093	0.046	0.041	0.036	0.041
<i>Cystoseira barbata</i>		0.097	0.154	0.103	0.123	0.140	0.067	0.067	0.077	0.072
<i>Cystoseira abrotanifolia</i>		0.059	0.051	0.124	0.051	0.082	0.061	0.067	0.052	0.067
<i>Cystoseira crinita</i>		—	—	—	—	—	—	—	—	0.041
<i>Cystoseira discors</i>		—	—	—	—	—	—	—	—	0.062
<i>Fucus virsoides</i>		0.095	—	0.231	0.125	0.149	0.311	0.293	0.237	0.360
<i>Sargassum vulgare</i>		—	—	0.067	0.062	0.067	0.036	0.025	—	0.036
<i>Dictyota dichotoma</i>		—	—	0.041	0.056	0.056	0.043	0.026	0.025	0.031
<i>Dictyopteris polypodioides</i>		—	—	0.041	0.041	0.036	0.023	0.020	—	—
<i>Padina pavonia</i>		0.020	—	—	—	—	—	—	—	0.005
<i>Halopteris scoparia</i>		—	—	0.067	0.051	0.056	0.035	0.007	0.010	0.025
<i>Laminaria rodriguezii</i> , 10/8		0.005	—	—	—	—	—	—	—	—

staviti da relativno niži salinitet sjeverno-jadranskih lokaliteta prouzrokuje prosječno nižu reduktivnu moć algi.

Da bi se utvrdilo, u koliko se po mogućnosti reduktivne supstance inaktiviraju za vrijeme sušenja algi, reduktivna moć bila je mjerena istom metodikom na svježem materijalu. Rezultati bili su istog reda veličine. (Tabela 3).

Table 3

III

REDUKCIONE SUBSTANCE (mequiv/g) (ODREĐENE NA SVJEŽEM MATERIJALU)
SPLIT (februar)

REDUCING COMPOUNDS (mequiv/g) DETERMINED ON FRESH MATERIAL
(February)

<i>Cystoseira abrotanifolia</i>	0,061
<i>Cystoseira barbata</i>	0,082
<i>Cystoseira spicata</i>	0,051
<i>Fucus virsoides</i>	0,206
<i>Sargassum vulgare</i>	0,038
<i>Dictyota dichotoma</i>	0,047
<i>Dictyopteris polypodioides</i>	0,031
<i>Padina pavonia</i>	0,020
ROVINJ (februar)	
<i>Cystoseira abrotanifolia</i>	0,051
<i>Cystoseira barbata</i>	0,076
<i>Cystoseira crinita</i>	0,101
<i>Halopteris scoparia</i>	0,030

Reduktivna sposobnost bila je općenito veća u istraženim fukacejama nego u diktiotacejama i u vrstama *Halopteris scoparia* i *Laminaria rodriguezii*.

Prisutnost je fenola bila naknadno istražena sa benzidin reagensom (Haug, Jensen 1952). Kiseli ekstrakti algi reagirali su negativno, samo vrste *Fucus virsoides* i *Cystoseira crinita* dali su slabu reakciju praćenu promjenom boje. Samo tkivo algi reagiralo je pozitivno s ovim reagensom u svim pokušima. Iz toga se može zaključiti da su fenolne supstance prisutne u jadranskim algama u takvom obliku koji onemogućuje njihovu ekstrakciju.

Količina fizoda određena je bila na svježim algama i izražena kao procenat totalnog volumena algi.

Baardseth je u svojim istraživanjima odredio odnos između reduktivnih supstanca i volumenskih % fizoda u algama. Našao je pozitivnu korelaciju.

Nadjeni volumski procen fizoda u našim uzorcima bio je istog reda veličine kao u atlantskim algama (tabela 4; prim. Baardseth 1958), dok je njihova reduktivna moć bila znatno manja. Sa gledišta podataka, koji su bili dobiveni za atlantske vrste, tu ne postoji relacija između volumena fizoda i mjerene reduktivne moći. Visoki volumski procenat fizoda ipak potvrđuje prijašnju postavku da su fenolne supstance prisutne u jadranskim algama u takvom stanju u kojem se ne mogu ekstrahirati.

Među istraživanim vrstama *Fucus virsoides* pokazuje najviši sadržaj fizoda, dok *Dictyota dichotoma* i *Halopteris scoparia* najniži. Sa tog gledišta, dakle, postoji zavisnost od količine reduktivnih supstanca. Vrste roda *Cystoseira* slabije pokazuju ove odnose.

Prethodno su bili fizodi promatrani mikroskopski u samim stanicama. U fukacejama su sakupljene oko jezgre i u površinskim tkivima zauzimaju veći dio staničnog lumena. To važi za sve ispitane vrste roda *Cystoseira* i vrste *Fucus virsoides*, dok *Sargassum vulgare* sadrži manje fizoda. Još manje fizoda bilo je opaženo kod vrste *Dictyota dichotoma*, a kod vrste *Halopteris scoparia* samo u inicijalnim stanicama.

Najveći poprečni diametar fizoda pokazuju *Cystoseira barbata* ($5,8 \mu$) i *Cystoseira spicata* ($5,2 \mu$), dok imaju *Cystoseira abrotanifolia* i *Fucus virsoides* promjer fizoda u istom redu veličine ($4,9 \mu$). Ostale ispitane vrste imaju znatno manji poprečni promjer fizoda (tabela 4).

Table 4
IV
FIZODE
FIZODE — PHYSODES

	specifična težina algi spec. weight of algae	metar fizoda 2mr (μ) average phy- sode diameter	% volumen fizoda % physode volume	prosjek redukcionih substanca (mequiv/g) average amount of reducing compounds
<i>Cystoseira barbata</i>	1,03	5,83	6,18	S 0,100
	—	1,36	2,41	R 0,067
<i>Cystoseira spicata</i>	1,17	5,22	5,08	S 0,057
	—	1,25	2,24	—
<i>Cystoseira abrotanifolia</i>	1,07	4,95	4,06	S 0,068
	—	1,29	1,18	R 0,047
<i>Fucus virsoides</i>	1,05	4,93	10,60	S 0,226
	—	2,12	2,48	—
	—	0,82	1,50	R 0,412
<i>Sargasum vulgare</i>	1,10	2,33	3,04	S 0,048
	—	—	—	R 0,028
<i>Dictyota dichotoma</i>	1,08	2,58	0,72	S 0,039
	—	—	—	R 0,013
<i>Halopteris scoparia</i>	1,10	2,61	0,97	S 0,035
	—	—	—	R 0,022

S = Split

R = Rovinj

Fizodi su vidljivi u homogenizatu tkiva kao jako refringentni, žućkasti partikli koji su slabo dvolomni. Red veličine je od prilike 2 do 5μ . Baardseth je u svojim istraživanjima uzimao u obzir samo ovakve partikle, dok je manje zanemario. U našim opažanjima smo uzeli u obzir i manje partikle, koji manje lome svjetlo (u mikroskopu modre boje). Red veličine je oko 1μ . Manji partikli mjereni su posebno i navedeni za sebe u tabeli 4. Homogenizat tkiva istraživanih algi dao je slijedeću sliku:

Cystoseira barbata, *Cystoseira spicata* i *Cystoseira abrotanifolia*: jako refringentne fizode veličine $4-5 \mu$ koje iznose veći dio totalnog volumena fizoda (4–6 vol. %), manji, modro svjetleći partikli (veličina otprilike $1,3 \mu$), iznose 1–2 vol. % od totalnog volumena algi.

Fucus virsoides: opažene tri kategorije partikla: refringentni ($4,9 \mu$), mokođe svjetleći ($2,1 \mu$) i još manji partikli ($0,8 \mu$), koji u mikroskopu ne lome svjetlo.

Sargassum vulgare: samo refringentne fizode ($2,3 \mu$).

Dictyota dichotoma i *Halopteris scoparia*: samo refringentne fizode (popr. $2,6 \mu$) koji iznose manje od 1 vol. %.

Pitanje kemijskog sastava opaženih fizoda ostaje još neriješeno. Već Chadefaud (1932) je opazio više tipova fizoda koje je dijelio u kategorije: fizode sa fukozaonom, metahromatske fizode i fizode koje slabo lome svjetlo. Ovaj autor također prepostavlja da se u nekim fizodama mogu nalaziti samo pojedinačna zrna fucozana. Za vrstu *Cystoseira ericoides* nаваđa prisutnost refringentnih fizoda, veličine oko 4μ koji ne sadrže fukozanu i ne bojadišu se.

Na bazi naših opažanja mogli bismo ipak pretpostaviti da su fenolne supstance glavni sastojak fizoda. To potvrđuje i pozitivna reakcija tkiva sa fenolnim reagensom. Pitanje postoji prije svega za slabo refringentne partikle, reda veličine oko 1μ . Zbog maceracije tkiva u 10% NaOH je ipak mala mogućnost da su proteini i ugljični hidrati ostali nerazgrađeni.

ZAKLJUČCI

Reduktivne supstance, mjerene potenciometrijskom titracijom, nalaze se u jadranskim algama u neznatnim količinama. Relativno visok iznos nađen je samo za vrste *Fucus virsoides* i *Cystoseira crinita*. Reduktivnih supstanca ima više u fukacejama nego u diktiotacejama i u vrsti *Halopteris scoparia*.

Reduktivne supstance, određene na svježem materijalu su istog reda veličine kao na sušenom materijalu. Fenolne supstance se, dakle, ne inaktiviraju u toku sušenja algi.

Kiseli ekstrakti algi reagiraju negativno s benzidinreagensom (osim kod vrsta *Fucus virsoides* i *Cystoseira crinita*), a samo tkivo algi reagira pozitivno. Iz toga možemo zaključiti da su fenolne supstance prisutne u jadranskim algama u stanju koje onemogućava njihovu ekstrakciju.

Prosječne vrijednosti godišnjih mjerjenja reduktivnih supstanca su niže za materijal iz sjevernog Jadrana (iznimka *Fucus virsoides*). Možda bi se ova razlika mogla pripisati utjecaju saliniteta. Na atlantskim algama dokazana je bila korelacija između reduktivne moći i saliniteta okolne vode (Haug, Larson 1958).

Količina fizoda, izražena kao volumski procenat svježih algi, je istog reda veličine kao u atlantskim algama, dok je količina određenih reduktivnih supstanca znatno manja. Najviši iznos fizoda je bio zapažen kod vrste *Fucus virsoides* a najniži za vrste *Dictyota dichotoma* i *Halopteris scoparia*. U tom pogledu ipak postoji odnos do množine reduktivnih supstanca.

Opažene fizode bile su različitog reda veličine. Njihov kemijski sastav nije razjašnjen. Može se ipak pretpostavljati da u sastavu fizoda prevladaju fenolne supstance, jer maceracija tkiva u 10%-noj lužini vjerojatno povlači sa sobom razgradnju proteina i ugljičnih hidrata.

BIBLIOGRAFIJA

- Baardseth, E.: A Method of Estimation the Physode Content in Brown Algae.
Norsk Institutt for Tang og Tareforskning Rep. N. 20, 1958.
- Chadefaud, M.: Sur les physodes des Pheophycées. C. R. Acad. Sci. Paris,
194, 1932.
- Chadefaud, M.: Le cytoplasme des algues vertes et des algues brunes, ses éléments figurés et ses inclusions. Thèse, Paris, 1935.
- Crato, E.: Morphologische und microchemische Untersuchungen über die Physoden. Bot. Zeitschr. 51, 1893.
- Ercegović, A.: Jadranske cistozire, Split 1952.
- Haug, A., Larsen, B.: Phenolic Compounds in Brown Algae. Acta chem. scand.
12, 1958.
- Haug, A., Larsen, B.: Chemical Composition of the Brown Alga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Nature V 181, 1958.
- Haug, A., Jensen, A.: Fargreaksjon til adskillelse av stortare (*Laminaria clavostriata*) og fingertare (*Laminaria digitata*). Tidskr. kjemi. bergv. metall. 12
138, 1952.
- Kylin, H.: Über die Inhaltskörper der Fucoideen. Ark. für Botanikk 11, 1912.
- Kylin, H.: Bemerkungen über die Fucosanblasen der Phaeophyceen. Kungl. fysiogr. sällsk. fohr., Lund B 8 N 20, 1938.
- Mundia, I.: Geographical and Seasonal Variations in the Chemical Composition of some Adriatic *Phaeophyceae*. Nova Hedwigia (BIV H 1/2) 1962.

RELATION BETWEEN THE AMOUNT OF PHYSODES AND REDUCING COMPOUNDS IN SOME ADRIATIC BROWN ALGAE

S U M M A R Y

by Ivka Mundia

The reducing compounds, present in brown algae are a mixture of different kinds of phenols, probably related to the tannins. These reducing substances are contained in the physodes or fucosan vesicles which represent a special kind of vacuoles. The reducing compounds can be measured by potentiometric titration.

In the investigated Adriatic brown algae were the reducing compounds very low, as compared with the Atlantic species (Haug, Larsen 1958). The highest amount was found in *Fucus virsoides* and *Cystoseira crinita* (up to 0,7 mequiv per g dry matter). The seasonal variations of these compounds were observed.

The reducing compounds were determined previously in the dried material only. In order to find out if the phenols were inactivated during drying, investigations of the fresh material were carried out. The amount of the reducing compounds determined in the fresh material was of the same order of magnitude as in the dried material.

The acid extract of the seaweed meal reacted negatively with the benzidin reagent (Haug, Jensen 1952), while the meal itself gave a positive reaction in all the observed species. Only extracts of *Fucus virsoides* and *Cystoseira crinita* gave a weak colour reaction with the mentioned reagent.

To obtain information about the relation of the amount of physodes and the reducing compounds, the total physode volume of the samples (expressed as volume % of the fresh algae) was determined. For these determinations the method introduced by Bardseth (1958) was used. The mean physode volume was determined and multiplied by the physode number.

The physode volume (as % of the whole tissue volume) was of the same order of magnitude as that in the investigated Atlantic algae (Bardseth 1958), though the reducing power was much lower. Among the Adriatic species investigated, *Fucus virsoides* showed the highest, and *Dictyota dichotoma* the lowest physode volume. In this respect there was a correlation with the reducing power. In the *Cystoseirae* this correlation was less obvious.

In the light of the present observations one could assume that the phenolic compound are present in the Adriatic algae (as indicated by the positive reaction of the meal with the phenolic reagent and relatively high physode volume), but are not extractable (negative reaction of the extract with the phenolic reagent, low reducing power).

The question of the composition of the fucosan vesicles present in Adriatic algae remains thus unsolved. Most probably only phenolic compounds are present, the proteins and carbohydrates being destroyed during the alkali treatment, which preceded the homogenisation of the tissue.

Tisak *Nevinsko-izdavačkog poduzeća »Slobodna Dalmacija« — Split*