



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Disertační práce

**Optimalizace metodiky na stanovení stravitelnosti
mořských a sladkovodních řas**

**Optimization of Methods of Digestibility Determination of Marine
and Freshwater Algae**

Ing. Ludmila Machů

Program: Chemie a technologie potravin (P2901)

Obor: Technologie potravin (2901V013)

Školitel: doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

Konzultant: Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Zlín, 2016

Poděkování:

Velké díky patří především mé konzultantce Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky v průběhu celého studia. Stejně tak bych chtěla poděkovat mému školiteli doc. Miroslavu Fišerovi, CSc. V neposlední řadě mé poděkování patří mé rodině, přátelům a kolegům za neutuchající podporu.

Motto:

„Věda nikdy nevyřeší jeden problém, aniž by vyprodukovala deset dalších.“

George Bernard Shaw

ABSTRAKT

Disertační práce je zaměřena na stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas enzymaticko–gravimetrickou *in vitro* metodou a na stanovení vybraných faktorů, které mohou hodnoty stravitelnosti ovlivnit. Konkrétně se práce zabývá stanovením stravitelnosti sušiny, stravitelnosti organické hmoty, koeficientu stravitelnosti dusíkatých látek a stravitelnosti vybraných chemických prvků, přičemž je současně statisticky hodnocen i vliv doby hydrolýzy a různého hydrolyzačního činidla na hodnoty stravitelnosti. Předmětem práce je i určení obsahu polyfenolických látek a vlákniny včetně pektinových látek, jakožto vybraných faktorů ovlivňujících hodnoty stravitelnosti. V neposlední řadě práce obsahuje i stanovené obsahy sušiny, popela, dusíkatých látek a vybraných chemických prvků, coby nedílnou součást následných analýz a výpočtů.

Ke stanovení byly vybrány produkty ze sladkovodních sinic a řas (*Spirulina* – sinice *Spirulina platensis*, *Chlorella* – řasa *Chlorella pyrenoidosa*) i mořských červených řas (Dulse – *Palmaria palmata*, Nori – *Porphyra tenera*) a hnědých řas (*Arame* – *Eisenia bicyclis*, Hijiki – *Hizikia fusiformis*, Kombu – *Laminaria japonica*, Wakame a Wakame instant – *Undaria pinnatifida*) dostupných na českém trhu.

Na základě provedených analýz bylo zjištěno, že obecně hodnoty stravitelnosti mořských i sladkovodních řas jsou vysoké a jsou závislé nejen na délce enzymatické hydrolýzy, ale i na zvoleném hydrolyzačním činidle a na obsahu látek ovlivňujících tyto hodnoty. U jednotlivých druhů řas bylo stanoveno vysoké množství polyfenolických látek i vlákniny včetně pektinů. Statistickým vyhodnocením pomocí korelací bylo dokázáno, že obsah právě těchto látek stravitelnost sladkovodních a mořských řas významně ovlivňuje.

Klíčová slova: sladkovodní řasy; mořské řasy; stravitelnost; sušina; popel; dusíkaté látky; polyfenolické látky; vláknina; korelace.

ABSTRACT

Dissertation thesis is focused on seaweed and freshwater algae digestibility determination by enzymatic–gravimetric *in vitro* method, and determination of selected factors which are able to influence digestibility values. Namely, study deals with determination of dried matter digestibility, organic matter digestibility, nitrogen compounds digestibility coefficient and digestibility of selected elements. Simultaneously, the effect of diverse hydrolysis time and hydrolysis agents on digestibility values is statistically evaluated. Content of polyphenolic compounds and dietary fibre including pectic compounds is also a topic of this study just as the content of selected factors influencing digestibility values. Last but not least, this study contains set amounts of dried matter, ash, nitrogen compounds and selected elements as a inseparable part of subsequent analyses and calculations.

Products available on Czech market from freshwater algae and cyanobacterium (Spirulina – cyanobacterium *Spirulina platensis*, Chlorella – alga *Chlorella pyrenoidosa*), red seaweed (Dulse – *Palmaria palmata*, Nori – *Porphyra tenera*) and brown seaweed (Arame – *Eisenia bicyclis*, Hijiki – *Hizikia fusiformis*, Kombu – *Laminaria japonica*, Wakame a Wakame instant – *Undaria pinnatifida*) were chosen for the investigation purpose.

Based on provided analyses, it was investigated that digestibility values of freshwater algae and seaweed in general are high and also dependent on the length of enzymatic hydrolysis, on the type of chosen hydrolysis agent and on the concentration of compounds influencing digestibility values. In all algal food products, a high amount of polyphenolic compounds and dietary fibre including pectic compounds was investigated. Moreover, statistic evaluation by way of correlation has proved that concentration of these compounds affects digestibility of seaweed and freshwater algae.

Keywords: freshwater algae; seaweed; digestibility; dry matter; ash; nitrogen compounds; polyphenolic compounds; dietary fibre; correlation.

OBSAH PRÁCE

Abstrakt	1
Abstract	2
Obsah práce	3
Seznam ilustrací	6
Seznam tabulek	10
Seznam zkratk a značek	13
SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	19
1.1 Obecná charakteristika řas	19
1.2 Charakteristika produktů z řas dostupných v ČR	20
1.2.1 <i>Spirulina (Spirulina platensis)</i>	20
1.2.2 <i>Chlorella (Chlorella pyrenoidosa)</i>	21
1.2.3 <i>Arame (Eisenia bicyclis)</i>	22
1.2.4 <i>Hijiki (Hizikia fusiformis)</i>	22
1.2.5 <i>Kombu (Laminaria japonica)</i>	23
1.2.6 <i>Wakame (Undaria pinnatifida)</i>	24
1.2.7 <i>Nori (Porphyra tenera)</i>	24
1.2.8 <i>Dulse (Palmaria palmata)</i>	25
1.3 Chemické složení a nutriční hodnota řas	26
1.4 Trávení	27
1.4.1 <i>Trávicí soustava</i>	29
1.4.2 <i>Trávení sacharidů</i>	32
1.4.3 <i>Trávení lipidů</i>	32
1.4.4 <i>Trávení proteinů</i>	32
1.5 Stravitelnost	33
1.5.1 <i>Metody stanovení stravitelnosti</i>	33
1.5.2 <i>Faktory ovlivňující stravitelnost</i>	36
2 CÍL PRÁCE	38
3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ	40
3.1 Materiál	40
3.2 Úprava vzorků k analýzám	40
3.3 Stanovení základních nutričních charakteristik	41

3.3.1	<i>Stanovení obsahu vlhkosti</i>	41
3.3.2	<i>Stanovení obsahu popela</i>	41
3.3.3	<i>Stanovení obsahu dusíkatých látek</i>	42
3.3.4	<i>Stanovení obsahu vybraných prvků</i>	42
3.4	Stanovení stravitelnosti	44
3.4.1	<i>Stravitelnost sušiny</i>	45
3.4.2	<i>Stravitelnost organické hmoty</i>	46
3.4.3	<i>Stravitelnost dusíkatých látek</i>	47
3.4.4	<i>Stravitelnost vybraných prvků</i>	48
3.5	Sledování změn proteinových profilů po enzymatické hydrolýze	49
3.6	Stanovení polyfenolických látek	51
3.6.1	<i>Stanovení polyfenolických látek metodou molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti</i>	51
3.6.2	<i>Stanovení polyfenolických látek metodou RP–HPLC</i>	53
3.7	Stanovení vlákniny	54
3.7.1	<i>Stanovení hrubé vlákniny</i>	54
3.7.2	<i>Stanovení neutrálně–detergentní vlákniny</i>	56
3.7.3	<i>Stanovení acido–detergentní vlákniny</i>	57
3.7.4	<i>Stanovení acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek</i>	58
3.7.5	<i>Stanovení pektinových látek</i>	58
3.8	Statistické vyhodnocení dat	60
4	HLAVNÍ VÝSLEDKY PRÁCE	62
4.1	Obsah sušiny, popela a dusíkatých látek	62
4.2	Obsah vybraných prvků	63
4.3	Stravitelnost sušiny a organické hmoty	70
4.4	Stravitelnost dusíkatých látek	75
4.5	Stravitelnost vybraných prvků	80
4.5.1	<i>Stravitelnost makrobiogenních prvků</i>	80
4.5.2	<i>Stravitelnost oligobiogenních prvků</i>	84
4.5.3	<i>Stravitelnost toxických prvků</i>	88
4.6	Sledování změn proteinových profilů po enzymatické hydrolýze	93
4.7	Stanovení polyfenolických látek	94

4.7.1	<i>Stanovení polyfenolických látek metodou molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti</i>	94
4.7.2	<i>Stanovení polyfenolických látek metodou RP–HPLC</i>	96
4.8	Stanovení vlákniny	99
4.8.1	<i>Stanovení hrubé vlákniny</i>	99
4.8.2	<i>Stanovení neutrálně–detergentní vlákniny</i>	100
4.8.3	<i>Stanovení acido–detergentní vlákniny</i>	101
4.8.4	<i>Stanovení pektinových látek</i>	103
4.9	Zhodnocení vlivu různých faktorů na stravitelnost řas	105
4.9.1	<i>Vliv polyfenolických látek na hodnoty stravitelnosti</i>	105
4.9.2	<i>Vliv vlákniny na hodnoty stravitelnosti</i>	108
5	PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI	112
	Závěr	114
	Literatura	117
	Seznam publikací	134
	Curriculum vitae	137

SEZNAM ILUSTRACÍ

<i>Obrázek 1: Spirulina platensis (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Spirulina).</i>	20
<i>Obrázek 2: Chlorella pyrenoidosa (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Chlorella).</i>	21
<i>Obrázek 3: Eisenia bicyclis (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Arame).</i>	22
<i>Obrázek 4: Hizikia fusiformis (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Hijiki).</i>	23
<i>Obrázek 5: Laminaria japonica (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Kombu).</i>	23
<i>Obrázek 6: Undaria pinnatifida (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Wakame).</i>	24
<i>Obrázek 7: Porphyra tenera (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 200x; vpravo: produkt Nori).</i>	25
<i>Obrázek 8: Palmaria palmata (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Dulse).</i>	26
<i>Obrázek 9: Trávicí soustava [88]</i>	31
<i>Obrázek 10: Graf kalibrační křivky kyseliny gallové a rovnice lineární regrese.</i>	52
<i>Obrázek 11: Graf kalibrační křivky jablečného pektinu a rovnice lineární regrese.</i>	60
<i>Obrázek 12: Souhrnný obsah stanovených makrobiogenních ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) a oligobiogenních ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) prvků v produktech ze sladkovodních a mořských řas.</i>	66

- Obrázek 13: Obsah toxických prvků – Cd, Pb, Hg (ng.g^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas a jejich limity ve Francii. _____ 68
- Obrázek 14: Souhrnný obsah vápníku a hořčíku – Ca + Mg (g.100g^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolýzou (původní), po hydrolýze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (PP). _____ 83
- Obrázek 15: Souhrnný obsah stanovených oligobiogenních prvků (mg.kg^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolýzou (původní), po hydrolýze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (PP). _____ 87
- Obrázek 16: Souhrnný obsah stanovených toxických prvků (mg.kg^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolýzou (původní), po hydrolýze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (PP). _____ 92
- Obrázek 17: Souhrnné obsahy stanovených polyfenolických látek ($\mu\text{g.g}^{-1}$) v produktech ze sladkovodních a mořských řas. _____ 97
- Obrázek 18: Obsah hrubé vlákniny – CF (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*). _____ 100
- Obrázek 19: Obsah neutrálně–detergentní vlákniny – NDF (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*). _____ 101
- Obrázek 20: Obsah acido–detergentní vlákniny – ADF a acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek – ADFP (%) v produktech ze sladkovodních a

mořských řas (*S* – *Spirulina platensis*; *C* – *Chlorella pyrenoidosa*; *D* – *Palmaria palmata*; *N* – *Porphyra tenera*; *A* – *Eisenia bicyclis*; *K* – *Laminaria japonica*; *H* – *Hizikia fusiformis*; *W*, *Wi* – *Undaria pinnatifida*). _____ 102

Obrázek 21: Obsah pektinových látek (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (*S* – *Spirulina platensis*; *C* – *Chlorella pyrenoidosa*; *D* – *Palmaria palmata*; *N* – *Porphyra tenera*; *A* – *Eisenia bicyclis*; *K* – *Laminaria japonica*; *H* – *Hizikia fusiformis*; *W*, *Wi* – *Undaria pinnatifida*) získaný spektrofotometrickým stanovením. _____ 104

Obrázek 22: Grafické zobrazení a hodnota korelace (*r*) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF; mg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (*K_S*; %) na hladině významnosti 5 % (*P* < 0,05). _____ 106

Obrázek 23: Grafické zobrazení a hodnota korelace (*r*) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF; mg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností makrobiogenních prvků (%) na hladině významnosti 5 % (*P* < 0,05). _____ 106

Obrázek 24: Grafické zobrazení a hodnota korelace (*r*) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených metodou HPLC (PF–HPLC; μg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (DMD; %) na hladině významnosti 5 % (*P* < 0,05). _____ 107

Obrázek 25: Grafické zobrazení a hodnota korelace (*r*) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených metodou HPLC (PF–HPLC; μg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností oligobiogenních prvků (%) na hladině významnosti 5 % (*P* < 0,05). _____ 107

Obrázek 26: Grafické zobrazení a hodnota korelace (*r*) mezi obsahem acido–detergentní vlákniny (ADF; %) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas

a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (K_S ; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$). _____ 108

Obrázek 27: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem hrubé vlákniny (CF; %) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (K_S ; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).

_____ 109

Obrázek 28: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem pektinových látek (%) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (DMD; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$). _____ 109

Obrázek 29: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem pektinových látek (%) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (OMD; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$). _____ 110

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Přehled trávení jednotlivých složek potravy a enzymů v trávicím traktu člověka [84].</i>	28
<i>Tabulka 2: Přehled vzorků řas a sinice použitých k analýzám.</i>	40
<i>Tabulka 3: Metody použité k rozkladu vzorků řas a stanovení chemických prvků [117].</i>	43
<i>Tabulka 4: Matice doby působení enzymů pepsinu a pankreatinu při enzymatické hydrolýze produktů z řas.</i>	45
<i>Tabulka 5: Přehled extrakčních postupů (1 – 5) pro stanovení celkových polyfenolických látek.</i>	51
<i>Tabulka 6: Obsah sušiny, popela a dusíkatých látek (%) ve vzorcích řas.</i>	63
<i>Tabulka 7: Obsah makrobiogenních prvků – K, Ca, Mg, Na, P ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) v produktech ze sladkovodních a mořských řas.</i>	64
<i>Tabulka 8: Obsah oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v produktech ze sladkovodních a mořských řas.</i>	65
<i>Tabulka 9: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pepsinem.</i>	70
<i>Tabulka 10: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pankreatinem.</i>	72
<i>Tabulka 11: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.</i>	73
<i>Tabulka 12: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pepsinem.</i>	76

<i>Tabulka 13: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pankreatinem.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabulka 14: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabulka 15: Stravitelnost makrobiogenních prvků – K, Ca, Mg, Na, P (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabulka 16: Stravitelnost makrobiogenních prvků – Ca, Mg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem a kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabulka 17: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabulka 18: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabulka 19: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabulka 20: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.....</i>	<i>89</i>
<i>Tabulka 21: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabulka 22: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.....</i>	<i>91</i>
<i>Tabulka 23: Závislost použité extrakční metody na množství stanovených celkových polyfenolů ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ GAE).....</i>	<i>95</i>

Tabulka 24: Obsah vybraných polyfenolických látek v produktech z řas
vyjádřený v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku.98

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

4HBA	4–hydroxybenzoová kyselina
A	Arame, <i>Eisenia bicyclis</i>
AAS	atomová absorpční spektrometrie
ADF	obsah acido–detergentní vlákniny (%)
ADFP	obsah acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (%)
AES	atomová emisní spektrometrie
A _i	obsah plochy píku stanovované polyfenolické látky ve vzorku (mAU.s)
A _{is}	obsah plochy píku stanovované polyfenolické látky se standardním přídatkem ve vzorku (mAU.s)
ANOVA	variační analýza
AR	hmotnost vzorku po inkubaci, sušení a mineralizaci (bez sáčku) (g)
C	<i>Chlorella</i> , <i>Chlorella pyrenoidosa</i>
CAT	katechin
c ₁	korekce hmotnosti sáčku po inkubaci
c ₂	korekce hmotnosti sáčku po mineralizaci
c _{ADF1}	korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze pro stanovení ADF
c _{ADF2}	korekce hmotnosti sáčku po spálení pro stanovení ADF
c _{ADFP1}	korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze pro stanovení ADFP
c _{ADFP2}	korekce hmotnosti sáčku po spálení pro stanovení ADFP
c _{CF1}	korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze pro stanovení CF
c _{CF2}	korekce hmotnosti sáčku po spálení pro stanovení CF
CF	obsah hrubé vlákniny (%)
CG	katechingallát

c_i	koncentrace stanovované polyfenolické látky ve vzorku ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
c_{NDF1}	korekce hmotnosti sáčku po hydrolyze pro stanovení NDF
c_{NDF2}	korekce hmotnosti sáčku po spálení pro stanovení NDF
c_s	koncentrace standardního přídávku polyfenolické látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
CuSO_4	síran měďnatý
ČSN	česká technická norma
D	Dulse, <i>Palmaria palmata</i>
DAD	diodové pole
DM	obsah sušiny ve vzorku (g)
DMD	stravitelnost sušiny (%)
DMR	hmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (bez sáčku) (g)
EC	Enzyme Commission number
EC	epikatechin
ECG	epikatechingallát
EGC	epigallokatechin
EGCG	epigallokatechin gallát
ET–AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
f	přepočítávací faktor ($f = 6,25$)
F–AAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
FIP–U/g	jednotka enzymové aktivity
g	gram
GA	kyselina gallová
GAE	ekvivalent kyseliny gallové
h	hodina
H	Hiziki/Hijiki, <i>Hizikia fusiformes</i>

H ₂ O ₂	peroxid vodíku
H ₂ SO ₄	kyselina sírová
HCl	kyselina chlorovodíková
HNO ₃	kyselina dusičná
HPLC	vysocíúčinná kapalinová chromatografie
Hz	Hertz
K	Kombu/Konbu/Kelp, <i>Laminaria japonica</i>
kDa	kilodalton
K _s	koeficient stravitelnosti (%)
l	litr
M	mol.l ⁻¹
m ₁	hmotnost prázdného sáčku (g)
m ₂	navážka vzorku (g)
m ₃	hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a vysušení (g)
m ₄	hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a mineralizaci (g)
mA	miliampér
m _{ADF1}	hmotnost prázdného sáčku pro stanovení ADF (g)
m _{ADF2}	navážka vzorku pro stanovení ADF (g)
m _{ADF3}	hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení ADF (g)
m _{ADF4}	hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení ADF (g)
m _{ADFP1}	hmotnost prázdného sáčku pro stanovení ADFP (g)
m _{ADFP2}	navážka vzorku pro stanovení ADFP (g)
m _{ADFP3}	hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení ADFP (g)

m _{ADFP4}	hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení ADFP (g)
m _{CF1}	hmotnost prázdného sáčku pro stanovení CF (g)
m _{CF2}	navážka vzorku pro stanovení CF (g)
m _{CF3}	hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení CF (g)
m _{CF4}	hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení CF (g)
MFB	mobilní fáze B
m _i	hmotnost vysušeného sáčku po inkubaci (g)
min	minuta
ml	mililitr
m _m	hmotnost sáčku po mineralizaci (g)
m _{NDF1}	hmotnost prázdného sáčku pro stanovení NDF (g)
m _{NDF2}	navážka vzorku pro stanovení NDF (g)
m _{NDF3}	hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení NDF (g)
m _{NDF4}	hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze pro stanovení NDF (g)
m _{NL}	navážka vzorku pro analýzu dusíkatých látek (mg)
m _S	navážka vzorku pro stanovení sušiny (g)
μl	mikrolitr
μm	mikrometr
n	počet měření
N	Nori, <i>Porphyra tenera</i>
NaOH	hydroxid sodný

Na ₂ SO ₄	síran sodný
NDF	obsah neutrálně–detergentní vlákniny (%)
N _H	obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v hydrolyzovaných vzorcích (mg)
NL	obsah dusíkatých látek (%)
NL _H	obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích (%)
NL _N	obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích (%)
nm	nanometr
N _N	obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v nehydrolyzovaných vzorcích (mg)
Obr.	obrázek
OM	obsah organické hmoty v sušině vzorku (g)
OMD	stravitelnost organické hmoty (%)
ot.	otáčka
p, P	hladina významnosti
P	obsah popela ve vzorku (%)
PC	pyrokatechol
PF	obsah polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky
PF– HPLC	obsah polyfenolických látek stanovených HPLC
RP– HPLC	rozdělovací vysoce účinná kapalinová chromatografie na obrácených fázích
RPM	otáčky za minutu
S	<i>Spirulina</i> , <i>Spirulina platensis</i>
S _v	obsah sušiny ve vzorku (%)
SDS	dodecylsíran sodný

SDS–PAGE	vertikální elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného
Tab.	tabulka
UV/VIS	ultrafialové a viditelné spektrum
V_i	objem vzorku (ml)
V_s	objem standardního přídatku polyfenolické látky (ml)
W	Wakame, <i>Undaria pinnatifida</i>
Wi	Wakame instant, <i>Undaria pinnatifida</i>

SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

1.1 Obecná charakteristika řas

Řasy jsou velmi různorodou skupinou organismů, ať už jednobuněčných (mikrořasy) nebo mnohobuněčných (makrořasy), jejichž velikost se pohybuje od těch mikroskopických až po řasy dorůstající 20 metrů [1]. Obecně lze řasy rozdělit na skupinu řas mořských a sladkovodních. Řasy lze také dělit podle pigmentů, které obsahují, na řasy hnědé (*Phaeophyta*), červené (*Rhodophyta*), zelené (*Chlorophyta*) a modrozelené (*Cyanophyta*) [2].

Řasy jsou člověkem využívány již stovky let převážně jako potrava, krmivo pro zvířata, hnojivo, nebo jako léčivo. Historické záznamy dokonce prokázaly, že lidé začali se sběrem makrořas za účelem potravy v Číně již více než 500 let př. n. l. a v Evropě asi o tisíc let později. V případě konzumace mikrořas je její historie spojována s Mexikem a Afrikou. S postupem času a migrací lidí z oblastí jako je Čína, Japonsko, Korea, Indonésie, Malajsie, tzn. z míst, kde byly řasy běžnou součástí stravy, se povědomí o řasách jako potravině rozšířilo po celém světě [3]. I když v západních zemích je konzumace řas většinou spojována spíše jen s přímořskými oblastmi, jejich obliba a zájem o ně v posledních letech vzrůstá [2]. V současné době se celosvětově využívá přibližně 221 druhů mořských řas, z toho 125 druhů červených řas, 64 druhů hnědých řas a 32 druhů zelených řas, z nichž se pro přímou výživu používá pouhých 66 %, tj. asi 145 druhů řas [4].

Využití čerstvých řas pro lidskou výživu je vázáno na místo jejich výskytu, tzn. v případě mořských řas na přímořské oblasti, přičemž ke konzumentovi z vnitrozemí se řasy dostanou převážně jen ve formě sušených produktů z mořských řas nebo v případě sladkovodních řas v podobě doplňků stravy jako tablety, kapsle nebo v práškové formě.

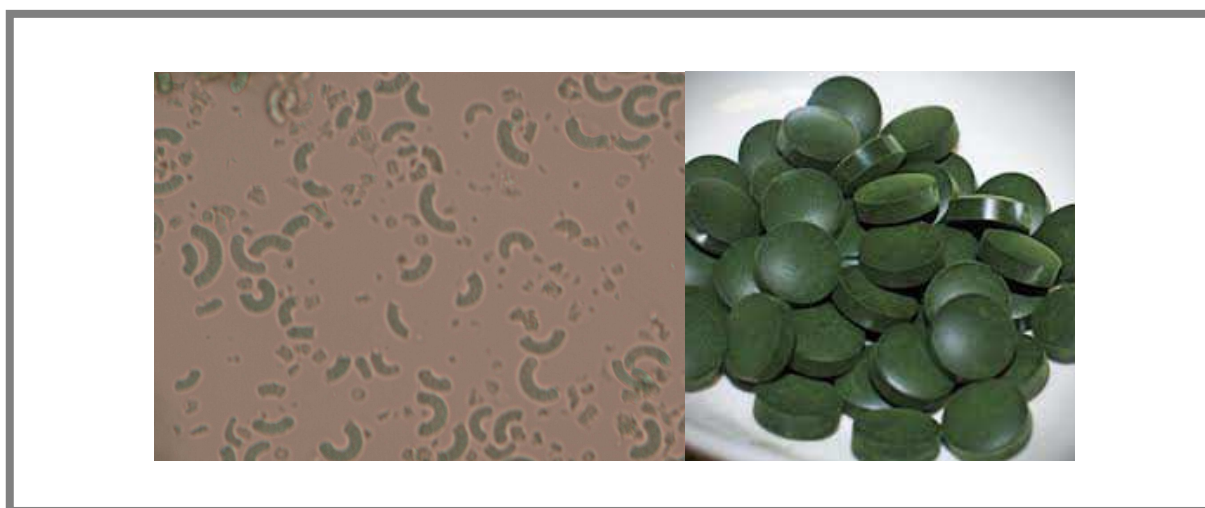
1.2 Charakteristika produktů z řas dostupných v ČR

Produkty z řas jsou v České republice dostupné především ve specializovaných prodejnách orientovaných na zdravou výživu a na internetu. Jejich výskyt v běžné obchodní síti je pouze ojedinělý a v těchto případech je jejich sortiment velmi omezený.

Jelikož předmětem zkoumání byly právě ty produkty z řas, které byly českému spotřebiteli v době zahájení výzkumu nejlépe dostupné, poskytnou následující kapitoly stručnou charakteristiku všech produktů řas použitých k analýzám v rámci této disertační práce.

1.2.1 Spirulina (*Spirulina platensis*)

Spirulina platensis patří mezi sinice, i když se lze někdy setkat s jejím zařazením do skupiny modrozelených řas. Vyskytuje se především v planktonu tropických a subtropických vod bohatých na uhličitán a hydrogenuhličitán. Pro komerční kultivaci této sinice se nejčastěji využívá venkovní kultivace v otevřených systémech. V České republice se kultivací Spiruliny zabývá například Ústav fyzikální biologie JČU ČB v Nových Hradech a MÚ AV ČR v Třeboni.

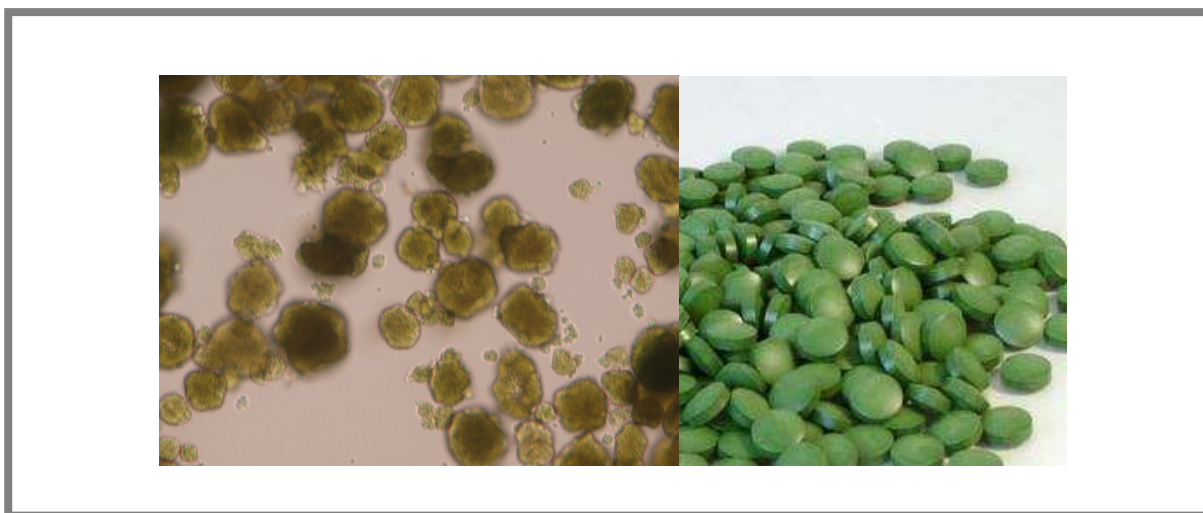


Obrázek 1: *Spirulina platensis* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Spirulina).

Spirulinu lze využít jako zdroj bílkovin díky jejím rychlým růstovým křivkám a vysokému obsahu bílkovin, které tvoří až 74 % sušiny. Sinice obecně obsahují jen malé množství lipidů. Spirulina jich obsahuje asi 6 – 13 %. Významný je též obsah vitaminů skupiny B, vitaminů C, D a E, prvků (draslík, vápník, chrom, měď, železo, hořčík, mangan, fosfor, selen, sodík, zinek) a chlorofylu [5].

1.2.2 Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*)

Chlorella pyrenoidosa je sladkovodní jednobuněčná zelená řasa. Ve srovnání s jinými rostlinami obsahuje vyšší množství chlorofylu, což jí umožňuje větší schopnost fotosyntézy a poskytuje charakteristické tmavě zelené zbarvení [6].



Obrázek 2: *Chlorella pyrenoidosa* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Chlorella).

Chlorella je bohatá na bílkoviny (50 – 65 % v sušině), ve kterých jsou začleněny veškeré esenciální aminokyseliny. Celkový obsah lipidů činí 5 – 10 % v sušině a celkový obsah sacharidů 10 – 20 % v sušině. Významný je obsah antioxidantů a vitaminů C a E [7]. Z prvků je v řase *Chlorella pyrenoidosa* přítomen především vápník, železo a zinek. Chlorella také obsahuje směs látek, které urychlují růst a vývoj nových buněk v jejím organismu, tzv. Chlorella růstový faktor. Chlorella růstový faktor je jedinečný a je produkován v průběhu fotosyntézy [8].

1.2.3 Arame (*Eisenia bicyclis*)

Eisenia bicyclis je hnědou řasou původně z Japonska, ale je možné ji kultivovat i ve vodách mírného podnebného pásu. Při kultivaci může Arame pod vodou vytvářet obrovské lesu podobné útvary.

Z nutričního pohledu je Arame bohatá na vitaminy a prvky, především na železo, hořčík, jód, vitamin A a vápník. Po sensorické stránce má Arame jemně nasládlou chuť a pevnou strukturu [9].

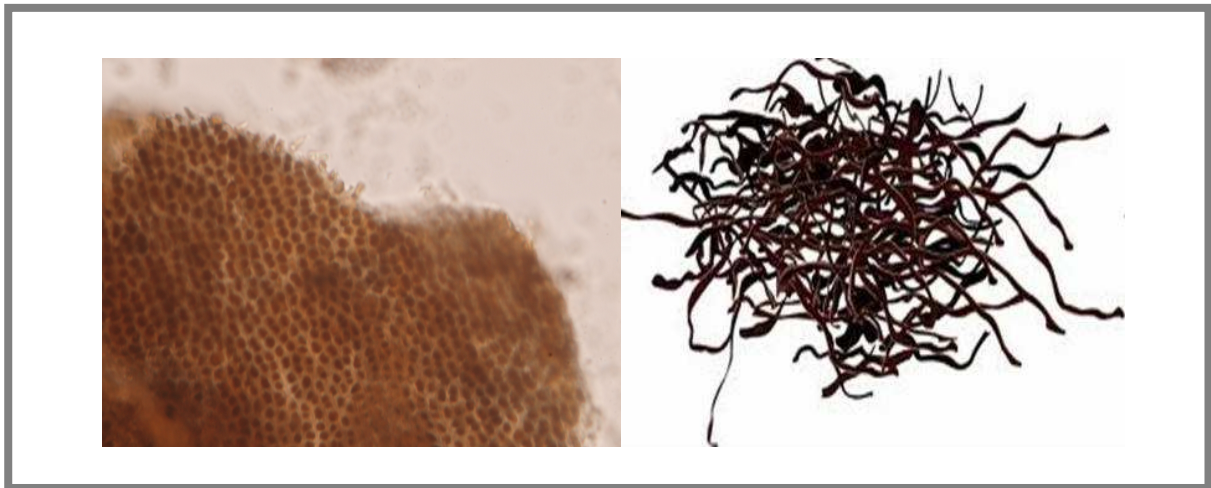


Obrázek 3: *Eisenia bicyclis* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Arame).

1.2.4 Hijiki (*Hizikia fusiformis*)

Hnědá řasa *Hizikia fusiformis* je kultivována převážně v Koreji nebo je sbírána v Japonsku jako volně rostoucí. Vyznačuje se výrazně jemnějšími listy oproti ostatním zástupcům hnědých řas Wakame a Kombu. Do posklizňových úprav Hijiki je nutné zahrnout i procesní kroky vedoucí k eliminaci nadprůměrného množství florotaninů způsobujících svíravě trpkou chuť.

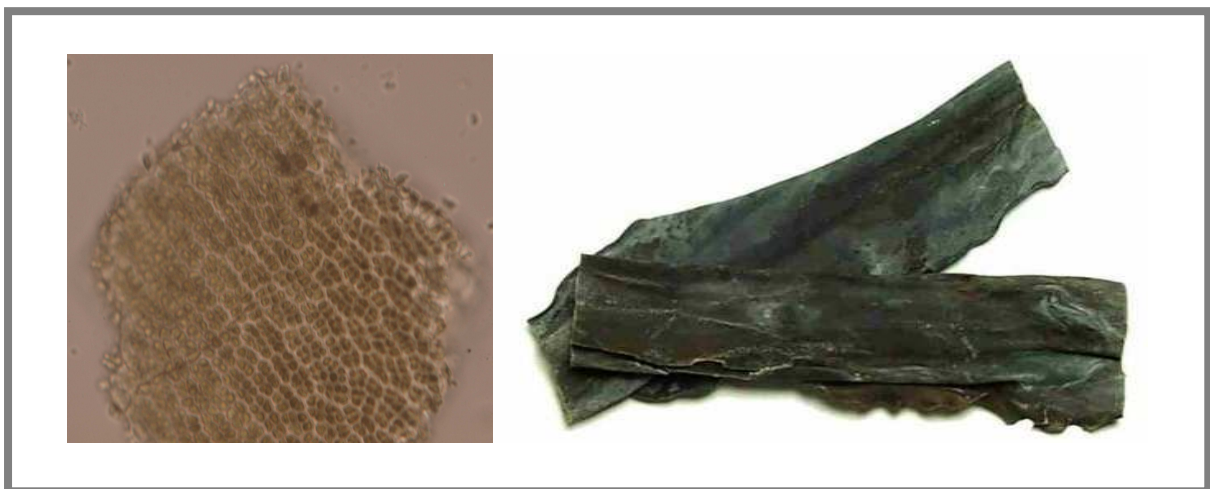
Nutričním složením je Hijiki velmi podobná řase Kombu, snad jen obsah železa, mědi a manganu je v případě Hijiki o málo vyšší. Stejně tak jako ostatní hnědé řasy i Hijiki má nízký obsah lipidů (cca 1,5 %), z nichž 20 – 25 % tvoří kyselina eikosapentaenová [1].



Obrázek 4: *Hizikia fusiformis* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Hijiki).

1.2.5 Kombu (*Laminaria japonica*)

Řasa *Laminaria japonica* dorůstá velkých rozměrů, zpravidla 2 až 5 metrů, a při vhodných podmínkách není výjimkou ani délka 10 metrů.



Obrázek 5: *Laminaria japonica* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Kombu).

Laminaria japonica pro růst vyžaduje teplotu vody nižší než 20 °C. Kultivuje se především v Koreji, Japonsku a Číně, kde se sklízí po 20 měsících růstu. Po sklizni se propírá vodou, naseká na přibližně metrové kusy, poskládá a usuší.

Řasy z rodu *Laminaria* obsahují přibližně 10 % bílkovin, 2 % lipidů a celou řadu vitaminů a prvků, z nichž stojí za zmínku například jód, který je přítomen ve větším množství právě u zástupců hnědých řas [1].

1.2.6 Wakame (*Undaria pinnatifida*)

Hnědá řasa *Undaria pinnatifida* se vyskytuje především na kamenitém pobřeží a plážích Japonska, Koreji a Číny, přičemž právě Korea je jejím největším producentem. Pro svůj růst vyžaduje teplotu vody v rozmezí od 5 °C do 15 °C. Díky lodní dopravě byla tato řasa uměle rozšířena i do Francie, na Nový Zéland a do Austrálie.

Wakame obsahuje vysoké množství vlákniny a stejně tak jako ostatní hnědé řasy i nízký obsah lipidů. Z vitaminů lze zmínit například vysoký obsah niacinu. Z prvků pak mangan, měď, kobalt, železo, nikl a zinek [1].



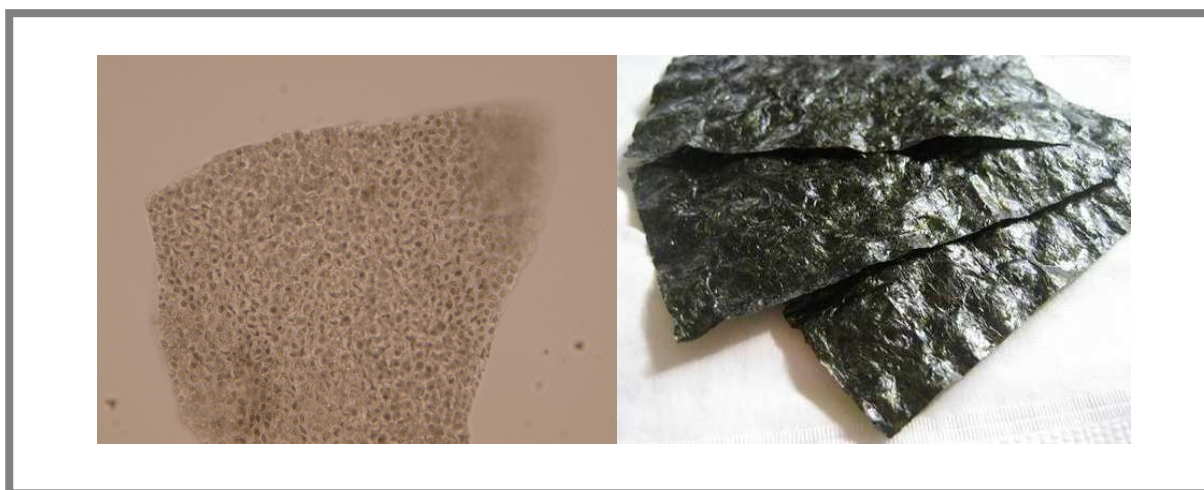
Obrázek 6: *Undaria pinnatifida* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Wakame).

1.2.7 Nori (*Porphyra tenera*)

Tato, v čerstvém stavu tmavě fialová až černá, řasa je v povědomí konzumentů známa především jako součást sushi, typického východoasijského pokrmu. Velkoobjemová kultivace této řasy je uskutečňována převážně

v Japonsku, v Koreji a v Číně. Nori roste ve formě velmi tenkých plochých načervenalých listů. Po zpracování, které připomíná výrobu papíru, se ke spotřebitelům dostává nejčastěji ve formě tenkých sušených plátků.

Z hlediska výživových hodnot obsahuje řasa Nori 30 až 50 % bílkovin, velmi nízký obsah cukrů a vysoká množství vitaminů, především vitaminu A, C, niacinu a kyseliny listové. Nori má charakteristickou chuť, kterou tvoří především aminokyseliny alanin, kyselina glutamová a glycin [1].

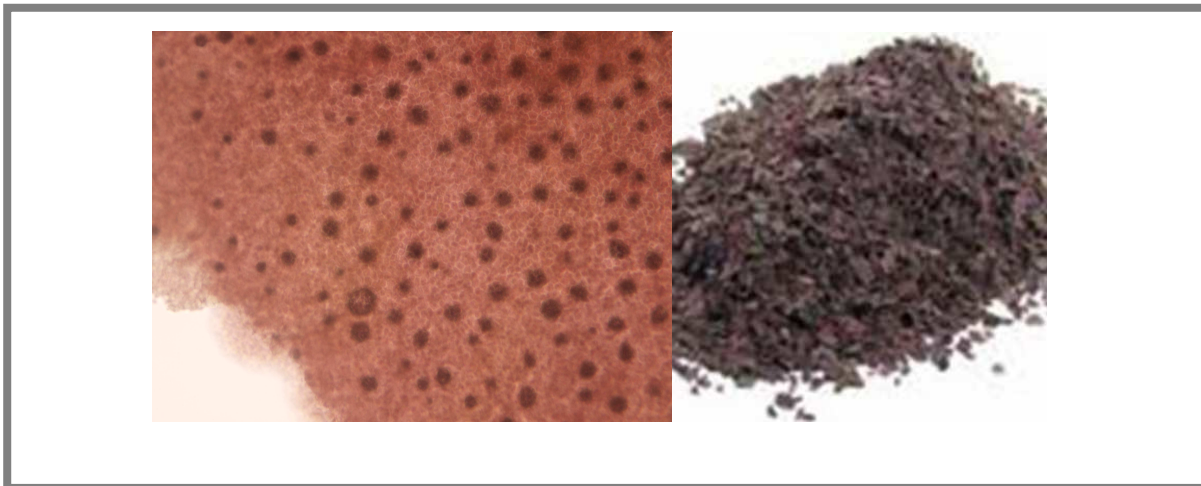


Obrázek 7: *Porphyra tenera* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 200x; vpravo: produkt Nori).

1.2.8 Dulse (*Palmaria palmata*)

Dulse je červená řasa s tuhými kožovitými listy. Je sklízena převážně v Irsku a na východním pobřeží Kanady.

Dulse je dobrým zdrojem prvků, obsahuje vysoké množství železa a všechny stopové prvky potřebné pro lidskou výživu. Za zmínku stojí i obsah vitaminů v ní obsažených [1].



Obrázek 8: *Palmaria palmata* (vlevo: mikroskopické zobrazení, zvětšení 400x; vpravo: produkt Dulse).

1.3 Chemické složení a nutriční hodnota řas

Právě chemické složení řas a jejich nutriční hodnota zvyšují zájem o jejich konzumaci. Existuje velké množství studií, které poukazují na jejich nutriční hodnotu [2, 4, 10–12] a možné pozitivní účinky na lidské zdraví [13–15]. Z nutričního pohledu jsou řasy prezentovány jako zdroj vlákniny [16–19], bílkovin obsahujících esenciální aminokyseliny [18, 20–22], esenciálních mastných kyselin [18, 21–24], minerálních látek [25–28], vitamínů [2, 29–31], polysacharidů [32–34] a polyfenolických látek [35–43], a které na druhou stranu obsahují jen malé množství lipidů [18, 44–46]. Je ale nutno zmínit, že chemické složení řas resp. jejich nutriční hodnota závisí na mnoha faktorech. Nejvýznamnějšími z těchto vlivů jsou druh řasy, lokalita kultivace, roční období, fyziologie řasy a podmínky vnějšího prostředí (teplota, salinita vody, intenzita světla, koncentrace živin) [47, 48].

Chemické složení řas není zajímavé jen z nutričního hlediska. Přítomnost biologicky aktivních látek v řasách má za následek i četné projevy zdraví prospěšných účinků na lidský organizmus. Z těch nejčastěji diskutovaných lze zmínit účinky cytotoxické [49–51], protinádorové [52–54], antioxidační [55–57], antibakteriální [58–60], antifungální [61–63], protizánětlivé [64–66],

antivirové [67–69], antimutagenní [70–72], hepatoprotektivní [73–75], imunosupresivní [76], působí také proti cukrovce [77–79] a vysokému krevnímu tlaku [80–82].

Jak už bylo výše zmíněno, existuje velké množství studií zabývajících se stanovením základních nutričních parametrů sladkovodních i mořských řas, kdy převážná většina analýz je zaměřena na zkoumání čerstvé řasové biomasy. Pouze nepatrná část výzkumů se věnuje komerčně dostupným produktům z řas a i ty jsou často pouze dílčí a neúplné, přičemž výzkum týkající se produktů dostupných na českém trhu zcela chybí. Je nepopíratelné, že čerstvé řasy obsahují řadu nutričně významných látek, otázkou ale zůstává, zda lze toto tvrzení aplikovat i na produkty z řas, které prochází řadou posklizňových úprav, procesem sušení, zpracování, skladování aj., kdy každý technologický krok může negativním způsobem jejich nutriční hodnotu ovlivnit.

1.4 Trávení

Trávení potravy lze definovat jako štěpení makromolekul působením trávicích enzymů na jejich „základní stavební kameny“, kterému předchází příjem potravy a její mechanické rozmělnění. Trávení je následováno procesem vstřebávání, kdy jsou „stavební kameny“ organických látek transportovány do krevních kapilár/lymfy [83].

Základem trávicí soustavy je trávicí trubice, jejímiž hlavními částmi jsou dutina ústní, hltan, jícen, žaludek, tenké střevo, tlusté střevo a konečník, a do níž ústí slinné žlázy, slinivka břišní, žlučník a velké množství drobných žlázek trávicí trubice [83]. V ústech, žaludku a tenkém střevu pomáhají trávit potravu především endogenní enzymy, zatímco trávení v zadních oddílech trávicího traktu je realizováno pomocí mikrobiálních enzymů [84]. Stručný přehled enzymů nacházejících se v jednotlivých sekcích trávicí soustavy je uveden v Tab. 1.

Tabulka 1: Přehled trávení jednotlivých složek potravy a enzymů v trávicím traktu člověka [84].

Sekce trávicího traktu	Trávená složka	Enzymy	
Ústní dutina	lipidy	lipáza	
	škrob	ptyalin	
Žaludek	proteiny	pepsin	
	lipidy	lipáza	
Tenké střevo	proteiny	trypsin chymotrypsin elastáza	
	peptidy	peptidázy	
	škrob	amyláza	
	oligosacharidy	invertáza laktáza maltáza	
	tuky	lipáza	
	nukleové kyseliny	nukleázy	
	stavební polysacharidy	pektináza hemicelulázy celuláza	
	Tlusté a slepé střevo	škrob	amyláza
		proteiny	proteázy
		aminokyseliny	deaminázy dekarboxylázy

Enzymy jsou většinou produkovány a uvolňovány v neaktivní formě, přičemž se do aktivní formy přeměňují až v lumen gastrointestinálního traktu. Trávicí enzymy jsou produkovány hrubým endoplazmatickým retikulem u báze sekrečních buněk [85].

1.4.1 Trávicí soustava

Dutina ústní

Trávicí soustava začíná ústy a dutinou ústní, kde dochází k aktivaci receptorů, které spouští regulační mechanismy procesu trávení, dále k mechanickému zpracování potravy, částečnému natrávení sacharidů slinnou alfa–amylázou a také k částečné likvidaci mikroorganismů v potravě působením lysozymu. Dutina ústní je zvlhčována slinami, jejichž celková produkce se pohybuje v rozmezí 1 až 1,5 litru za den, a které mimo alfa–amylázy obsahují také vysokou koncentraci K^+ iontů. Na dutinu ústní navazují hltan a jícen, pomocí nichž je potrava převáděna do žaludku [83, 86].

Žaludek

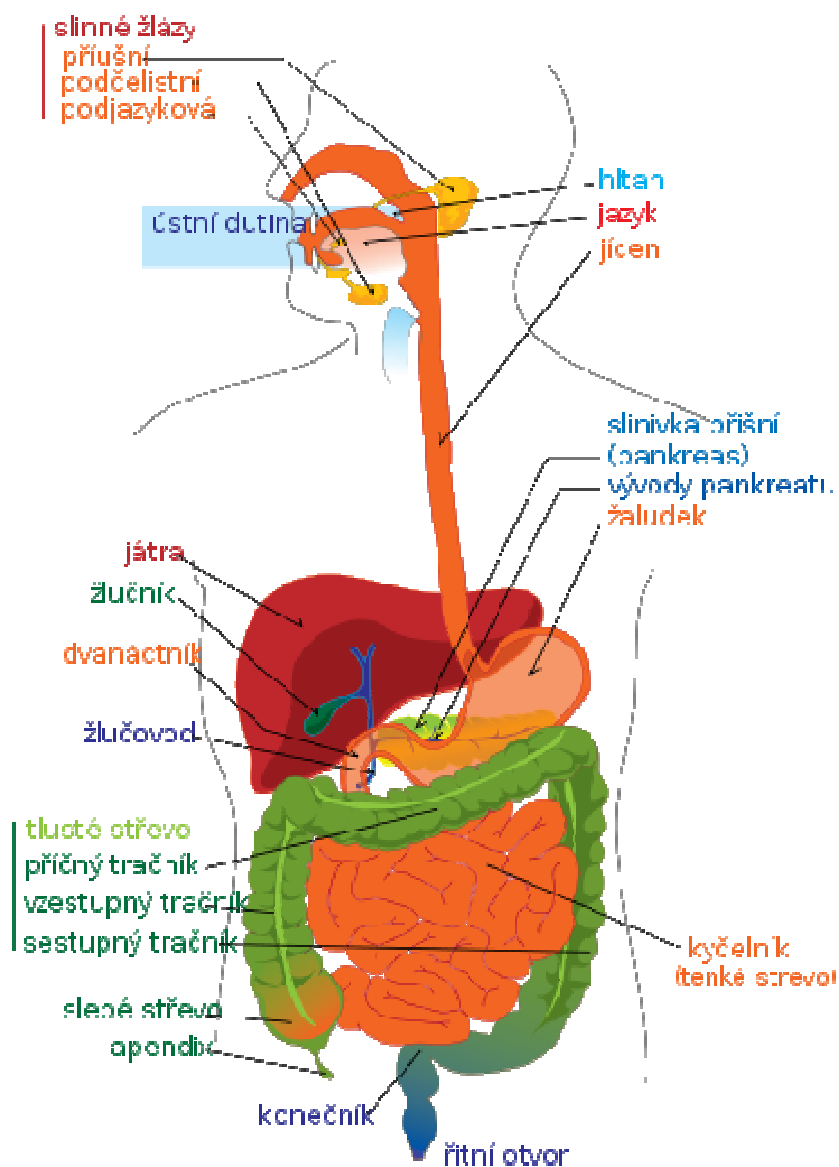
V žaludku, vakovitém orgánu o objemu 1 – 2 dm³, dochází k mechanickému a chemickému zpracování potravy a jejímu převedení na tráveninu (chymus), která pokračuje dále do dvanáctníku. Potrava v žaludku člověka zůstává asi 2 až 6 hodin, přičemž jeho vyprazdňování trvá 3 – 4 hodiny až do úplného vyprázdnění [83]. Žaludek plní mnoho funkcí – je zásobníkem přijaté potravy, mechanicky převádí potravu na tráveninu, uvolňuje tkáňové hormony (gastrin) a plní funkce související s trávením (lipáza v žaludeční šťávě, setrvačné působení slinné alfa–amylázy) a vstřebáváním (alkohol, některé léky). Žaludeční šťáva uvolňovaná do žaludku obsahuje pepsinogeny (neúčinné formy trávicích enzymů). Do žaludku je rovněž uvolňovaná i HCl vytvářející v žaludku kyselé prostředí, které napomáhá k denaturaci bílkovin, depolymerizaci kolagenu, přeměně 3 pepsinogenů na 8 pepsinů, zničení většiny choroboplodných bakterií z potravy, zabránění znehodnocení některých látek (např. vitaminů), usnadnění vstřebání minerálních látek [83, 86, 87].

Tenké střevo

Ze žaludku se trávenina přesouvá do tenkého střeva skládajícího se ze tří částí – dvanáctníku, lačnicku a kyčelníku. Doba průchodu potravy od úst po konec tenkého střeva se pohybuje od 7 do 9 hodin, přičemž trávenina v tenkém střevě normálně zůstává 1 – 3 (3 – 6) hodin. V tenkém střevě dochází k dokončení trávení a především ke vstřebání většiny živin a vody z přijaté potravy [83]. Ve dvanáctníku dochází k neutralizaci kyselého žaludečního obsahu a ústí do něj vývod ze slinivky břišní a ze žlučníku [86, 87]. Žluč je tekutina vytvářená jaterními buňkami v množství okolo 0,7 litru za den a je tvořena vodou, elektrolyty, bilirubinem, žlučovými kyselinami, cholesterolem a steroidními hormony. Hlavní funkce žluči spočívají v emulgaci lipidů a aktivaci lipolytických a proteolytických pankreatických enzymů ve střevě. Slinivka břišní produkuje pankreatickou šťávu, která je tvořena především hydrogenuhličitanovými ionty a enzymy zažívacího traktu, v množství asi 1,5 litru za den. Naprostá většina enzymů slinivky břišní jsou hydrolázy [86]. V pankreatické šťávě slinivky břišní lze z enzymů nalézt neaktivní formy proteolytických enzymů, lipázy (štěpí triacylglyceroly na glycerol a mastné kyseliny), pankreatickou alfa–amylázu (štěpí např. rostlinný škrob a glykogen na maltózu a dextriny) a další enzymy např. esterázy, kolagenázu, ribonukleázy, deoxyribonukleázy. Mezi hlavní proteolytické enzymy uvolňované v neúčinné formě patří trypsinogen, chymotrypsinogen, prekarboxypeptidáza A a prekarboxypeptidáza B. Neaktivní formy enzymů jsou přeměněny na formy aktivní, přičemž počáteční aktivaci, tj. změnu trypsinogenu na trypsin, zajišťuje enzym enteropeptidáza. Následné aktivace ostatních neaktivních enzymů zajišťuje trypsin (chymotrypsinogen → chymotrypsin, prekarboxypeptidáza → karboxypeptidáza, proelastáza → elastáza) [83].

Thusté střevo

Na tenké střevo navazuje tlusté střevo, které lze rozčlenit na tračník vzestupný, tračník příčný, tračník sestupný a tračník esovitý, který přechází v konečník. Tlusté střevo se již nepodílí na trávení; jeho hlavní funkcí je konečná resorpce vody a elektrolytů a úprava tráveniny fermentací střevního obsahu. Trávenina v tlustém střevě přetrvává 12 – 24 hodin, ale i 3 – 4 dny [83].



Obrázek 9: Trávicí soustava [88]

1.4.2 Trávení sacharidů

Sacharidy jsou nejvíce zastoupenou složkou potravy, přičemž mezi nejčastěji potravou přijímané sacharidy patří škrob, sacharóza a laktóza. Škrob, který tvoří až 60 % celkového podílu sacharidů ve stravě, je štěpen už v dutině ústní slinnou alfa–amylázou na dextriny a maltózu. Jeho další štěpení probíhá ve střevě působením pankreatické alfa–amylázy až na jednotlivé molekuly glukózy. Sacharóza se na celkovém zastoupení přijímaných sacharidů podílí asi 30 % a je enzymaticky štěpena na molekulu glukózy a molekulu fruktózy. Disacharid laktóza je štěpen na glukózu a galaktózu enzymem laktázou [83, 86].

1.4.3 Trávení lipidů

Lipidy jsou velmi nesourodou skupinou látek, přičemž pro lidské tělo jsou nejdůležitější triacylglyceroly, cholesterolestery a fosfolipidy [86]. Prvním krokem při trávení lipidů je jejich emulgace, kdy se vlivem solí žlučových kyselin a pohybů střeva snižuje povrchové napětí a dochází k rozbíjení velkých tukových kapének na menší, které mají větší povrch a zároveň lepší přístup pro působení lipáz [83]. V případě triacylglycerolů jejich štěpení začíná již v dutině ústní působením slinné lipázy, avšak k hlavnímu štěpení dochází až ve dvanáctníku účinkem pankreatické a střevní lipázy, kdy jsou triacylglyceroly rozštěpeny až na jednotlivé mastné kyseliny, monoacylglyceroly a glycerol. Pomocí cholesterolesterázy jsou rozkládány cholesterolestery na cholesterol a volné mastné kyseliny, zatímco fosfolipidy jsou štěpeny ve dvanáctníku účinkem fosfolipázy [83, 86].

1.4.4 Trávení proteinů

Trávením jsou proteiny rozštěpeny až na jednotlivé aminokyseliny. Přibližně 65 % trávených proteinů pochází z přijímané stravy, 25 % z odumřelých slizničních buněk a zbylých 10 % z uvolňovaných trávicích šťáv [83]. Trávení

proteinů začíná v žaludku, kde se účinkem enzymu pepsinu vzniklého aktivací neúčinného pepsinogenu štěpí proteiny na polypeptidy. Před samotným působením pepsinu dochází v žaludku ještě k denaturaci proteinů kyselým žaludečním obsahem. Štěpení polypeptidů dále pokračuje v tenkém střevě působením aktivních forem pankreatických enzymů (trypsin štěpí peptidové vazby sousedící s bazickými aminokyselinami, zatímco chymotrypsin štěpí vazby sousedící s aromatickými aminokyselinami) až na oligopeptidy a dipeptidy. Volné aminokyseliny jsou z nich pak odštěpovány např. pankreatickou karboxypeptidázou nebo jinými peptidázami. V tenkém střevě se nachází i další enzymy, jako např. elastáza, kolagenáza, enteropeptidáza, aminopeptidázy, dipeptidázy [83, 86].

1.5 Stravitelnost

S rostoucím zájmem o řasy a jejich konzumaci a s přibývajícím množstvím studií potvrzujících jejich vysokou nutriční hodnotu se zároveň zvyšuje i potřeba nových informací a to hlavně z oblasti využitelnosti potažmo stravitelnosti zdraví prospěšných látek z řas.

Stravitelnost je důležitým faktorem spoluvytvářejícím nutriční hodnotu potravy a zároveň představuje stupeň využití důležitých nutričních faktorů [89, 90]. Za stravitelnou se pak považuje ta část pozřené potravy, kterou tělo dokáže nějakým způsobem využít, tzn. rozložit, vstřebat, zabudovat do různých struktur [91].

1.5.1 Metody stanovení stravitelnosti

Existuje celá řada laboratorních metod určených pro stanovení stravitelnosti. Obecně je lze rozdělit na tři základní skupiny, a to na metody *in vivo*, *in situ* a *in vitro*.

Stanovení stravitelnosti in vivo

In vivo metody jsou považovány za nejlepší variantu stanovení stravitelnosti organické hmoty, která má ale mnoho nevýhod, mezi něž patří především pracnost a finanční a časová náročnost [89]. *In vivo* metody patří mezi biologická stanovení pracující na principu určení množství zkonsumovaných látek v závislosti na množství látek absorbovaných a vyloučených modelovým organismem. Jako modelové organizmy byly používány např. krysy nebo prasata. Pro co nejobektivnější stanovení stravitelnosti by byl nejvhodnějším modelovým organismem sám člověk; takové stanovení by ale bylo nejen finančně a časově náročné, ale i velmi složité z důvodu výběru vhodných dobrovolníků [90].

Stanovení stravitelnosti in situ

Metody *in situ* využívají enzymový systém laboratorních zvířat, kdy se prostřednictvím píštělí vkládají nosiče se sáčky obsahujícími testované vzorky přímo do určitého úseku trávicího traktu (např. dvanáctníku) zvířete. Stravitelnost konkrétní složky vzorku se pak určuje po dokončení inkubace vzorku trvající po danou dobu jako rozdíl obsahu zkoumané složky před experimentem a po něm [90, 92]. Tento typ stanovení se používá především ke zhodnocení stravitelnosti krmiv [93–95].

Stanovení stravitelnosti in vitro

Zjednodušeně lze *in vitro* metody stanovení stravitelnosti charakterizovat jako simulaci *in vivo* metod prováděnou v laboratorních podmínkách, kdy jsou její hodnoty vypočteny z rozdílu obsahů zkoumaných složek potravy před enzymatickou hydrolýzou a po ní [90]. V průběhu několika minulých let celá řada vědců testovala nejrůznější modely k určení *in vitro* stravitelnosti a sledovala strukturní a chemické změny různých druhů potravy, ke kterým

dochází při simulaci podmínek uvnitř trávicího traktu. Při těchto stanoveních byly nejčastěji k hydrolýze používány látky jako pepsin, pankreatin, trypsin, chymotrypsin, peptidáza, alfa-amyláza a lipáza, jejichž původ byl rostlinný, zvířecí i lidský. Délka enzymové hydrolýzy se lišila v závislosti na typu potravy a to jak při simulaci trávení v žaludku, v tenkém střevě i v tlustém střevě [96]. *In vitro* metody lze dále dělit podle principů stanovení stravitelnosti například na gravimetrické a filtrační metody, pH-stat a pH-drop metody, metody založené na dialýze buněk, metody sledující produkci plynů nebo metody využívající pěstování Caco-2 buněk [90].

Většina metodik [97–99] vyvinutých k *in vitro* stanovení stravitelnosti vychází z dvoustupňové *in vitro* techniky trávení pícnin [100], která byla velmi oblíbená a používaná pro své výborné výsledky v případě srovnání s metodami *in vivo* [101]. Tato metoda byla sestavena pro jednoduché stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty krmiv pro zvířata zahrnující hydrolýzu bachorovou tekutinou a následně také pepsinem [100]. Z důvodu usnadnění a zefektivnění stanovení stravitelnosti *in vitro* se do metodik začal začleňovat Daisy^{II} inkubátor, protože díky němu docházelo k minimalizaci vlivu obsluhy na variabilitu výsledků, byl účinný, nenáročný na prostor a celkově zjednodušoval proces stanovení stravitelnosti oproti klasickým metodám [89, 102, 103].

Z pohledu stanovení stravitelnosti u řas a produktů z řas lze konstatovat, že studií týkajících se jejich *in vitro* stanovení je jen velmi málo. Ojedinele se vyskytují vědecké práce, které popisují metody stanovení *in vitro* stravitelnosti využívající proteolytické enzymy jako pepsin, pankreatin nebo pronázu [90, 104–107], které se zaměřují většinou pouze na stravitelnost proteinů sladkovodních a mořských řas [105, 108, 109]. Stravitelností sušiny a organické hmoty produktů z mořských a sladkovodních řas s použitím inkubátoru Daisy^{II} se začala zabývat Mišurcová [110], která vycházela z metodik pro stanovení stravitelnosti krmiv [89, 94].

Existuje mnoho faktorů, které významně ovlivňují výsledky *in vitro* stanovení stravitelnosti, a proto není možné, aby podmínky *in vivo* stanovení byly detailně napodobeny podmínkami *in vitro* stanovení. Možná také proto doposud nebyla vyvinuta žádná metodika, která by představovala spojení přesnosti *in vivo* metod a jednoduché proveditelnosti, a která by byla všeobecně uznána a používána [96].

1.5.2 Faktory ovlivňující stravitelnost

Stravitelnost může být ovlivňována celou řadou endogenních i exogenních faktorů [90].

Vliv endogenních faktorů úzce souvisí s použitými modelovými organizmy a s jejich specifickými metabolickými reakcemi v průběhu procesu trávení [90].

Mezi exogenní faktory bývají řazeny vlivy týkající se trávicích enzymů. Stravitelnost ovlivňuje volba trávicího enzymu, která závisí na druhu testovaného vzorku. V případě vícesložkových vzorků se může jednat o více enzymů. Vliv na stravitelnost má i koncentrace použitých enzymů; jak komerčních, tak izolovaných z trávicího traktu lidí nebo zvířat [90].

Dalším důležitým exogenním faktorem ovlivňujícím stravitelnost jsou podmínky v průběhu enzymatické hydrolýzy. Stupeň hydrolýzy souvisí s aktivitou použitého enzymu, kdy každý enzym pro své optimální působení potřebuje velmi specifické požadavky na teplotu, pH, inkubační dobu, koncentraci a na případnou přítomnost aktivátorů/inhibitorů. Délka hydrolýzy také významně ovlivňuje stravitelnost, stejně tak jako charakter vzorku nebo velikost částic vzorku [90, 96].

Stravitelnost je významně ovlivňována i chemickým složením řas, kdy některé látky obsažené v řasách jsou schopny tvořit například s proteiny řas nebo s prvky komplexy a snižovat tak jejich využitelnost a stravitelnost. Především se jedná o látky jako je tanin, některé složky vlákniny, kyselina fytová, polyfenolické látky a inhibitory enzymů, které určitým způsobem

interagují s jinými složkami řas a v konečném důsledku způsobují snížení jejich stravitelnosti [90].

V neposlední řadě je stravitelnost ovlivněna technologickým zpracováním, kdy může docházet jak ke zvyšování stravitelnosti řas, tak i ke zlepšování jejich chuti. V průběhu posklizňových úprav řas, tzn. praní, sušení, skladování a zpracování, dochází ke změně chemického složení produktů z řas, kdy například proces praní může ovlivnit stravitelnost a využitelnost některých nutričních složek řas. Ke změně stravitelnosti dochází i vlivem záhřevu v průběhu kuchyňských úprav produktů z řas, kdy se mění struktura proteinů a tím se stravitelnost produktů z řas zvyšuje. Ke zvyšování stravitelnosti dochází i při zařazení fermentace do sledu technologických úprav v procesu zpracování řas [90].

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je vytvoření uceleného souboru metodik optimalizovaných pro stanovení stravitelnosti komerčně dostupných produktů ze sladkovodních a mořských řas spolu s analýzou vybraných faktorů ovlivňujících jejich stravitelnost.

Dílčí cíle:

- I. Stanovení základních nutričních charakteristik zkoumaných vzorků – obsahu vlhkosti, obsahu popela, obsahu dusíkatých látek a obsahu vybraných prvků potřebných pro prvotní analýzu vzorků a následné výpočty.
- II. Stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty vzorků řas spolu se studiem vlivu různé doby hydrolýzy a různého typu enzymatického hydrolyzačního činidla na hodnoty stravitelnosti.
- III. Stanovení stravitelnosti dusíkatých látek ve vzorcích řas vyjádřené ve formě koeficientu stravitelnosti dusíkatých látek a souběžné studium vlivu různé doby hydrolýzy a různého typu enzymatického hydrolyzačního činidla na její hodnoty.
- IV. Stanovení stravitelnosti vybraných chemických prvků ve vzorcích řas po uplynutí daných časových intervalů trvání enzymatické hydrolýzy s použitím různých enzymatických hydrolyzačních činidel.
- V. Sledování změn proteinových profilů vzorků řas po provedení různě dlouhé enzymatické hydrolýzy s použitím různých enzymatických hydrolyzačních činidel.

- VI. Stanovení obsahu celkových polyfenolických látek a konkrétních vybraných polyfenolických látek přítomných ve vzorcích řas jako jednoho z hlavních možných faktorů negativně ovlivňujících stravitelnost.
- VII. Stanovení vlákniny včetně stanovení obsahu pektinových látek ve vzorcích řas jakožto dalšího faktoru pravděpodobně snižujícího stravitelnost řas.
- VIII. Statistické zhodnocení vlivu polyfenolických látek a vlákniny včetně pektinových látek na stravitelnost produktů ze sladkovodních a mořských řas.

3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ

3.1 Materiál

K analýzám byly vybrány druhy mořských řas ve formě sušených produktů a sladkovodních řas a sinice ve formě tablet, které reprezentují skupiny mořských hnědých řas, mořských červených řas, sladkovodních zelených řas a sinice (viz Tab. 2). Vybrané vzorky byly zakoupeny v prodejnách zdravé výživy.

Tabulka 2: Přehled vzorků řas a sinice použitých k analýzám.

Komerční název	Označení	Původ	Druh	Typ
Spirulina Bio	S	Indie	<i>Spirulina platensis</i>	sinice
Chlorella Tabs	C	Taiwan	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	zelená řasa
Arame	A	Japonsko	<i>Eisenia bicyclis</i>	hnědá řasa
Kombu	K	Japonsko	<i>Laminaria japonica</i>	hnědá řasa
Hijiki	H	Japonsko	<i>Hizikia fusiformis</i>	hnědá řasa
Wakame	W	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>	hnědá řasa
Wakame – instant	Wi	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>	hnědá řasa
Dulse vločky Bio	D	USA	<i>Palmaria palmata</i>	červená řasa
Nori vločky	N	Japonsko	<i>Porphyra tenera</i>	červená řasa

3.2 Úprava vzorků k analýzám

Jednotlivé vzorky řas byly zpracovány k analýzám dle ČSN 46 7092–2 Metody zkoušení krmiv: Část 2: Příprava vzorků ke zkoušení [111].

3.3 Stanovení základních nutričních charakteristik

Nutným základem pro jakékoliv další chemické analýzy je stanovení základních nutričních charakteristik (obsah vlhkosti, obsah popela, obsah dusíkatých látek a obsah vybraných prvků) produktů ze sladkovodních a mořských řas, které budou použity pro prvotní seznámení se s charakterem zkoumaných vzorků i jako nedílná součást pozdějších výpočtů.

3.3.1 Stanovení obsahu vlhkosti

Stanovení obsahu vlhkosti bylo provedeno dle normy ČSN 46 7092–3 Metody zkoušení krmiv: Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti [112].

Obsah vlhkosti jednotlivých vzorků řas byl stanoven sušením (1 g) při teplotě 103 ± 2 °C do konstantního úbytku hmotnosti. Gravimetricky byl zjištěn rozdíl hmotností před a po sušení a z rozdílu byl vypočítán obsah vlhkosti v procentech, který byl výpočtem převeden na obsah sušiny, jakožto veličiny používané v následných výpočtech. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

3.3.2 Stanovení obsahu popela

Stanovení obsahu popela bylo provedeno dle normy ČSN 46 7092–9 Metody zkoušení krmiv: Část 9: Stanovení obsahu popela [113].

Obsah popela byl stanoven po spálení vzorků (1 g) v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5 hodin. Z rozdílu hmotností před a po spálení byl vypočten obsah popela ve zkoumaných vzorcích. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

3.3.3 Stanovení obsahu dusíkatých látek

Stanovení obsahu dusíkatých látek bylo provedeno podle normy ČSN 46 7092–4 Metody zkoušení krmiv: Část 4: Stanovení dusíkatých látek (hrubého proteinu) [114].

Množství dusíkatých látek bylo stanoveno metodou dle Kjeldahla, kde po mineralizaci 0,1 g vzorku řas mokrou cestou pomocí koncentrované kyseliny sírové, peroxidu vodíku a přídavku katalyzátoru ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ v poměru 10:1) při 400 °C následně došlo ke stanovení obsahu dusíkatých látek ve vzorku s využitím automatické destilační jednotky Pro Nitro A (JP Selecta S.A., Španělsko). Pro výpočet byl použit přepočítávací faktor s hodnotou 6,25. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

3.3.4 Stanovení obsahu vybraných prvků

Stanovení obsahu vybraných prvků bylo provedeno dle metodik pro analýzu rostlinného materiálu [115, 116] ve spolupráci s laboratoří Agrotest fyto, s.r.o. v Kroměříži.

Pro analýzu byly vybrány jak prvky makrobiogenní (K, P, Mg, Ca, Na), oligobiogenní (Fe, Mn, Zn, Cu), tak i toxické (Pb, Cd, Hg). Druhy úprav vzorků před analýzou společně s metodou stanovení příslušného prvku jsou uvedeny níže v tabulce 3. Pro analýzu téměř všech chemických prvků s výjimkou rtuti, musely být vzorky nejprve mineralizovány buď mokrou cestou za použití přístroje Digester DG 120 (EL Spektrum, Liptovský Hrádok, Slovensko) nebo s pomocí mikrovlnné pece Mars Xpress (Varian, Inc., Palo Alto, USA). Po rozkladu následovalo vlastní stanovení chemických prvků. Obsah rtuti byl stanoven bez rozkladu přímo přístrojem TMA–254 (Tesla, Česká republika). Fosfor byl stanoven spektrofotometricky přístrojem Specol 10 (Carl Zeiss, Jena, Německo), kdy byl měřen barevný produkt po reakci s činidlem na bázi molybdenanu amonného a vanadičnanu amonného při vlnové délce 430 nm.

Vápník byl stanoven atomovou emisní spektrometrií (AES). Atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (F–AAS) byla použita ke stanovení obsahu Mg, K, Na, Fe, Zn, Cu, a Mn s využitím přístroje AA 240FS (Varian, Inc., Palo Alto, USA). Zbytek prvků, tzn. Pb, a Cd, byl stanoven taktéž atomovou absorpční spektrometrií, ale tentokrát s elektrotermickou atomizací (ET–AAS) s použitím přístroje AA 240Z (Varian, Inc., Palo Alto, USA). Obsah jednotlivých chemických prvků byl vypočten na základě pětibodových kalibračních křivek.

Tabulka 3: Metody použité k rozkladu vzorků řas a stanovení chemických prvků [117].

Prvek	Typ rozkladu	Činidlo pro rozklad	Metoda stanovení
P	mokrou cestou	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	spektrofotometrie
Ca	mokrou cestou	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	AES
Mg	mokrou cestou	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	F–AAS
K	mokrou cestou	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	F–AAS
Na	mokrou cestou	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	F–AAS
Fe	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	F–AAS
Zn	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	F–AAS
Cu	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	F–AAS
Mn	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	F–AAS
Pb	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	ET–AAS
Cd	uzavřený mikrovlnný	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	ET–AAS
Hg	bez rozkladu	---	AAS (TMA–254)

3.4 Stanovení stravitelnosti

Stanovení stravitelnosti bylo provedeno gravimetrickou *in vitro* metodou s použitím inkubátoru Daisy (ANKOM Technology, USA). K trávení byl použit enzym pepsin EC 3.4.23.1 z prasečí žaludeční sliznice (aktivita: 0,7 FIP-U/g) a pankreatin z prasečí slinivky břišní (proteázová aktivita: 350 FIP-U/g, lipázová aktivita: 6000 FIP-U/g, amylázová aktivita: 7500 FIP-U/g). Oba enzymy byly dodány společností Merck (Darmstadt, Německo).

V rámci stanovení stravitelnosti byl sledován i vliv různé doby hydrolýzy a různého typu enzymatického hydrolyzačního činidla na hodnoty stravitelnosti. Enzymatická hydrolýza zahrnovala hydrolýzu pepsinem (0,5 g enzymu na 1 g vzorku), pankreatinem (0,5 g enzymu na 1 g vzorku) a kombinovanou hydrolýzu nejprve pepsinem a následně také pankreatinem. V případě hydrolýzy pepsinem a pankreatinem byla stravitelnost měřena po 6, 12 a 24 hodinách. V případě kombinované hydrolýzy byly pak kombinace dob působení těchto dvou enzymů následující: 0,5 + 6 hodin; 6 + 6 hodin; 12 + 12 hodin; 0,5 + 24 hodin; 24 + 24 hodin dle matice uvedené v tabulce 4. Při stanovení bylo postupováno podle modifikované metodiky [90, 110].

Pro stanovení stravitelnosti bylo navažováno 0,25 g vzorku do filtračních sáčků F57 s porozitou 25 μm (ANKOM Technology, USA). Sáčky byly zataveny, vloženy do inkubačních lahví, zality 1,7 l příslušného roztoku (v případě pepsinu 0,1M HCl; v případě pankreatinu fosfátový pufr o pH 7,45) vytemperovaného na 40 °C a bylo k nim přidáno takové množství příslušného enzymu, aby odpovídalo výše zmíněnému požadavku 0,5 g enzymu na 1 g vzorku. Společně se vzorky byl do inkubační lahve umístěn i zatavený korekční sáček bez vzorku. Následovala hydrolýza po dobu již uvedených časových intervalů. Po skončení hydrolýzy byly sáčky proprány destilovanou vodou, sušeny 24 hodin při 103 °C a nakonec páleny v muflové peci po dobu 5 hodin při 550 °C. V případě kombinované hydrolýzy byly vzorky nejprve podrobeny

hydrolýze pepsinem, přičemž bezprostředně po ukončení hydrolýzy a proprání sáčků v destilované vodě byla zahájena hydrolýza pankreatinem.

Tabulka 4: Matice doby působení enzymů pepsinu a pankreatinu při enzymatické hydrolýze produktů z řas.

JEDNOENZYMOVÁ HYDROLÝZA					
		Pepsin		Pankreatin	
6 h		•		•	
12 h		•		•	
24 h		•		•	
KOMBINOVANÁ HYDROLÝZA					
		Pepsin			
		0,5 h	6 h	12 h	24 h
Pankreatin	6 h	•	•		
	12 h			•	
	24 h	•			•

3.4.1 Stravitelnost sušiny

Stravitelnost sušiny (DMD) byla vypočtena podle níže uvedené rovnice (1) a vyjádřena v procentech. K výpočtu stravitelnosti sušiny bylo nutno stanovit i hmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (DMR) z rovnice (2), obsah sušiny ve vzorku (DM) z rovnice (3) a korekci na prázdný filtrační sáček po inkubaci (c_1) z rovnice (4) [94, 110].

$$DMD = 100 - \frac{100 \cdot DMR}{m_2 \cdot DM} \quad (1)$$

$$DMR = m_3 - m_1 \cdot c_1 \quad (2)$$

$$DM = \frac{S_v \cdot m_s}{100} \quad (3)$$

$$c_1 = \frac{m_i}{m_1} \quad (4)$$

3.4.2 Stravitelnost organické hmoty

Stravitelnost organické hmoty (OMD) byla vypočtena podle níže uvedené rovnice (5) a vyjádřena v procentech. K výpočtu stravitelnosti organické hmoty bylo nutno stanovit i hmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (DMR) z výše uvedené rovnice (2), hmotnost vzorku po inkubaci, sušení a mineralizaci (AR) z rovnice (6), obsah sušiny ve vzorku (DM) z rovnice (3), obsah organické hmoty v sušině vzorku (OM) z rovnice (7) a korekci na prázdný filtrační sáček po mineralizaci (c_2) z rovnice (8) [94, 110].

$$OMD = 100 - \frac{100 \cdot (DMR - AR)}{m_2 \cdot DM \cdot OM} \quad (5)$$

$$AR = m_4 - m_1 \cdot c_2 \quad (6)$$

$$OM = \frac{S_v - P}{100} \quad (7)$$

$$c_2 = \frac{m_m}{m_1} \quad (8)$$

Kde

DMD stravitelnost sušiny (%),

OMD stravitelnost organické hmoty (%),

DMR hmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (bez sáčku) (g),

DM obsah sušiny ve vzorku (g),

OM obsah organické hmoty v sušině vzorku (g),

AR hmotnost vzorku po inkubaci, sušení a mineralizaci (bez sáčku) (g),

S_v obsah sušiny ve vzorku (%),

P obsah popela ve vzorku (%),

m_1 hmotnost prázdného sáčku (g),

m_2 navážka vzorku (g),

m_3 hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a vysušení (g),

m_4 hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a mineralizaci (g),

m_5 navážka vzorku pro stanovení sušiny (g),

- m_i hmotnost vysušeného sáčku po inkubaci (g),
- m_m hmotnost sáčku po mineralizaci (g),
- c_1 korekce hmotnosti sáčku po inkubaci,
- c_2 korekce hmotnosti sáčku po mineralizaci.

3.4.3 Stravitelnost dusíkatých látek

K určení stravitelnosti dusíkatých látek bylo nutno stanovit obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích a obsah dusíkatých látek ve vzorcích, které byly enzymaticky hydrolyzovány pepsinem, pankreatinem a kombinovaně – pepsinem a následně pankreatinem. Enzymová hydrolýza byla provedena výše uvedeným způsobem. Celkový obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných i nehydrolyzovaných vzorcích řas byl stanoven metodou podle Kjeldahla s využitím automatické destilační jednotky Pro Nitro A (JP Selecta S.A., Španělsko). Výsledky byly vyjádřeny v procentech ve formě koeficientu stravitelnosti dusíkatých látek.

Koeficient stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) lze vypočítat podle níže uvedené rovnice (9). K výpočtu koeficientu stravitelnosti je nutno stanovit obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích (NL_N) z rovnice (10) a obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích (NL_H) z rovnice (11) [110].

$$K_S = \frac{NL_N - NL_H}{NL_N} \cdot 100 \quad (9)$$

$$NL_N = \frac{N_N}{m_{NL}} \cdot f \cdot 100 \quad (10)$$

$$NL_H = \frac{N_H}{m_{NL}} \cdot f \cdot 100 \quad (11)$$

Kde

- K_S koeficient stravitelnosti (%),
- NL_N obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích (%),
- NL_H obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích (%),

- N_N obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v nehydrolyzovaných vzorcích (mg),
- N_H obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v hydrolyzovaných vzorcích (mg),
- m_{NL} navážka vzorku pro analýzu (mg),
- f přepočítávací faktor ($f = 6,25$).

Spolu se stanovením stravitelnosti dusíkatých látek byl sledován i vliv doby hydrolýzy na hodnoty koeficientu stravitelnosti dusíkatých látek. V případě hydrolýzy pepsinem a pankreatinem byla stravitelnost měřena po 6, 12 a 24 hodinách. Kombinace dob působení enzymů v případě kombinované hydrolýzy byly stejné jako v případě stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

3.4.4 Stravitelnost vybraných prvků

Stravitelnost vybraných prvků v produktech ze sladkovodních a mořských řas byla stanovena ve dvou etapách. První z nich zahrnovala trávení vzorků metodou *in vitro* s použitím inkubátoru Daisy (viz kapitola 3.4). Druhým krokem pak bylo samotné stanovení prvků ve vzorcích po trávení různými spektrometrickými metodami dle charakteru chemických prvků – atomovou absorpční spektrometrií (AAS), atomovou emisní spektrometrií (AES) a spektrofotometrií (viz kapitola 3.3.4).

Stravitelnost chemických prvků byla určena z rozdílu obsahu prvků ve vzorcích řas před enzymatickou hydrolýzou a po provedení enzymatické hydrolýzy, a byla vyjádřena jako procentuální úbytek prvků ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze. Hydrolýza byla provedena enzymy pepsinem, pankreatinem a kombinovaně (pepsinem a následně i pankreatinem) způsobem uvedeným v kapitole 3.4. Doba působení enzymů byla v případě pepsinu a pankreatinu 24 hodin, a v případě kombinované hydrolýzy 0,5 hodiny

pepsinem a následně 24 hodin pankreatinem. Zhydrolyzované vzorky ve filtračních sáčcích F57 byly promyty destilovanou vodou a usušeny. Následovalo vlastní stanovení jednotlivých prvků, jak je popsáno v kapitole 3.3.4. Výsledky stanovení obsahů prvků byly vyhodnoceny s použitím metody kalibrační křivky. Aby byly získány hodnoty obsahů prvků pouze pro produkty ze sladkovodních a mořských řas, bylo nutné získaná data přepočítat s použitím naměřených hodnot pro prázdný korekční sáček, který byl podroben všem krokům jako sáčky se vzorky.

3.5 Sledování změn proteinových profilů po enzymatické hydrolýze

Sledování změn proteinových profilů u vybraných druhů řas a sinice bylo prováděno po aplikaci vertikální elektroforézy (Mini-Protean-Tetra Cell, Power Pac Universal, BIO-RAD, USA) v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného (SDS-PAGE). Byla snaha o sledování proteinových profilů nejen u vzorků řas bez prodělané hydrolýzy, ale i u vzorků řas podrobených enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem po různě dlouhou dobu (1, 10, 30, 60, 120 a 180 min) s použitím kaseinu jako referenčního proteinu. Výsledkem mělo být sledování odlišností v jednotlivých proteinových profilech v rámci jednotlivých druhů řas a také změny proteinových profilů v závislosti na délce a typu enzymatické hydrolýzy.

Vlastnímu rozdělení proteinových profilů pomocí SDS-PAGE předcházela úprava vzorků řas v podobě izolace proteinů, jejich zakoncentrování a konečná úprava před nanesením na gel.

Jako nejúčinnější způsob izolace proteinů ze vzorků řas se jevil postup, kdy byly vzorky řas nejprve dezintegrovány (frekvence 20 Hz, 7 min) pomocí oscilačního kulového mlýna MM 301 (Retsch, Německo). Následně byl vzorek (0,2 g) spolu s destilovanou vodou (10 ml) podroben působení ultrazvuku (3 h) a

třepán při pokojové teplotě do druhého dne, kdy byl odstředěn (4500 ot.; 30 min). Supernatant byl slit a zakonzentrován lyofilizací. Lyofilizovaný extrakt byl rozpuštěn ve 100 µl destilované vody, dále bylo přidáno 25 µl 20% SDS, 12,5 µl merkaptoetanolu a 115 µl vzorkového pufru (0,062 M Tris-HCl, 5% merkaptoetanol, 10% glycerol, 0,01 g bromfenolová modř). Vše bylo řádně promícháno, umístěno na 10 minut do vroucí vodní lázně, po zchlazení odstředěno (15000 RPM, 10 min) a připraveno k aplikaci na gel.

Separace jednotlivých proteinových fragmentů byla prováděna na 12% separačním gelu při 30 mA. Jako standard byl používán proteinový marker Protein Marker, Broad Range, 2–212 kDa, P7702L (New England Biolabs), který obsahoval proteiny o definovaných molekulových hmotnostech. Po ukončení separace byl gel umístěn na dobu 30 minut do fixačního roztoku (30 ml 96% etanolu, 10 ml ledové kyseliny octové, 60 ml deionizované vody), poté byl barven po dobu 60 minut barvicím roztokem Coomassie brilliant blue (0,1 g Coomassie brilliant blue, 50 ml 96% etanolu, 100 ml kyseliny fosforečné, 850 ml deionizované vody) a následně byl odbarven odbarvovacím roztokem (250 ml metanolu, 100 ml ledové kyseliny octové, 650 ml deionizované vody). Finální podoba gelu byla fotografována.

V případě sledování proteinových fragmentů po enzymatické hydrolýze byl lyofilizovaný extrakt rozpuštěn v 1 ml příslušného roztoku (v případě hydrolýzy pepsinem v 0,1M HCl, v případě hydrolýzy pankreatinem ve fosfátovém pufru o pH 7,45) s přídatkem odpovídajícího množství příslušného enzymu. Proces trávení byl realizován s využitím přístroje Thermo-shaker TS-100 (BioSan, Lotyšsko) při teplotě 37 °C, přičemž vždy po uplynutí příslušné doby (1, 10, 30, 60, 120 a 180 min) bylo odebráno množství 100 µl, ke kterému bylo přidáno 25 µl 20% SDS, 12,5 µl merkaptoetanolu a 115 µl vzorkového pufru. Po promíchání, inkubaci ve vroucí vodní lázni po dobu 10 minut, zchlazení a odstředění, byl hydrolyzovaný vzorek připraven k aplikaci na gel. Následný postup vlastní SDS-PAGE byl totožný s výše uvedeným.

3.6 Stanovení polyfenolických látek

Celkové množství polyfenolických látek v produktech z řas bylo stanoveno spektrometrickou analýzou barevných produktů reakce hydroxylových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin–Ciocalteu pomocí UV/VIS spektrometru (viz kapitola 3.6.1). Jako standard byla pro výpočet použita kyselina gallová.

Identifikace jednotlivých vybraných polyfenolických látek převážně z řad flavanolů byla uskutečněna metodou vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC) s využitím DAD detektoru (podrobnosti viz kapitola 3.6.2).

3.6.1 Stanovení polyfenolických látek metodou molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti

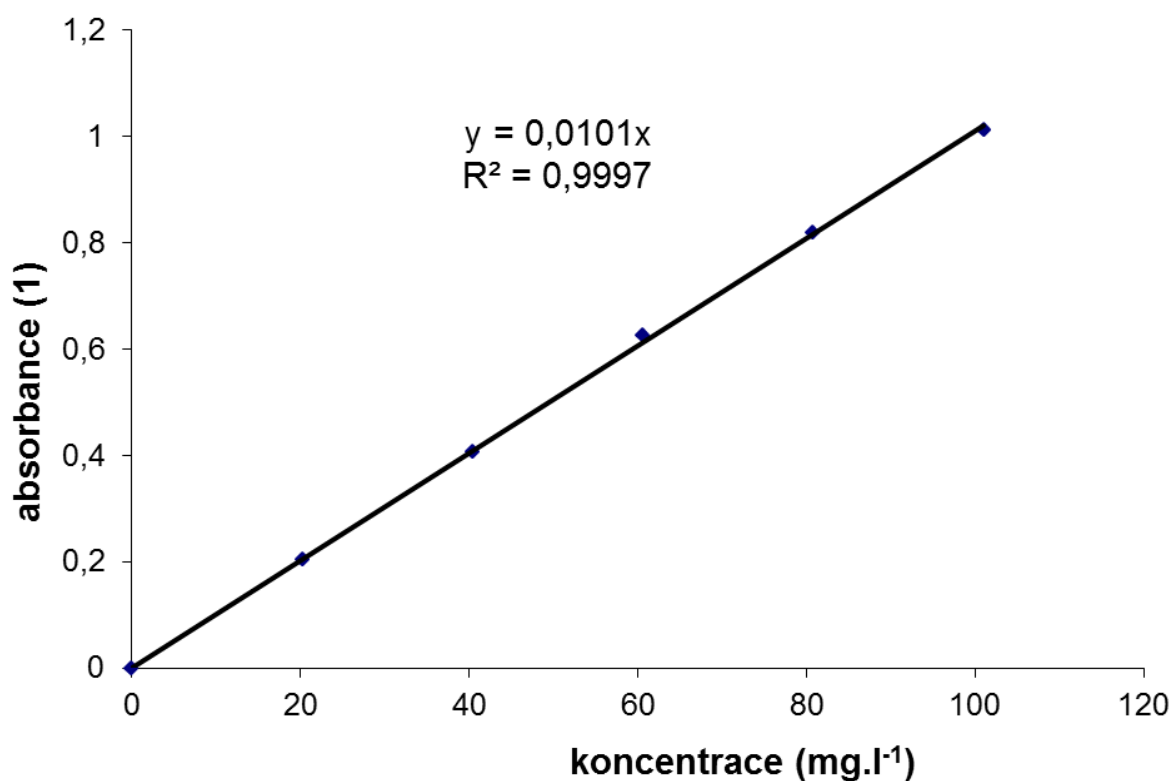
Stanovení celkových polyfenolických látek v produktech z řas bylo provedeno fotometrickou metodou s použitím Folin–Ciocalteuova činidla a kyseliny gallové jako standardu.

Tabulka 5: Přehled extrakčních postupů (1 – 5) pro stanovení celkových polyfenolických látek.

	Extrakční činidlo	Podmínky extrakce	Zdroj
(1)	metanol / voda / kyselina octová (30:69:1)	vodní lázeň 70 °C, 50 min	[39]
(2)	destilovaná voda	vodní lázeň 80 °C, 10 min	[118]
(3)	100% metanol	24 h, pokojová teplota	[119]
(4)	70% aceton	vodní lázeň 30 °C, 30 min	[55]
(5)	80% metanol	vodní lázeň 70 °C, 1 h	[120]

Pro optimalizaci stanovení celkových polyfenolů byla zjišťována vhodná extrakční technika. Pro porovnání bylo zvoleno pět nejpoužívanějších extrakčních postupů. Vždy bylo navažováno 0,1 g zhomogenizované řasové hmoty do umělohmotné centrifugační zkumavky s uzávěrem, k níž bylo přidáno 10 ml extrakční směsi. Jednotlivé extrakční postupy jsou uvedeny v Tab. 5. Po vlastní extrakci doprovázené neustálým třepáním byly extrakty zchlazeny na pokojovou teplotu, pokud bylo potřeba, a centrifugovány (6000 RPM, 5 min). Výsledné extrakty byly proměřeny UV/VIS spektrometrem při vlnové délce 765 nm.

Výsledné hodnoty pak byly uvedeny v mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE) na g vzorku. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření. Kalibrační křivka spolu s rovnicí regrese jsou zobrazeny níže na Obr. 10.



Obrázek 10: Graf kalibrační křivky kyseliny gallové a rovnice lineární regrese.

3.6.2 Stanovení polyfenolických látek metodou RP–HPLC

Stanovení polyfenolických látek bylo realizováno pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP–HPLC). Kvalitativní i kvantitativní stanovení vybraných polyfenolických látek (kyselina gallová, katechin, epikatechin, katechin gallát, epikatechin gallát, epigallokatechin, epigallokatechin gallát, 4–hydroxybenzoová kyselina, pyrokatechol) bylo provedeno v produktech ze sladkovodních a mořských řas na přístroji UltiMate® 3000 (Dionex, USA) s DAD detektorem za použití kolony C18 Kinetex (150 x 4,6 mm, 2,6 µm). Jako mobilní fáze A (MFA) byla použita směs voda/kyselina octová v poměru 99:1, jako mobilní fáze B (MFB) pak směs voda/acetonitril/kyselina octová v poměru 67:32:1 [39]. Průtok mobilních fází byl 1 ml.min⁻¹, objem nástřiku 10 µl, délka analýzy 35 minut, průběh analýzy pozvolný gradientový (0 – 10 minut: 90 % MFA + 10 % MFB; 10 – 16 minut: 80 % MFA + 20 % MFB; 16 – 20 minut: 60 % MFA + 40 % MFB; 20 – 25 minut: 50 % MFA + 50 % MFB; 25 – 27 minut: 60 % MFA + 40 % MFB; 27 – 35 minut: 90 % MFA + 10 % MFB). Odezvy detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 275 nm.

Před vlastním stanovením byly vzorky extrahovány různými metodami a pro další stanovení byla vybrána nejúčinnější z nich. Byla vyzkoušena extrakce 100% metanolem, 80% metanolem i směsí metanol/voda/kyselina octová v poměru 30:69:1. Se všemi uvedenými činidly byly vzorky protřepávány jednak při pokojové teplotě po dobu 24 hodin, 7 hodin a 4 x 1 hodinu (násobná extrakce), a jednak i ve vodní lázni při teplotě 70 °C po dobu 50 minut. Jako nejúčinnější se ukázala extrakce ve vodní lázni s použitím směsi metanol/voda/kyselina octová v poměru 30:69:1 s malým přídatkem kyseliny askorbové [39]. Po extrakci byly vzorky odstředěny a slité supernatanty byly zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 µm.

Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých polyfenolických látek. Kvantitativní vyhodnocení, kdy výsledná

hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření, bylo uskutečněno metodou standardního přídávku a následného výpočtu koncentrace dané látky ve vzorku pomocí rovnice (12):

$$c_i = \frac{A_i \cdot c_s \cdot V_s}{A_{is} \cdot (V_i + V_s) - A_i \cdot V_i} \quad (12)$$

Kde

- c_i koncentrace stanovované polyfenolické látky ve vzorku ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$),
- c_s koncentrace standardního přídávku polyfenolické látky ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$),
- A_i obsah plochy píku stanovované polyfenolické látky ve vzorku (mAU.s),
- A_{is} obsah plochy píku stanovované polyfenolické látky se standardním přídávkem ve vzorku (mAU.s),
- V_i objem vzorku (ml),
- V_s objem standardního přídávku polyfenolické látky (ml).

3.7 Stanovení vlákniny

Množství vlákniny bylo stanoveno semi–automatizovanou gravimetrickou metodou pomocí přístroje ANKOM²²⁰ Fiber Analyzer (ANKOM Technology, USA). Ve vzorcích řas byl určen obsah hrubé vlákniny (CF), neutrálně–detergentní vlákniny (NDF), acido–detergentní vlákniny (ADF) a acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (ADFP) dle metodik uvedených výrobcem přístroje ANKOM²²⁰ Fiber Analyzer. Navíc byl stanoven obsah pektinových látek molekulovou spektrometrií v UV/VIS oblasti.

3.7.1 Stanovení hrubé vlákniny

Hrubá vláknina (CF) byla v produktech ze sladkovodních a mořských řas stanovena jako zbytek získaný po dvoustupňové hydrolýze ve slabě kyselém prostředí kyseliny sírové a slabě zásaditém prostředí hydroxidu za přesně definovaných podmínek.

Ke stanovení byly použity filtrační sáčky F58 (ANKOM Technology, New York, USA), které byly před vlastním použitím proprány v acetonu, usušeny a zváženy. Do sáčku bylo naváženo 0,5 g vzorku s analytickou přesností, sáčky byly zataveny a umístěny do nosiče. Spolu se sáčky obsahujícími vzorek, bylo potřeba do nosiče umístit i prázdný zatavený sáček sloužící jako korekce pro konečný výpočet. Nosič byl umístěn do přístroje ANKOM²²⁰ Fiber Analyzer. Následně bylo přidáno 1,7 l roztoku 0,1275M H₂SO₄, který po dobu 45 minut, za působení teploty 100 °C a neustálého míchání hydrolyzoval obsah filtračních sáčků. Po uplynutí dané doby byl obsah přístroje vypuštěn a třikrát propláchnut horkou vodou. Následovala zásaditá hydrolýza 1,7 l 0,313M NaOH provedená za stejných podmínek jako předchozí kyselá hydrolýza (tj. 45 minut, 100 °C, neustálé míchání). Po skončení hydrolýzy bylo provedeno opětovné propláchnutí horkou vodou. Následně byly sáčky zchlazeny studenou vodou, přebytečná voda byla odsáta filtračním papírem. Poté byly sáčky vloženy na 3 minuty do acetonu, sušeny v sušárně při teplotě 105 °C (cca 3 hodiny), po vychladnutí byly zváženy a na závěr spáleny v muflové peci při teplotě 550 °C (5 hodin), načež byla zjištěna hmotnost zbylého popela.

Obsah hrubé vlákniny byl stanoven výpočtem s použitím rovnice (13). Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

$$CF = \frac{(m_{CF3} - m_{CF1}c_{CF1}) - (m_{CF4} - m_{CF1}c_{CF2})}{m_{CF2}} \cdot 100 \quad (13)$$

Kde

CF obsah hrubé vlákniny (%),

m_{CF1} hmotnost prázdného sáčku (g),

m_{CF2} navážka vzorku (g),

m_{CF3} hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

m_{CF4} hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

c_{CF1} korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze,

c_{CF2} korekce hmotnosti sáčku po spálení.

3.7.2 Stanovení neutrálně–detergentní vlákniny

Neutrálně–detergentní vláknina (NDF) v produktech ze sladkovodních a mořských řas představuje zbytek buněčných stěn izolovaný po hydrolýze v prostředí roztoku pufru při pH 7 a účinné látky laurylsulfátu sodného za definovaných podmínek.

Postup stanovení byl obdobný jako v případě stanovení hrubé vlákniny (viz kapitola 3.7.1). Rozdílný byl typ hydrolyzačního činidla, kdy při stanovení neutrálně–detergentní vlákniny byl použit roztok neutrálně–detergentního činidla (laurylsulfát sodný v neutrálním prostředí) s přídavkem triethylenglykolu, siřičitanu sodného a α –amylázy. Dalším rozdílem oproti předchozí metodice byla doba působení činidla, která v tomto případě činila 75 minut. Posledním rozdílem oproti předchozímu postupu byla etapa promývání sáčků horkou vodou po ukončení hydrolýzy. V případě stanovení neutrálně–detergentní vlákniny byly ke každé promývací dávce vody přidány 4 ml α –amylázy. Následný postup byl totožný s postupem v předcházející kapitole.

Výpočet obsahu neutrálně–detergentní vlákniny v produktech ze sladkovodních a mořských řas byl uskutečněn dle rovnice (14). Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

$$NDF = \frac{(m_{NDF3} - m_{NDF1}C_{NDF1}) - (m_{NDF4} - m_{NDF1}C_{NDF2})}{m_{NDF2}} \cdot 100 \quad (14)$$

Kde

NDF obsah neutrálně–detergentní vlákniny (%),

m_{NDF1} hmotnost prázdného sáčku (g),

m_{NDF2} navážka vzorku (g),

m_{NDF3} hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

m_{NDF4} hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

C_{NDF1} korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze,

C_{NDF2} korekce hmotnosti sáčku po spálení.

3.7.3 Stanovení acido–detergentní vlákniny

Acido–detergentní vláknina (ADF) byla v produktech ze sladkovodních a mořských řas stanovena jako zbytek buněčných stěn izolovaný po kyselé hydrolýze reagenční směsí cetyltrimetylamonium bromidu v roztoku kyseliny sírové za definovaných podmínek.

Stejně tak jako v kapitole 3.7.2, i v tomto případě se postup stanovení acido–detergentní vlákniny příliš nelišil od metodiky popsané v kapitole 3.7.1. Rozdílné bylo použité hydrolyzační činidlo, kterým byl cetyltrimetylamonium bromid rozpuštěný v roztoku 0,5M H₂SO₄. Rozdílná byla také délka hydrolýzy – 60 minut. Ostatní kroky stanovení acido–detergentní vlákniny v produktech ze sladkovodních a mořských řas zůstaly stejné jako v postupech z předcházejících dvou kapitol (3.7.1, 3.7.2).

Množství acido–detergentní vlákniny ve vzorcích řas bylo vypočteno z následující rovnice (15). Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

$$ADF = \frac{(m_{ADF3} - m_{ADF1}c_{ADF1}) - (m_{ADF4} - m_{ADF1}c_{ADF2})}{m_{ADF2}} \cdot 100 \quad (15)$$

Kde

ADF obsah acido–detergentní vlákniny (%),

*m*_{ADF1} hmotnost prázdného sáčku (g),

*m*_{ADF2} navážka vzorku (g),

*m*_{ADF3} hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

*m*_{ADF4} hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolýze (g),

*c*_{ADF1} korekce hmotnosti sáčku po hydrolýze,

*c*_{ADF2} korekce hmotnosti sáčku po spálení.

3.7.4 Stanovení acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek

Obsah acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (ADFP) v produktech z řas byl zjištěn z rozdílu hodnot ADF a NDF, přičemž se pro stanovení ADF nepoužil původní vzorek, ale produkt zbylý po stanovení NDF.

Nejprve bylo postupováno dle metodiky pro stanovení NDF popsané v kapitole 3.7.2 bez sušení vzorků. Bezprostředně nato bylo u hydrolyzovaných vzorků provedeno stanovení ADF dle postupu uvedeného v kapitole 3.7.3.

Procentuální obsah acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek ve vzorcích řas byl vypočten z rovnice (16). Výsledná hodnota byla stanovena jako průměr ze šesti měření.

$$ADFP = \frac{(m_{ADFP3} - m_{ADFP1}C_{ADFP1}) - (m_{ADFP4} - m_{ADFP1}C_{ADFP2})}{m_{ADFP2}} \cdot 100 \quad (16)$$

Kde

ADFP obsah acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (%),

*m*_{ADFP1} hmotnost prázdného sáčku (g),

*m*_{ADFP2} navážka vzorku (g),

*m*_{ADFP3} hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po hydrolyze (g),

*m*_{ADFP4} hmotnost vysušeného a spáleného sáčku se vzorkem po hydrolyze (g),

*C*_{ADFP1} korekce hmotnosti sáčku po hydrolyze,

*C*_{ADFP2} korekce hmotnosti sáčku po spálení.

3.7.5 Stanovení pektinových látek

Obsah pektinových látek v produktech ze sladkovodních a mořských řas byl stanoven spektrofotometricky modifikovanou metodou kolorimetrického stanovení obsahu uronové kyseliny v rostlinných buněčných stěnách [121]. Vlastní stanovení bylo založeno na fotometrii produktu barevné reakce

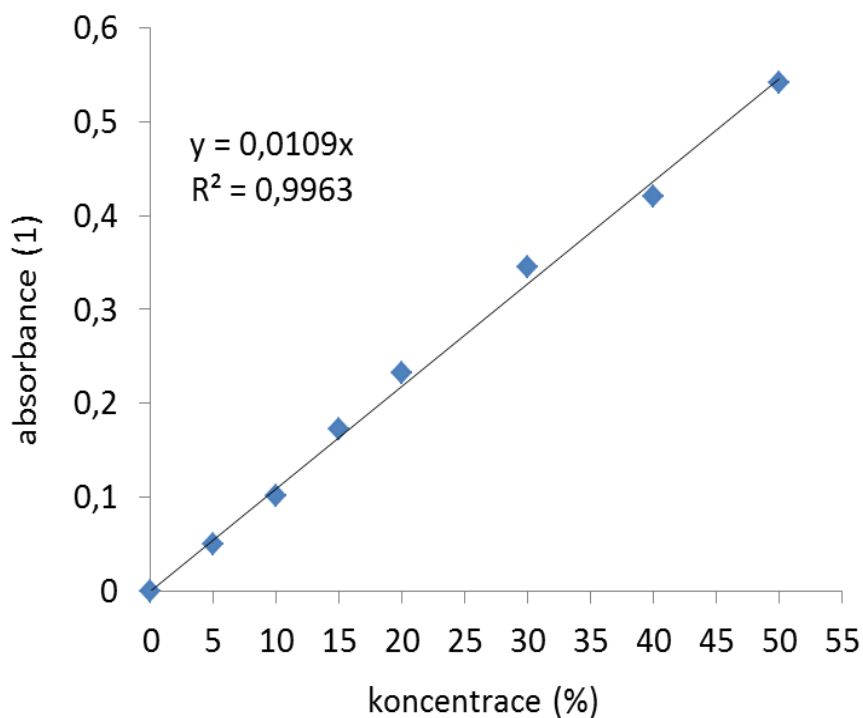
hydrolyzovaného pektinu s 3–hydroxybifenylem v prostředí koncentrované kyseliny sírové a v přítomnosti tetraboritanu sodného.

K vyhodnocení výsledků byla použita metoda kalibrační křivky, kdy jako standard sloužil jablečný pektin.

Příprava vzorku ke spektrofotometrickému stanovení pektinových látek v produktech ze sladkovodních a mořských řas spočívala nejprve v extrakci 1 g vzorku 100 ml 0,2M HCl při teplotě 80 °C za neustálého třepání po dobu 90 minut. Následně se extrakt několikrát přefiltroval pomocí frity a doplnil na objem 500 ml. Z tohoto zásobního roztoku byl vyroben pracovní roztok o koncentraci 0,02 % odebráním 5 ml roztoku a doplněním na objem 50 ml. Stejným způsobem jako vzorky řas byl upraven i standard – jablečný pektin (Sigma–Aldrich).

Samotné fotometrii předcházela příprava kalibračních roztoků o objemu 1 ml a koncentracích 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 % a 50 %. Ke každému připravenému roztoku, slepému vzorku i extrahovanému vzorku řasy bylo přidáno 6 ml 0,01254M tetraboritanu sodného v koncentrované kyselině sírové a celý obsah byl na 5 minut umístěn do vroucí vodní lázně. Po ochladnutí bylo k roztokům přidáno 0,1 ml roztoku 3–hydroxybifenyly v prostředí 0,5 % NaOH. Po důkladném protřepání a následném dvacetiminutovém stání byly všechny vzorky fotometricky proměřeny při vlnové délce 520 nm s použitím UV/VIS spektrometru Lambda 25 (PerkinElmer, USA) proti slepému vzorku. Pro účely analýzy byly vyrobeny 2 zásobní roztoky, z každého z nich byly vyrobeny 2 pracovní roztoky a každý připravený vzorek byl proměřen třikrát.

Obsah pektinových látek byl vypočten z rovnice regrese kalibrační křivky jablečného pektinu. Kalibrační křivka spolu s rovnicí regrese jsou zobrazeny níže na Obr. 11.



Obrázek 11: Graf kalibrační křivky jablečného pektinu a rovnice lineární regrese.

3.8 Statistické vyhodnocení dat

Veškerá získaná data jsou vyjádřena procentuálně jako aritmetický průměr a jsou doprovázena směrodatnou odchylkou, přičemž odlehlé výsledky byly vyloučeny provedením Dean–Dixonova testu (Q–test). K výpočtu aritmetického průměru a směrodatné odchylky byl použit program Office Excel®Microsoft.

Získané hodnoty stravitelností byly podrobeny jednofaktorové analýze rozptylu (ANOVA) z důvodu zjištění vlivu doby hydrolýzy na stravitelnost vzorků řas a párovému porovnávání Scheffého metodou, kde byly zjišťovány významné rozdíly mezi jednotlivými délkami enzymatické hydrolýzy v rámci jednotlivých způsobů enzymatické hydrolýzy (pepsin, pankreatin, pepsin + pankreatin). Jednofaktorová analýza rozptylu i párové porovnávání Scheffého metodou bylo realizováno pomocí statistického programu QC Expert 3.1, 3.2 a 3.3 (Trilobite Statistical Software). Hladina významnosti jednofaktorové

analýzy rozptylu i párového porovnávání Scheffého metodou byla nastavena na hodnotu 5 % ($P < 0,05$).

Statistická závislost mezi faktory teoreticky ovlivňujícími stravitelnost řas (tj. obsah polyfenolických látek a obsah vlákniny včetně obsahu pektinových látek) a vlastními hodnotami stravitelností byla zhodnocena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$). K výpočtu byl použit statistický program QC Expert 3.3 (Trilobite Statistical Software).

4 HLAVNÍ VÝSLEDKY PRÁCE

4.1 Obsah sušiny, popela a dusíkatých látek

Procentuální vyjádření množství sušiny, popela a dusíkatých látek ve vzorcích řas je uvedeno v Tab. 6.

Obsah sušiny se u všech vzorků pohyboval okolo 90 %, což je hodnota typická pro tento druh produktů, který v rámci procesu zpracování suroviny prochází fází sušení.

Hodnoty obsahu popela ve vzorcích řas byly velmi variabilní a pohybovaly se v rozmezí od 7,4 % do 37,8 %, přičemž nejnižší hodnota byla zaznamenána u sinice *Spirulina platensis* (S) a naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (W). Variabilita obsahu popela je pravděpodobně způsobena různým obsahem anorganických látek a solí obsažených ve vodě jakožto živném médiu pro růst řas. Nízký obsah popela u sladkovodních vzorků byl tedy očekávaný vzhledem k tomu, že mořská voda zpravidla obsahuje soli v daleko větší koncentraci než je tomu u vody sladké. Je zde i jistá spojitost mezi obsahem popela a obsahem makrobiogenních prvků, kdy vzorky, u kterých byl naměřen nejvyšší obsah popela, byly zároveň ty, u kterých bylo stanoveno nejvyšší množství makrobiogenních prvků. Obdobná platnost byla zaznamenána i u vzorků s nejnižším obsahem popela a tudíž i s nejnižším obsahem makrobiogenních prvků. Jistý vliv na obsah popela resp. anorganických látek v řasách mají také technologické kroky v rámci posklizňových úprav, které mimo jiné zahrnují i propírání, při kterém může docházet k vymývání solí z řas.

Obsah dusíkatých látek byl také velmi rozmanitý a pohyboval se v rozmezí od 8,1 % do 62,2 %, přičemž nejvyšší hodnoty patřily sladkovodním druhům – sinici *Spirulina platensis* (S; 56,2 %) a zelené řase *Chlorella pyrenoidosa* (C; 62,2 %), nižší hodnoty pak mořským řasám. I přes to, že [2] tvrdí, že některé řasy jako např. Nori mají relativně vysoký obsah bílkovin, který může dosahovat až 47 % sušiny, naměřené hodnoty jsou podstatně nižší a odpovídají spíše

hodnotám zveřejněným ve studii Sánchez-Machado [24]. Variabilitu porovnávaných výsledků lze vysvětlit závislostí obsahu bílkovin na ročním období a na druhu řasy [2].

Tabulka 6: Obsah sušiny, popela a dusíkatých látek (%) ve vzorcích řas.

Vzorek	Sušina	Popel	Dusíkaté látky
S	92,9 ± 0,1	7,4 ± 0,1	56,2 ± 0,2
C	92,6 ± 0,2	11,9 ± 0,1	62,2 ± 0,3
D	90,9 ± 0,2	18,0 ± 0,1	19,6 ± 0,4
N	86,9 ± 0,3	21,6 ± 0,1	17,4 ± 0,1
A	88,5 ± 0,1	10,0 ± 0,1	10,6 ± 0,2
K	91,5 ± 0,2	26,0 ± 0,1	8,1 ± 0,2
H	90,2 ± 0,2	19,8 ± 0,1	8,3 ± 0,1
W	90,4 ± 0,1	37,8 ± 0,1	15,6 ± 0,4
Wi	89,1 ± 0,1	22,9 ± 0,2	24,8 ± 0,3

4.2 Obsah vybraných prvků

V produktech ze sladkovodních a mořských řas byla stanovena množství makrobiogenních, oligobiogenních i toxických prvků postupy uvedenými v kapitole 3.3.4. Jejich hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 7 a 8, a znázorněny na obrázcích 12 a 13.

V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty obsahů makrobiogenních prvků – draslíku (K), vápníku (Ca), hořčíku (Mg), sodíku (Na) a fosforu (P) v produktech z mořských a sladkovodních řas. Nejvíce zastoupenými makrobiogenními prvky byly draslík (K) a sodík (Na). Na druhé straně fosfor (P), jako další zástupce makrobiogenních prvků, byl ve vzorcích řas obsažen nejméně. Nejvyšší obsah makrobiogenních prvků byl stanoven v hnědých řasách *Undaria pinnatifida* (W, Wi) a *Laminaria japonica* (K). Naproti tomu sinice *Spirulina platensis* (S) spolu

se zelenou sladkovodní řasou *Chlorella pyrenoidosa* (C) obsahovala makrobiogenních prvků nejméně.

Tabulka 7: Obsah makrobiogenních prvků – K, Ca, Mg, Na, P (mg.g⁻¹) v produktech ze sladkovodních a mořských řas.

Vzorek	K	Ca	Mg	Na	P
	mg.g ⁻¹				
S	13,7 ± 1,0	4,3 ± 0,7	2,6 ± 0,1	12,1 ± 1,1	9,9 ± 0,7
C	9,5 ± 1,2	9,9 ± 1,2	4,0 ± 0,6	6,2 ± 0,3	22,5 ± 0,8
D	60,8 ± 4,1	6,0 ± 0,6	2,6 ± 0,2	26,8 ± 2,5	5,5 ± 0,3
N	27,4 ± 4,7	14,9 ± 3,0	34,5 ± 1,5	8,9 ± 0,6	2,9 ± 0,2
A	15,1 ± 0,6	21,5 ± 2,6	5,6 ± 0,4	16,7 ± 1,2	2,0 ± 0,2
K	62,0 ± 4,2	15,3 ± 1,7	6,0 ± 0,5	37,7 ± 2,6	7,5 ± 0,6
H	53,1 ± 4,0	24,0 ± 3,1	5,4 ± 0,5	21,2 ± 1,9	2,1 ± 0,2
W	73,4 ± 4,6	16,8 ± 0,4	10,6 ± 0,5	84,2 ± 3,7	4,5 ± 0,4
Wi	2,2 ± 0,2	20,3 ± 1,6	9,3 ± 1,3	75,6 ± 3,7	5,6 ± 0,5

Vyšší obsah makrobiogenních prvků v hnědých řasách v porovnání s hodnotami naměřenými v červených řasách byl potvrzen také studii zabývajícími se stanovením množství prvků v produktech z mořských řas dostupných v Německu [122] a ve španělských mořských řasách [26]. Uvedené studie [26, 122] se shodují i v nejvyšším množství sodíku, které bylo zaznamenáno v hnědé řase *Undaria pinnatifida* (98,4 g.kg⁻¹ čerstvé hmoty [122]; 7064 mg.100g⁻¹ sušiny [26]). Rozličnost mezi naměřenými hodnotami a daty publikovanými ve výše zmíněných studiích lze vysvětlit rozdíly mezi jednotlivými druhy řas, zásadní vliv má i složení růstového média a vnější podmínky, dokonce byl prokázán i vliv způsobu mineralizace v průběhu vlastního stanovení pomocí AAS na obsah chemických prvků v hnědé řase *Undaria pinnatifida* [25, 123].

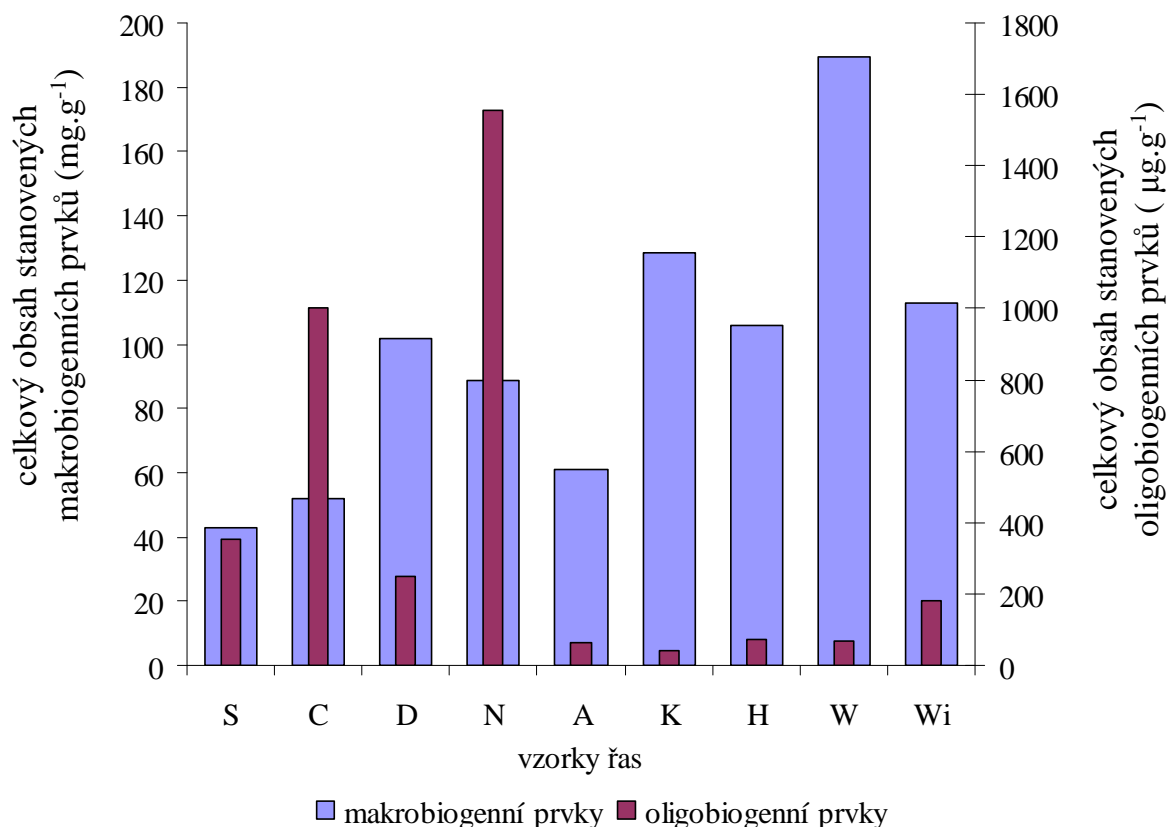
V tabulce 8 jsou uvedeny naměřené hodnoty oligobiogenních prvků – mědi (Cu), železa (Fe), zinku (Zn) a manganu (Mn) v produktech ze sladkovodních a mořských řas. Nejvíce zastoupeným oligobiogenním prvkem bylo železo (Fe), nejméně pak měď (Cu). Největší množství stanovených oligobiogenních prvků bylo obsaženo v červené řase *Porphyra tenera* (N), nejméně oligobiogenních prvků bylo stanoveno v hnědých řasách, především v hnědé řase *Laminaria japonica* (K).

Tabulka 8: Obsah oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v produktech ze sladkovodních a mořských řas.

Vzorek	Cu	Fe	Zn	Mn
	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$			
S	$4,4 \pm 0,1$	$302,8 \pm 1,4$	$27,5 \pm 2,8$	$18,0 \pm 0,9$
C	$5,4 \pm 0,1$	$902,6 \pm 5,2$	$28,4 \pm 1,7$	$66,9 \pm 1,8$
D	$4,8 \pm 0,1$	$209,8 \pm 2,8$	$26,7 \pm 0,8$	$10,2 \pm 0,7$
N	$10,0 \pm 0,1$	$1224 \pm 9,3$	$14,9 \pm 0,3$	$304,2 \pm 2,9$
A	$3,7 \pm 0,1$	$37,3 \pm 2,5$	$18,5 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$
K	$3,0 \pm 0,4$	$20,2 \pm 0,5$	$14,3 \pm 3,4$	$3,7 \pm 0,2$
H	$2,3 \pm 0,3$	$51,9 \pm 1,1$	$11,1 \pm 0,9$	$8,2 \pm 0,5$
W	$2,6 \pm 0,1$	$38,5 \pm 2,3$	$20,6 \pm 5,0$	$6,4 \pm 0,1$
Wi	$4,1 \pm 0,1$	$125,3 \pm 1,5$	$43,7 \pm 0,3$	$7,1 \pm 0,3$

Při srovnání koncentrací oligobiogenních prvků obsažených v řasách s daty z jiných studií je patrná velká variabilita, a to i v rámci jednoho druhu řasy, což dokazuje například obsah manganu a železa v červené řase *Porphyra tenera* (N). Koncentrace manganu stanovená v rámci této práce činila $304,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, naproti tomu studie [26] uvádí množství manganu v této řase $27,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, studie [124] $32,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a studie [122] $31,2$ a $54,6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Obsah železa stanovený v rámci této disertační práce pak činil $1224 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, studie [26] uvádí hodnotu $103 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,

studie [124] $110 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a ve studii [122] jsou zaznamenány hodnoty $131 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a $991 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ železa. Dle studie [2] jsou dokonce chemické prvky jako železo nebo měď v mořských řasách zastoupeny ve větších koncentracích než v mnoha jiných potravinách, například v mase nebo ve špenátu. Jako příklad uvádí porovnání obsahu železa v červené řase *Palmaria palmata* ($6,4 \text{ mg}$ v 8 g sušené řasy) a ve svíčkové ($1,6 \text{ mg}$ ve 100g syrového masa).



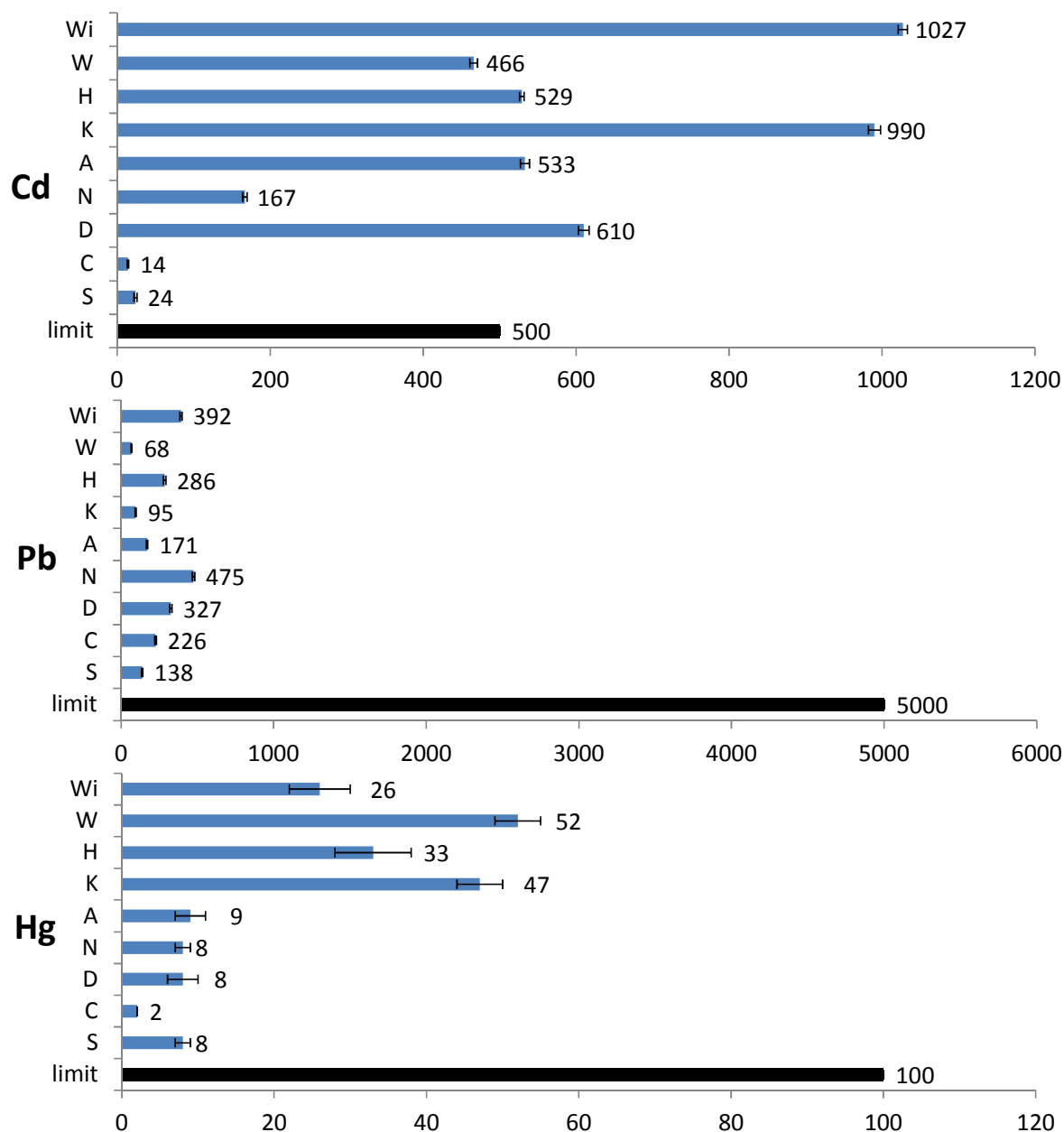
Obrázek 12: Souhrnný obsah stanovených makrobiogenních ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) a oligobiogenních ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) prvků v produktech ze sladkovodních a mořských řas.

Obrázek 12 představuje srovnání souhrnných obsahů stanovených makrobiogenních a oligobiogenních prvků ve vzorcích sladkovodních a mořských řas. Z grafu je patrné, že všechny zkoumané vzorky hnědých řas (A, K, H, W a Wi) obsahovaly vysoká množství makrobiogenních prvků a zároveň nízká množství oligobiogenních prvků. Zkoumané druhy červených řas (D a N) spolu se zástupci sladkovodních druhů (S a C) naopak obsahovaly

oproti hnědým řasám nižší množství makrobiogenních prvků, zato vyšší množství oligobiogenních prvků.

Studie [25] uvádí, že makrobiogenní prvky jsou v mořských řasách zastoupeny v relativně nízkých koncentracích, zatímco koncentrace některých oligobiogenních prvků, zejména jódu a železa, často i překračují doporučené denní dávky. Studie [2] dokonce uvádí, že množství důležitých chemických prvků, např. vápníku, je v mořských řasách kumulováno v daleko vyšších koncentracích než jaké jsou obsaženy v jiných potravinách a jako příklad uvádí více než sedminásobný obsah vápníku v zelené mořské řase *Ulva lactuca* oproti sýru čedar. Vysoký obsah chemických prvků v mořských i sladkovodních řasách je vysvětlován jejich schopností absorbovat chemické prvky z mořské vody, případně z kultivačního média [2].

Obrázek 13 znázorňuje naměřené hodnoty toxických prvků – kadmia (Cd), olova (Pb) a rtuti (Hg) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas společně s legislativními limity pro toxické prvky v jedlých řasách platnými ve Francii, kde nejvyšší povolené množství kadmia je $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny, olova 5 mg.kg^{-1} sušiny a rtuti $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny [104]. Z obrázku je patrné, že ze zkoumaných toxických prvků bylo v produktech ze sladkovodních a mořských řas zjištěno nejvyšší množství kadmia. U poloviny vzorků řas toto množství dokonce překročilo limit platný ve Francii. Obsah ostatních toxických prvků byl nízký a ve všech případech nepřekračoval limit platný ve Francii. Z grafu také vyplývá, že produkt Wakame instant (Wi) z hnědé řasy *Undaria pinnatifida* obsahoval nejvyšší množství toxických prvků, nejméně jich bylo obsaženo u sinice *Spirulina platensis* (S).



Obrázek 13: Obsah toxických prvků – Cd, Pb, Hg (ng.g⁻¹) v produktech ze sladkovodních a mořských řas a jejich limity ve Francii.

Naměřené hodnoty rtuti byly téměř dvojnásobné v porovnání s publikovanými údaji dle [122] a naopak několikanásobně nižší než hodnoty zveřejněné ve studii [124]. Při porovnání koncentrace olova byly naměřené výsledky shodné s daty ze studie [124], ale hodnoty uvedené ve studii [122] v některých případech i několikanásobně převyšovaly naměřené hodnoty,

přičemž žádná z uvedených hodnot nepřekročila limit platný ve Francii. To už ale nelze tvrdit v případě obsahů kadmia, kdy nejen některé publikované hodnoty ve studii [124], ale i všechny hodnoty ve studii [122] překročily stanovený francouzský limit. Nejvyšší překročení limitu, více než čtyřnásobné, bylo zaznamenáno u hnědých řas *Undaria pinnatifida* [122] a *Laminaria saccharina* [124]. Překročení zákonných limitů pro obsah toxických prvků v řasách není příliš časté, neboť jak uvádí studie [26], i když většina stopových prvků v řasách jsou toxické prvky, jejich koncentrace zpravidla splňují zákonné limity. Zde je nutné zdůraznit výrazný negativní vliv toxických prvků na lidské zdraví, enormní schopnost řas absorbovat minerální látky (včetně toxických prvků) z růstového média a nepřítomnost limitů pro obsah toxických prvků v řasách v české legislativě, kde nejsou řasy nijak vyčleněny a jsou řešeny stejně tak jako ostatní potraviny jen v rámci Zákona č. 110/1997 Sb., O potravinách a tabákových výrobcích, ve znění pozdějších předpisů. Z naměřených dat vyplývá, že vzorky hnědých řas *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiformis*, *Laminaria japonica*, *Eisenia bicyclis* a červené řasy *Palmaria palmata* použité pro stanovení v rámci této disertační práce by nebylo možné prodávat na francouzském trhu, neboť nesplňují legislativní limity pro kadmium, stejně tak jako všechny vzorky použité k analýzám ve studii [122] a část vzorků zkoumaných v rámci studie [124]. Pro srovnání lze uvést limity z Nařízení vlády o podmínkách provádění agroenvironmentálních opatření 79/2007 Sb., kde jsou v příloze uvedeny mezní hodnoty chemických látek, které může obsahovat vzorek zeleniny pěstované v rámci agroenvironmentálního opatření. V případě kadmia se jedná o limit 250 ng.g^{-1} , v případě olova 300 ng.g^{-1} a v případě rtuti 30 ng.g^{-1} . Obecně lze říci, že skladba minerálních látek u řas je velmi rozmanitá v závislosti na mnoha exogenních (např. lokalita, roční období, teplota vody, salinita, pH) a endogenních (např. druh řasy, složení buněčné stěny řasy) faktorech a koresponduje s koncentrací minerálních látek obsažených v mořské vodě či v růstovém médiu [25].

4.3 Stravitelnost sušiny a organické hmoty

Stravitelnost sušiny (DMD) a stravitelnost organické hmoty (OMD) byla stanovena dle metodik uvedených v kapitolách 3.4.1 a 3.4.2. Procentuální vyjádření DMD a OMD po enzymatické hydrolýze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem jsou uvedeny v Tab. 9–11.

Tabulka 9: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pepsinem.

		Hydrolýza pepsinem (h)		
Vzorek		6	12	24
DMD	D	79,1 ± 0,1 ^a	81,0 ± 0,3 ^a	83,3 ± 0,1 ^a
	N	62,5 ± 0,3 ^a	65,1 ± 0,3 ^a	69,3 ± 0,1 ^a
	K	67,9 ± 0,1 ^a	67,8 ± 0,4 ^b	68,6 ± 0,1 ^c
	H	48,3 ± 0,2 ^a	48,4 ± 0,8 ^b	50,3 ± 0,4 ^{a,b}
	W	64,5 ± 0,1 ^a	65,1 ± 0,1 ^b	66,9 ± 0,4 ^{a,b}
	Wi	44,4 ± 0,3 ^a	45,6 ± 0,1 ^a	47,6 ± 0,2 ^a
	A	53,4 ± 0,2 ^a	53,6 ± 0,5 ^b	55,9 ± 0,2 ^{a,b}
	C	50,0 ± 0,4 ^a	51,8 ± 0,8 ^b	63,5 ± 0,5 ^{a,b}
OMD	D	85,5 ± 0,1 ^a	86,8 ± 0,2 ^a	88,4 ± 0,1 ^a
	N	77,6 ± 0,3 ^a	79,2 ± 0,1 ^a	81,5 ± 0,1 ^a
	K	79,3 ± 0,1 ^a	79,3 ± 0,3 ^b	79,7 ± 0,1 ^c
	H	64,0 ± 0,1 ^a	64,0 ± 0,6 ^b	65,3 ± 0,3 ^{a,b}
	W	81,7 ± 0,1 ^a	82,1 ± 0,1 ^a	82,9 ± 0,2 ^a
	Wi	63,9 ± 0,2 ^a	64,9 ± 0,1 ^a	65,8 ± 0,1 ^a
	A	63,9 ± 0,2 ^a	64,0 ± 0,5 ^b	65,7 ± 0,2 ^{a,b}
	C	63,4 ± 0,9 ^a	64,2 ± 0,4 ^b	72,4 ± 0,3 ^{a,b}

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 6). Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti P < 0,05.

Současně byl sledován i vliv doby hydrolýzy příslušnými enzymy na hodnoty DMD a OMD, proto je v tabulkách zároveň zahrnuto i statistické zhodnocení vlivu doby hydrolýzy na hodnoty DMD a OMD s pomocí párové porovnávací zkoušky (Scheffého metoda).

V závislosti na rozdílné délce enzymové hydrolýzy pepsinem (Tab. 9) byly nejnižší hodnoty stravitelností zjištěny po 6 hodinové hydrolýze a nejvyšší po 24 hodinové hydrolýze. Hodnoty DMD se pohybovaly od 44,4 % (hnědá řasa *Undaria pinnatifida* – Wi po 6 hodinové hydrolýze) do 83,3 % (červená řasa *Palmaria palmata* – D po 24 hodinové hydrolýze) a hodnoty OMD od 63,4 % (zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa* – C po 6 hodinové hydrolýze) do 88,4 % (červená řasa *Palmaria palmata* – D po 24 hodinové hydrolýze).

Na základě provedení ANOVA testu byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými dobami trvání enzymové hydrolýzy téměř u všech vzorků; výjimku tvořila hnědá řasa *Laminaria japonica* (K), u které byl vliv doby hydrolýzy na hodnoty stravitelnosti vyhodnocen jako nevýznamný.

I výsledky DMD a OMD po hydrolýze pankreatinem (Tab. 10) ukázaly, že s rostoucí délkou hydrolýzy docházelo ke zvýšení hodnot DMD i OMD, přičemž nejnižší hodnota DMD (44,4 %) byla zaznamenána u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (Wi) po 6 hodinové hydrolýze a nejnižší hodnota OMD (69,1 %) u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) po 6 hodinové hydrolýze. Nejvyšší hodnota DMD (90,5 %) byla zjištěna u červené řasy *Palmaria palmata* (D) po 24 hodinové hydrolýze. Nejvyšší hodnota OMD (95,4 %) pak byla zaznamenána u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (W) po 12 hodinové hydrolýze.

Jednofaktorová analýza ANOVA prokázala statisticky významné rozdíly v rámci jednotlivých dob působení pankreatinu u všech vzorků kromě hnědé řasy *Hizikia fusiformis* (H), kde byl rozdíl shledán jako nevýznamný.

Tabulka 10: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pankreatinem.

		Hydrolýza pankreatinem (h)		
Vzorek		6	12	24
DMD	D	86,0 ± 0,4 ^a	87,9 ± 0,5 ^a	90,5 ± 0,1 ^a
	N	61,0 ± 0,8 ^{a,b}	66,7 ± 0,5 ^a	69,1 ± 0,5 ^b
	K	66,3 ± 0,9 ^a	73,8 ± 0,2 ^a	84,4 ± 0,9 ^a
	H	67,4 ± 0,6 ^a	69,0 ± 0,2 ^b	71,8 ± 0,2 ^c
	W	67,2 ± 0,1 ^{a,b}	86,9 ± 0,6 ^a	83,5 ± 0,2 ^b
	Wi	44,4 ± 0,3 ^{a,b}	63,6 ± 2,2 ^a	62,1 ± 0,1 ^b
	A	72,2 ± 0,4 ^a	72,1 ± 0,7 ^b	77,4 ± 0,6 ^{a,b}
	C	58,3 ± 3,3 ^{a,b}	80,2 ± 0,5 ^a	83,9 ± 0,6 ^b
OMD	D	90,7 ± 0,2 ^a	91,9 ± 0,3 ^a	93,8 ± 0,1 ^a
	N	80,6 ± 0,2 ^a	83,0 ± 0,2 ^a	84,4 ± 0,1 ^a
	K	85,2 ± 0,2 ^a	88,8 ± 0,1 ^a	92,8 ± 0,4 ^a
	H	80,9 ± 0,1 ^a	81,4 ± 0,1 ^b	82,2 ± 0,1 ^c
	W	88,5 ± 0,2 ^a	95,4 ± 0,1 ^a	93,9 ± 0,1 ^a
	Wi	72,6 ± 0,2 ^{a,b}	82,9 ± 0,8 ^a	81,0 ± 0,1 ^b
	A	82,6 ± 0,2 ^a	82,1 ± 0,2 ^b	84,5 ± 0,4 ^{a,b}
	C	69,1 ± 2,4 ^{a,b}	85,4 ± 0,3 ^a	88,1 ± 0,5 ^b

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 6). Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$.

V případě kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem (Tab. 11) byla nejnižší hodnota DMD (60,4 %) naměřena u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (Wi) po 0,5 hodinové hydrolýze pepsinem následované 6 hodinovou hydrolýzou pankreatinem a nejnižší hodnota OMD (77,1 %) u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) taktéž po 0,5 hodinové hydrolýze pepsinem následované

6 hodinovou hydrolýzou pankreatinem. Nejvyšší hodnoty DMD (93,7 %) i OMD (97,4 %) byly zaznamenány u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (W) po 12 hodinové hydrolýze pepsinem následované 12 hodinovou hydrolýzou pankreatinem.

Tabulka 11: Stravitelnost sušiny/organické hmoty (DMD/OMD) vzorků řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

		Kombinovaná (pepsin + pankreatin) hydrolýza (h)				
		0,5 + 6	6 + 6	12 + 12	0,5 + 24	24 + 24
DMD	D	88,0 ± 0,2 ^a	88,7 ± 0,3 ^a	90,6 ± 0,2 ^a	89,4 ± 0,1 ^a	92,1 ± 0,1 ^a
	N	67,0 ± 1,2 ^a	68,9 ± 0,8 ^b	74,2 ± 0,2 ^{a,b}	70,9 ± 0,2 ^a	78,7 ± 0,4 ^{a,b}
	K	71,2 ± 2,2 ^{a,b,c}	78,3 ± 0,6 ^{a,d,e}	87,9 ± 0,2 ^a	88,4 ± 0,4 ^{b,d}	90,7 ± 0,4 ^{c,e}
	H	75,2 ± 0,6 ^a	74,9 ± 0,3 ^b	77,4 ± 0,1 ^c	76,8 ± 0,3 ^d	78,5 ± 0,3 ^{a,b}
	W	81,4 ± 1,7 ^{a,b,c}	83,5 ± 0,3 ^{d,e,f}	93,7 ± 0,3 ^{a,d}	92,0 ± 0,5 ^{b,e}	92,3 ± 0,2 ^{c,f}
	Wi	60,4 ± 6,3 ^{a,b,c,d}	76,8 ± 0,4 ^a	85,5 ± 0,6 ^b	82,5 ± 0,9 ^c	84,9 ± 0,7 ^d
	A	81,3 ± 0,1 ^a	80,3 ± 0,6 ^{b,c}	80,3 ± 0,3 ^d	83,0 ± 0,1 ^b	84,1 ± 0,1 ^c
	C	69,6 ± 0,7 ^{a,b}	77,3 ± 0,4 ^{c,d}	81,0 ± 0,6 ^a	85,9 ± 0,5 ^{b,c}	89,7 ± 0,1 ^{a,d}
OMD	D	91,9 ± 0,2 ^{a,b}	93,0 ± 0,1 ^a	94,1 ± 0,1 ^{a,c}	92,9 ± 0,1 ^{b,c}	94,8 ± 0,1 ^{a,c}
	N	83,1 ± 0,5 ^{a,b}	84,5 ± 0,4 ^a	86,9 ± 0,1 ^{a,c}	85,2 ± 0,2 ^{b,c}	88,7 ± 0,1 ^{a,c}
	K	86,3 ± 1,2 ^{a,b,c}	88,6 ± 0,3 ^{a,b,c}	94,2 ± 0,1 ^a	94,1 ± 0,1 ^b	95,1 ± 0,1 ^c
	H	84,1 ± 0,3 ^{a,b}	84,2 ± 0,3 ^{c,d}	85,7 ± 0,1 ^{a,c}	84,9 ± 0,1 ^e	86,1 ± 0,2 ^{b,d,e}
	W	92,3 ± 0,8 ^{a,b,c}	93,6 ± 0,1 ^{d,e}	97,4 ± 0,1 ^{a,d}	96,4 ± 0,2 ^b	96,7 ± 0,1 ^{c,e}
	Wi	77,8 ± 3,2 ^{a,b,c}	86,5 ± 0,2 ^a	91,8 ± 0,3 ^a	89,5 ± 0,6 ^b	91,1 ± 0,3 ^c
	A	86,5 ± 0,1 ^a	86,5 ± 0,2 ^b	86,5 ± 0,2 ^c	87,6 ± 0,1 ^d	88,6 ± 0,1 ^b
	C	77,1 ± 0,4 ^{a,b}	83,4 ± 0,5 ^{c,d}	86,0 ± 0,4 ^a	89,6 ± 0,5 ^{b,c}	92,5 ± 0,2 ^{a,d}

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$.

Po vyhodnocení jednofaktorovou analýzou ANOVA byl prokázán vliv doby působení enzymů na hodnoty DMD i OMD, kdy byly zjištěny statisticky významné rozdíly u všech vzorků řas.

Při srovnání jednotlivých typů hydrolýz, tzn. hydrolýzy pepsinem, pankreatinem a kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem, lze obecně říci, že nejvyšší účinnost byla zjištěna u kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem, méně účinná byla hydrolýza pankreatinem a nejnižší účinnost vykazoval enzym pepsin. Tento trend byl očekávaný a lze snadno vysvětlit tím, že pankreatin je v podstatě směs proteáz, lipáz a amyláz, která má vyšší enzymovou aktivitu a širší spektrum působení než samotný pepsin štěpící pouze bílkoviny.

Snadno vysvětlitelné jsou i vyšší hodnoty OMD v porovnání s hodnotami DMD při stejných podmínkách, neboť organická hmota, jejíž stravitelnost je zjišťována v rámci stanovení stravitelnosti OMD, je více stravitelná než sušina obsahující anorganické a nestravitelné látky (např. minerální látky), jejíž stravitelnost je zjišťována v rámci stanovení stravitelnosti DMD [125].

Rozdílné hodnoty stravitelnosti jednotlivých vzorků řas jsou způsobeny mnoha faktory, mezi které patří složení buněčné stěny řas, přítomnost látek snižujících stravitelnost (např. tanin, kyselina fytová, polyfenolické látky, inhibitory enzymů) nebo například typ metody použitý ke stanovení stravitelnosti [125].

Srovnání naměřených dat s hodnotami uvedenými v jiných studiích je značně problematické především z důvodu použití odlišných vzorků řas, použití různých metod stanovení a také velmi různorodých podmínek v průběhu vlastního stanovení [90]. Z výsledků měření bylo obecně vypořádáno, že červené řasy dosahují vyšších hodnot stravitelnosti než ostatní druhy mořských řas, což dokládá i studie [109], která používá pH stat metodu stanovení stravitelnosti nebo studie [106] využívající gravimetrickou metodu stanovení.

Vyšší hodnoty stravitelnosti u červených řas mohou být způsobeny vyšším množstvím rozpustné vlákniny v nich obsažené. Hnědé řasy sice vlákninu obsahují také, ale převážně se jedná o vlákninu nerozpustnou [90].

4.4 Stravitelnost dusíkatých látek

Stravitelnost dusíkatých látek byla stanovena na základě postupů uvedených v kapitole 3.4.3. Obsahy dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) po různé době trvání enzymatické hydrolýzy pepsinem jsou uvedeny v Tab. 12, pankreatinem v Tab. 13 a po kombinované hydrolýze pepsinem a následně pankreatinem v Tab. 14. Pomocí párové porovnávací zkoušky (Scheffého metoda) bylo provedeno i statistické zhodnocení vlivu doby hydrolýzy na obsah dusíkatých látek a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek, které je v tabulkách vyjádřeno formou indexů.

Výsledky stanovení obsahu dusíkatých látek (NL) po enzymatické hydrolýze pepsinem (Tab. 12) ukázaly klesající tendenci v závislosti na rostoucí délce enzymatického působení. U koeficientů stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) byl tento trend opačný. Nejnižší množství dusíkatých látek (NL) po enzymové hydrolýze bylo zaznamenáno u hnědé řasy *Laminaria japonica* – K (3,4 %) po 24 hodinové hydrolýze, zatímco nejvyšší obsah byl sledován u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* – C (27,7 %) po 6 hodinové hydrolýze. V případě koeficientů stravitelnosti (K_S) byla nejnižší hodnota naměřena u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* – A (18,8 %) po 6 hodinové hydrolýze a nejvyšší u červené řasy *Palmaria palmata* – D (80,9 %) po 24 hodinové hydrolýze.

Výsledky byly podrobeny jednofaktorové analýze ANOVA, která ukázala u všech vzorků řas statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými dobami působení enzymu pepsinu.

Tabulka 12: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pepsinem.

Vzorek	Hydrolýza pepsinem (h)			
	6	12	24	
NL	D	5,9 ± 0,1 ^a	4,3 ± 0,1 ^a	3,7 ± 0,1 ^a
	N	10,7 ± 0,3 ^a	9,2 ± 0,1 ^a	7,9 ± 0,1 ^a
	K	4,4 ± 0,3 ^a	4,1 ± 0,1 ^b	3,4 ± 0,1 ^{a,b}
	W	6,8 ± 0,2 ^a	6,2 ± 0,1 ^a	5,1 ± 0,1 ^a
	Wi	16,4 ± 0,1 ^a	14,6 ± 0,1 ^a	13,1 ± 0,4 ^a
	A	8,6 ± 0,1 ^a	8,2 ± 0,1 ^b	7,8 ± 0,2 ^{a,b}
	C	27,7 ± 0,3 ^a	26,1 ± 0,6 ^a	16,5 ± 0,5 ^a
K _S	D	69,8 ± 0,7 ^a	77,8 ± 0,4 ^a	80,9 ± 0,1 ^a
	N	38,2 ± 1,7 ^a	47,1 ± 0,5 ^a	54,4 ± 0,2 ^a
	K	45,9 ± 3,6 ^a	49,6 ± 1,4 ^b	58,8 ± 0,7 ^{a,b}
	W	56,4 ± 1,3 ^a	59,9 ± 0,4 ^a	67,3 ± 0,2 ^a
	Wi	33,8 ± 0,2 ^a	41,2 ± 0,5 ^a	47,0 ± 1,5 ^a
	A	18,8 ± 1,1 ^a	22,2 ± 0,9 ^b	26,2 ± 1,5 ^{a,b}
	C	55,4 ± 0,5 ^a	58,0 ± 0,9 ^a	73,6 ± 0,7 ^a

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 6). Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti P < 0,05.

Při sledování vlivu doby hydrolýzy pankreatinem na obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) v produktech z řas (Tab. 13) bylo zjištěno, že s rostoucí délkou hydrolýzy se snižuje obsah dusíkatých látek (NL) ve vzorcích řas. Nejnižší obsahy dusíkatých látek (NL) byly sledovány u červené řasy *Palmaria palmata* – D (1,3 %) po 24 hodinové hydrolýze. Na druhou stranu byla nejvyšší hodnota dusíkatých látek (NL)

zaznamenána u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* – C (25,9 %) po 6 hodinové hydrolýze. V případě koeficientů stravitelnosti (K_S) bylo pozorováno jejich zvyšování s rostoucí dobou působení pankreatinu, kdy nejnižší hodnota byla zjištěna u vzorku hnědé řasy *Undaria pinnatifida* – Wi (35,8 %) po 6 hodinové hydrolýze. Nejvyšší hodnoty koeficientu stravitelnosti (K_S) pak bylo dosaženo po 12 hodinové hydrolýze červené řasy *Palmaria palmata* – D (93,8 %).

Tabulka 13: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po 6, 12 a 24 hodinách enzymatické hydrolýzy pankreatinem.

Vzorek		Hydrolýza pankreatinem (h)		
		6	12	24
NL	D	1,8 ± 0,1 ^{a,b}	1,2 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^b
	N	5,1 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,1 ^a	4,4 ± 0,1 ^a
	K	2,2 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,1 ^b	1,5 ± 0,1 ^{a,b}
	W	4,9 ± 0,2 ^a	3,4 ± 0,2 ^a	2,7 ± 0,1 ^a
	Wi	15,9 ± 0,4 ^{a,b}	11,7 ± 0,1 ^a	10,7 ± 0,7 ^b
	A	6,7 ± 0,2 ^a	6,5 ± 0,1 ^b	5,7 ± 0,1 ^{a,b}
	C	25,9 ± 2,6 ^{a,b}	9,9 ± 1,9 ^a	6,1 ± 0,1 ^b
K_S	D	90,6 ± 0,7 ^{a,b}	93,8 ± 0,3 ^a	93,3 ± 0,3 ^b
	N	70,6 ± 0,1 ^a	73,4 ± 0,3 ^a	74,5 ± 0,4 ^a
	K	72,9 ± 0,9 ^a	76,0 ± 0,7 ^b	81,1 ± 1,4 ^{a,b}
	W	68,3 ± 1,5 ^a	78,1 ± 1,1 ^a	82,4 ± 0,8 ^a
	Wi	35,8 ± 1,8 ^{a,b}	52,7 ± 0,5 ^a	57,0 ± 2,9 ^b
	A	36,7 ± 2,2 ^a	38,9 ± 0,6 ^b	46,4 ± 1,2 ^{a,b}
	C	58,3 ± 4,1 ^{a,b}	84,1 ± 3,1 ^a	90,2 ± 0,1 ^b

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka ($n = 6$). Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$.

Provedená jednofaktorová analýza ANOVA prokázala významný vliv doby hydrolýzy na hodnoty obsahu dusíkatých látek i na koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek.

Tabulka 14: Obsah dusíkatých látek (NL) a koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) vzorků řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

		Kombinovaná (pepsin + pankreatin) hydrolýza (h)				
		0,5 + 6	6 + 6	12 + 12	0,5 + 24	24 + 24
NL	D	1,6 ± 0,4 ^{a,b}	1,2 ± 0,1 ^c	0,7 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^d	0,8 ± 0,1 ^b
	N	4,8 ± 0,2 ^{a,b,c}	4,2 ± 0,2 ^{d,e}	3,6 ± 0,2 ^{a,d}	3,8 ± 0,1 ^b	3,3 ± 0,1 ^{c,e}
	K	2,7 ± 0,1 ^{a,b}	1,8 ± 0,1 ^{a,b}	1,0 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^{a,b}	0,9 ± 0,1 ^b
	W	6,7 ± 0,3 ^{a,b,c}	3,3 ± 0,2 ^{a,b,c}	1,8 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,1 ^b	2,0 ± 0,1 ^c
	Wi	15,6 ± 0,6 ^{a,b,c}	10,6 ± 0,6 ^{a,b,c}	8,2 ± 0,4 ^a	7,5 ± 0,1 ^b	6,6 ± 0,2 ^c
	A	6,4 ± 0,1 ^{a,b}	6,5 ± 0,2 ^{c,d}	6,0 ± 0,1 ^e	5,4 ± 0,2 ^{a,c}	5,0 ± 0,2 ^{b,d,e}
	C	16,1 ± 1,0 ^{a,b,c}	12,5 ± 0,3 ^{a,c}	10,2 ± 1,1 ^{b,d,e}	5,7 ± 0,4 ^{a,d}	4,7 ± 0,5 ^{c,e}
K _S	D	91,6 ± 2,0 ^{a,b}	94,1 ± 0,5 ^c	96,3 ± 0,2 ^a	94,9 ± 0,2 ^d	95,8 ± 0,6 ^b
	N	72,5 ± 0,9 ^{a,b,c}	75,8 ± 1,1 ^d	79,2 ± 1,3 ^a	77,9 ± 0,1 ^b	80,9 ± 0,8 ^{c,d}
	K	67,4 ± 1,0 ^{a,b}	77,3 ± 1,0 ^{a,b}	87,5 ± 0,5 ^a	83,1 ± 0,9 ^{a,b}	89,0 ± 0,8 ^b
	W	57,3 ± 2,1 ^{a,b,c}	78,5 ± 1,4 ^{a,b,c}	88,2 ± 0,4 ^a	86,9 ± 0,1 ^b	87,2 ± 0,5 ^c
	Wi	37,1 ± 2,6 ^{a,b,c}	57,2 ± 2,5 ^{a,b,c}	67,1 ± 1,5 ^a	69,7 ± 0,6 ^b	73,5 ± 0,7 ^c
	A	39,7 ± 0,7 ^{a,b}	38,9 ± 2,2 ^{c,d}	43,6 ± 0,6 ^e	49,0 ± 1,4 ^{a,c}	52,7 ± 1,9 ^{b,d,e}
	C	74,2 ± 1,6 ^{a,b,c}	79,9 ± 0,4 ^{a,c}	83,6 ± 1,7 ^{b,d,e}	90,8 ± 0,6 ^{a,d}	92,4 ± 0,8 ^{c,e}

Hodnoty jsou vyjádřeny v % jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 6). Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti P < 0,05.

V případě kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem (Tab. 14) byl také sledován trend snižujícího se množství dusíkatých látek (NL) s rostoucí

dobou enzymatické hydrolýzy, kdy nejnižší hodnoty byly naměřeny po kombinované 12 hodinové hydrolýze pepsinem a následně 12 hodinové hydrolýze pankreatinem produktu z červené řasy *Palmaria palmata* – D (0,7 %), zatímco nejvyšší obsah dusíkatých látek (NL) byl zaznamenán u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* – C (16,1 %) po 0,5 hodinové hydrolýze pepsinem a 6 hodinové hydrolýze pankreatinem. Z pohledu koeficientů stravitelnosti dusíkatých látek (K_S) bylo pozorováno zvýšení jejich hodnot s rostoucí délkou kombinované hydrolýzy. Nejnižší koeficient (K_S) byl zjištěn u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* – Wi (37,1 %) po 0,5 hodinové hydrolýze pepsinem a 6 hodinové hydrolýze pankreatinem a nejvyšší byl zaznamenán u červené řasy *Palmaria palmata* – D (96,3 %) po 12 hodinové hydrolýze pepsinem a následně 12 hodinové hydrolýze pankreatinem.

Po provedení jednofaktorové analýzy ANOVA byl zjištěn statisticky významný vliv doby hydrolýzy na obsah dusíkatých látek i na koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek u všech zkoumaných produktů z řas.

Stejně tak jako v případě hodnot DMD a OMD, i zde se jako nejučinnější typ hydrolýzy projevila kombinovaná hydrolýza pepsinem a pankreatinem, nižší účinnost měl pankreatin a nejméně účinný byl enzym pepsin.

Rozmanitost hodnot stravitelností dusíkatých látek mezi jednotlivými vzorky řas vyplývá ze struktury buněčné stěny, která má u různých druhů řas jiné složení. U mořských řas je buněčná stěna tvořena především polysacharidy, které mohou s bílkovinami vytvářet stabilní komplexy obtížně hydrolyzovatelné proteolytickými enzymy. Hnědé řasy obsahují ve své buněčné stěně i celulózu, což se projevuje v nízkých hodnotách stravitelnosti [90, 125]. Studie [108] také potvrzuje, že stravitelnost bílkovin nezáleží jen na jejich složení, ale i na úseku trávicího traktu, kde jsou metabolizovány.

Srovnání naměřených hodnot stravitelností dusíkatých látek s publikovanými údaji je obtížné z důvodu nedostatečného množství studií zabývajících se touto

problematikou, které navíc používají odlišné vzorky řas, které podrobují jiným metodám stanovení, než jaké byly použity v rámci této práce. Pro červenou řasu *Palmaria palmata* byla publikována několikanásobně nižší hodnota stravitelnosti bílkovin (29,52 %), která byla stanovena *in vitro* metodou po kombinované hydrolýze pepsinem (0,5 h) a pankreatinem (6 h) [126], ve srovnání s hodnotou 91,6 %, která byla stanovena v rámci této disertační práce. Tématicky blízko je i práce [108] zabývající se stanovením využitelnosti bílkovin obsažených v mořských řasách určených ke konzumaci, přičemž ve vzorku červené řasy *Porphyra tenera* bylo zjištěno 17,27 % a ve vzorku hnědé řasy *Undaria pinnatifida* 4,23 % stravitelných bílkovin po kombinované hydrolýze pepsinem (0,5 h) a pankreatinem (6 h), což po přepočtu odpovídá hodnotám stanoveným u téhož vzorku červené řasy a v produktu Wakame instant z hnědé řasy *Undaria pinnatifida* v rámci této disertační práce.

4.5 Stravitelnost vybraných prvků

Stravitelnost vybraných chemických prvků byla stanovena dle postupu uvedeného v kapitole 3.4.4. a představuje procentuální úbytek obsahu chemických prvků v sušině vzorku po enzymové hydrolýze pepsinem, pankreatinem a kombinované hydrolýze oběma enzymy po stanovenou dobu. Z makrobiogenních prvků (kapitola 4.5.1) byl po enzymatických hydrolýzách stanoven obsah draslíku (K), vápníku (Ca), hořčíku (Mg), sodíku (Na) a fosforu (P), z oligobiogenních prvků (kapitola 4.5.2) pak obsah mědi (Cu), železa (Fe), zinku (Zn) a manganu (Mn) a z toxických prvků (kapitola 4.5.3) obsah kadmia (Cd), olova (Pb) a rtuti (Hg).

4.5.1 Stravitelnost makrobiogenních prvků

Procentuální úbytek makrobiogenních prvků u produktů ze sladkovodních a mořských řas byl sledován po enzymatické hydrolýze pepsinem (Tab. 15), pankreatinem a kombinované hydrolýze pepsinem a následně pankreatinem

(Tab. 16). Projevy jednotlivých typů enzymatických hydrolýz na souhrnné obsahy vápníku (Ca) a hořčíku (Mg) vzorků řas jsou ilustrovány na obrázku 14.

Tabulka 15: Stravitelnost makrobiogenních prvků – K, Ca, Mg, Na, P (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.

Vzorek	K	Ca	Mg	Na	P
	Stravitelnost po hydrolýze pepsinem (%)				
S	95,6 ± 0,2	86,0 ± 0,2	96,2 ± 0,3	97,5 ± 0,1	52,5 ± 0,2
C	95,8 ± 0,1	96,0 ± 0,1	97,5 ± 0,2	95,2 ± 0,1	48,9 ± 0,2
D	98,5 ± 0,2	88,3 ± 0,2	88,5 ± 0,1	98,5 ± 0,2	47,3 ± 0,1
N	93,4 ± 0,3	96,0 ± 0,1	99,1 ± 0,3	95,5 ± 0,1	65,5 ± 0,2
A	96,0 ± 0,1	98,1 ± 0,1	96,4 ± 0,3	98,8 ± 0,3	55,0 ± 0,2
H	99,1 ± 0,1	97,9 ± 0,1	96,3 ± 0,4	99,1 ± 0,1	66,7 ± 0,1
K	98,9 ± 0,2	96,7 ± 0,2	96,7 ± 0,1	99,2 ± 0,1	88,0 ± 0,2
W	99,3 ± 0,1	96,4 ± 0,2	98,1 ± 0,4	99,8 ± 0,1	53,3 ± 0,3
Wi	81,8 ± 0,1	45,3 ± 0,7	98,9 ± 0,3	99,7 ± 0,1	53,6 ± 0,1

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka ($n = 3$).

V tabulce 15 jsou uvedeny procentuální hodnoty stravitelností makrobiogenních prvků – draslíku (K), vápníku (Ca), hořčíku (Mg), sodíku (Na) a fosforu (P) po enzymatické hydrolýze pepsinem. Z dat zde uvedených vyplývá, že stravitelnost všech stanovovaných makrobiogenních prvků se pohybovala většinou nad hranicí 90 % s výjimkou fosforu, jehož stravitelnost byla v průměru 59 %. Stravitelnost makrobiogenních prvků byla obecně u všech druhů vyšetřovaných řas vysoká a pohybovala se v případě draslíku (K) od 81,8 % (Wi; *Undaria pinnatifida*) do 99,3 % (W; *Undaria pinnatifida*), v případě vápníku (Ca) od 45,3 % (Wi; *Undaria pinnatifida*) do 98,1 % (A; *Eisenia bicyclis*), v případě hořčíku (Mg) od 88,5 % (D; *Palmaria palmata*) do 99,1 % (N; *Porphyra tenera*), v případě sodíku (Na) od 95,2 % (C; *Chlorella*

pyrenoidosa) do 99,8 % (W; *Undaria pinnatifida*) a v případě fosforu (P) od 47,3 % (D; *Palmaria palmata*) do 88,0 % (K; *Laminaria japonica*).

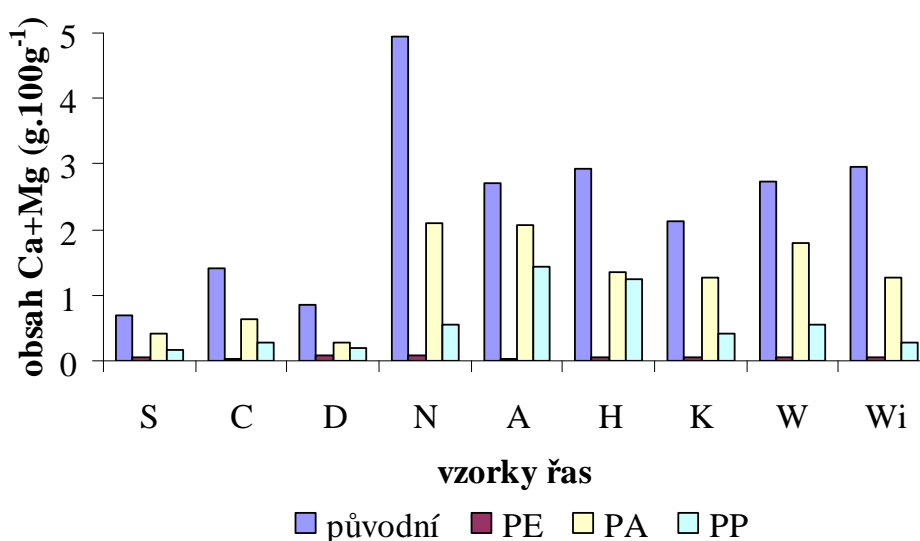
Tabulka 16: Stravitelnost makrobiogenních prvků – Ca, Mg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem a kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

Vzorek	Ca	Mg	Ca	Mg
	Stravitelnost po hydrolýze pankreatinem (%)		Stravitelnost po hydrolýze pepsinem a pankreatinem (%)	
S	25,9 ± 0,7	23,1 ± 0,4	62,8 ± 0,5	88,5 ± 0,7
C	46,5 ± 0,2	67,5 ± 0,7	73,7 ± 0,4	90,0 ± 0,7
D	56,7 ± 0,5	80,8 ± 0,6	70,0 ± 0,6	80,8 ± 0,6
N	36,9 ± 0,6	65,5 ± 0,6	65,1 ± 0,7	98,0 ± 0,5
A	10,2 ± 0,3	69,6 ± 0,5	35,3 ± 0,9	89,3 ± 0,6
H	47,5 ± 0,4	75,9 ± 0,8	50,4 ± 0,8	87,0 ± 0,5
K	33,3 ± 0,5	53,3 ± 0,3	73,2 ± 0,5	93,3 ± 0,8
W	13,7 ± 0,7	66,0 ± 0,4	69,0 ± 0,9	94,3 ± 0,6
Wi	50,2 ± 0,3	71,0 ± 0,5	87,2 ± 0,3	96,8 ± 0,4

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Tabulka 16 udává procentuální hodnoty stravitelností makrobiogenních prvků – vápníku (Ca) a hořčíku (Mg) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a následně pankreatinem. Stanovená množství zbylých makrobiogenních prvků (K, Na, P) zde nejsou uvedena, neboť jejich hodnoty byly zkresleny přítomností těchto prvků v pufrch použitých při enzymatické hydrolýze pankreatinem. Obecně lze říci, že u hořčíku byly zaznamenány vyšší hodnoty stravitelnosti (průměrně 64 %) než u vápníku (průměrně 36 %), kdy při hydrolýze pankreatinem byly dosaženy nejvyšší hodnoty stravitelnosti vápníku (Ca)

i hořčíku (Mg) u červené řasy *Palmaria palmata* (D; 56,7 %; 80,8 %). Nejnižší hodnota stravitelnosti vápníku (Ca) po hydrolýze pankreatinem byla zaznamenána u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A; 10,2 %), v případě hořčíku (Mg) to bylo u sinice *Spirulina platensis* (S; 23,1 %). Po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem se hodnoty stravitelnosti vápníku (Ca) pohybovaly od 35,3 % (A; *Eisenia bicyclis*) do 87,2 % (Wi; *Undaria pinnatifida*) a hodnoty stravitelnosti hořčíku (Mg) od 80,8 % (D; *Palmaria palmata*) do 98,0 % (N; *Porphyra tenera*).



Obrázek 14: Souhrnný obsah vápníku a hořčíku – Ca + Mg ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolýzou (původní), po hydrolýze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (PP).

Pro ilustraci je uveden graf (Obr. 14), kde je možno sledovat úbytek množství vápníku a hořčíku v $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ po enzymatické hydrolýze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem. Pro vytvoření grafu byly ze všech analyzovaných makrobiogenních prvků použity jen obsahy vápníku a hořčíku; množství ostatních makrobiogenních prvků (K, Na, P) nebylo možno použít z důvodu zmíněného výše, tj. zkrácení jejich hodnot přítomností těchto prvků v pufrch použitých při enzymatické

hydrolýze pankreatinem. Z grafu je patrné, že k největšímu úbytku obsahu vápníku a hořčíku ve vzorcích řas došlo po enzymatické hydrolýze pepsinem a naopak nejméně účinná byla hydrolýza pankreatinem.

4.5.2 Stravitelnost oligobiogenních prvků

U produktů ze sladkovodních a mořských řas byl sledován procentuální úbytek obsahu vybraných oligobiogenních prvků (mědi – Cu, železa – Fe, zinku – Zn, manganu – Mn) po enzymatické hydrolýze pepsinem (Tab. 17), pankreatinem (Tab. 18) a po kombinované hydrolýze pepsinem a následně pankreatinem (Tab. 19). Srovnání vlivu jednotlivých enzymatických hydrolýz na souhrnný obsah stanovených oligobiogenních prvků ve vzorcích řas je znázorněno na obrázku 15.

Tabulka 17: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.

Vzorek	Cu	Fe	Zn	Mn
	Stravitelnost po hydrolýze pepsinem (%)			
S	2,3 ± 0,1	17,0 ± 0,2	5,5 ± 0,1	79,4 ± 0,2
C	38,9 ± 0,2	71,8 ± 0,4	21,8 ± 0,3	94,9 ± 0,2
D	20,8 ± 0,1	37,8 ± 0,3	19,5 ± 0,2	50,0 ± 0,6
N	84,0 ± 0,1	44,0 ± 0,2	0,7 ± 0,1	98,6 ± 0,1
A	5,4 ± 0,1	51,5 ± 0,5	6,6 ± 0,1	62,5 ± 0,2
H	34,8 ± 0,2	14,8 ± 0,1	18,9 ± 0,3	65,9 ± 0,1
K	16,7 ± 0,3	66,5 ± 0,2	11,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2
W	19,2 ± 0,1	8,3 ± 0,1	26,2 ± 0,1	54,7 ± 0,2
Wi	22,0 ± 0,3	41,3 ± 0,3	45,1 ± 0,5	36,6 ± 0,4

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Nejvyšší stravitelnost ze všech stanovených oligobiogenních prvků (Tab. 17) vykazoval po hydrolyze pepsinem mangan (Mn), jehož stravitelnost se pohybovala od 2,7 % (K; *Laminaria japonica*) do 98,6 % (N; *Porphyra tenera*). Naproti tomu nejnižší hodnoty stravitelnosti byly zaznamenány u zinku (Zn), kde se pohybovaly od 0,7 % (N; *Porphyra tenera*) do 45,1 % (Wi; *Undaria pinnatifida*). Stravitelnost mědi (Cu) ve vzorcích řas se pak pohybovala od 2,3 % (S; *Spirulina platensis*) do 84,0 % (N; *Porphyra tenera*). Nejvyšší hodnota stravitelnosti železa (Fe) byla stanovena ve vzorku zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C; 71,8 %) a nejnižší pak ve vzorku hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (W; 8,3 %).

Tabulka 18: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolyze pankreatinem.

	Cu	Fe	Zn	Mn
Vzorek	Stravitelnost po hydrolyze pankreatinem (%)			
S	4,5 ± 0,2	43,9 ± 0,3	8,6 ± 0,7	70,0 ± 0,6
C	14,8 ± 0,2	34,3 ± 0,7	7,5 ± 0,6	79,5 ± 0,6
D	2,1 ± 0,1	32,3 ± 0,3	10,5 ± 0,4	6,4 ± 0,1
N	55,0 ± 0,5	31,2 ± 0,2	9,6 ± 0,3	79,5 ± 0,7
A	14,0 ± 0,3	28,5 ± 0,2	8,9 ± 0,3	5,9 ± 0,4
H	8,7 ± 0,1	37,2 ± 0,2	11,2 ± 0,2	52,4 ± 0,3
K	18,9 ± 0,3	17,4 ± 0,8	8,1 ± 0,8	5,2 ± 0,3
W	3,7 ± 0,1	23,9 ± 0,3	9,2 ± 0,5	5,6 ± 0,5
Wi	63,4 ± 0,5	10,1 ± 0,5	8,7 ± 0,3	6,4 ± 0,4

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Z výše uvedených oligobiogenních prvků byl po enzymatické hydrolyze pankreatinem (Tab. 18) nejméně stravitelný zinek (Zn), jehož hodnoty stravitelnosti se pohybovaly od 7,5 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 11,2 % (H;

Hizikia fusiformis), zatímco mangan (Mn) byl oligobiogenním prvkem s nejvyššími hodnotami stravitelnosti po hydrolýze pankreatinem, které byly v rozmezí od 5,2 % (K; *Laminaria japonica*) do 79,5 % (C; *Chlorella pyrenoidosa* a N; *Porphyra tenera*). Největší stravitelnost mědi byla po hydrolýze pankreatinem naměřena u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (Wi; 63,4 %) a nejnižší stravitelnost u červené řasy *Palmaria palmata* (D; 2,1 %). V případě železa byla největší stravitelnost stanovena u vzorku sinice *Spirulina platensis* (S; 43,9 %), nejnižší pak u hnědé řasy *Undaria pinnatifida* (Wi; 10,1 %).

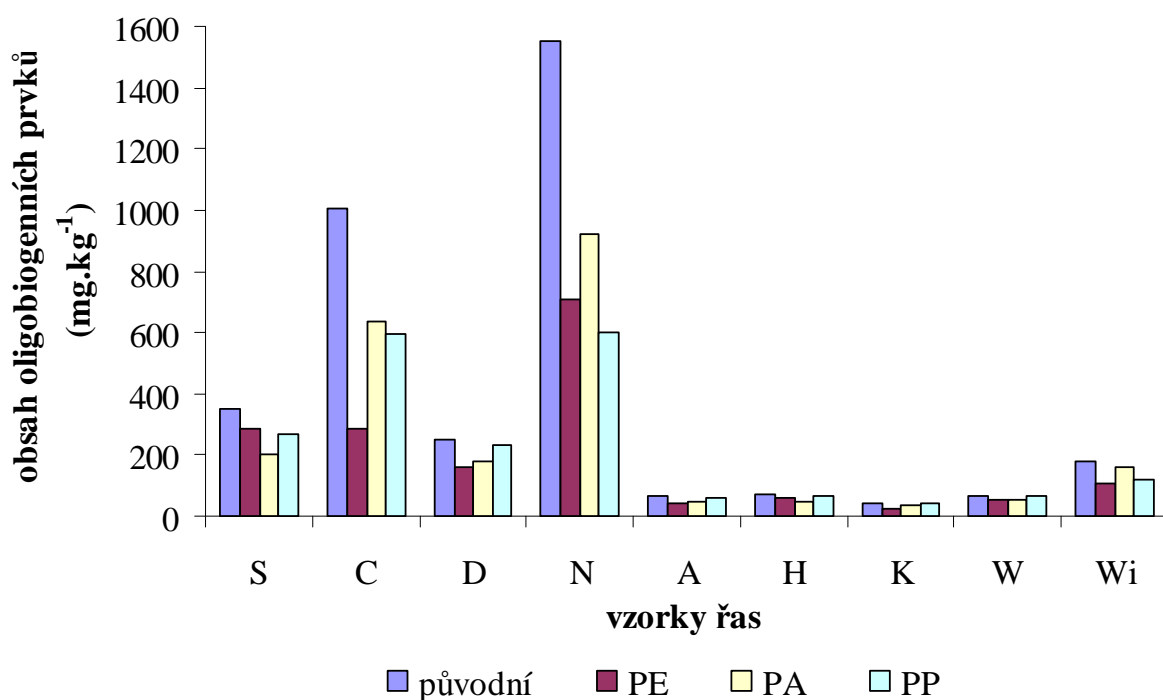
Tabulka 19: Stravitelnost oligobiogenních prvků – Cu, Fe, Zn, Mn (%) ve vzorcích řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

	Cu	Fe	Zn	Mn
Vzorek	Stravitelnost po hydrolýze pepsinem a pankreatinem (%)			
S	8,3 ± 0,5	21,6 ± 0,8	15,6 ± 0,2	77,8 ± 0,6
C	40,7 ± 0,8	38,2 ± 0,5	6,0 ± 0,4	93,7 ± 0,2
D	9,4 ± 0,3	6,5 ± 0,8	7,1 ± 0,5	36,3 ± 0,4
N	54,0 ± 0,9	53,0 ± 0,8	5,2 ± 0,4	98,2 ± 0,8
A	17,8 ± 0,4	4,6 ± 0,2	4,8 ± 0,3	7,9 ± 0,3
H	7,4 ± 0,3	5,8 ± 0,6	5,1 ± 0,1	58,5 ± 0,4
K	8,3 ± 0,2	4,4 ± 0,2	6,0 ± 0,2	5,6 ± 0,1
W	7,9 ± 0,2	5,7 ± 0,9	7,2 ± 0,1	20,3 ± 0,5
Wi	8,1 ± 0,2	30,2 ± 0,9	43,9 ± 0,7	21,1 ± 0,3

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Ze stanovených oligobiogenních prvků byl po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem (Tab. 19) nejlépe stravitelný mangan (Mn), hodnoty jeho stravitelnosti se pohybovaly od 5,6 % (K; *Laminaria japonica*)

do 98,2 % (N; *Porphyra tenera*). Nejnižší hodnoty stravitelnosti ze souboru stanovených oligobiogenních prvků byly zaznamenány u zinku (Zn), byly v rozmezí od 4,8 % (A; *Eisenia bicyclis*) do 43,9 % (Wi; *Undaria pinnatifida*). V případě mědi (Cu) byly nejvyšší hodnoty stravitelnosti stanoveny ve vzorku červené řasy *Porphyra tenera* (N; 54,0 %), nejnižší pak ve vzorku hnědé řasy *Hizikia fusiformis* (H; 7,4 %). U železa (Fe) se pak hodnoty stravitelnosti pohybovaly od 4,4 % (K; *Laminaria japonica*) do 53,0 % (N; *Porphyra tenera*).



Obrázek 15: Souhrnný obsah stanovených oligobiogenních prvků (mg.kg^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolyzou (původní), po hydrolyze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem (PP).

Pro lepší názornost vlivu enzymatické hydrolyzy na obsah oligobiogenních prvků ve vzorcích řas je uveden graf (Obr. 15), kde je možno sledovat úbytek souhrnného množství oligobiogenních prvků v mg.kg^{-1} po enzymatické hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem. Z grafu je zřejmé, že k největšímu úbytku obsahu

oligobiogenních prvků ve vzorcích řas ve většině případů došlo po enzymatické hydrolýze pepsinem. Obecně úbytek oligobiogenních prvků po enzymatické hydrolýze byl podstatně nižší oproti úbytku makrobiogenních prvků (Obr. 14 vs. Obr. 15), což mohlo být způsobeno zabudováním těchto oligobiogenních prvků do složitých a hůře hydrolyzovatelných komplexů.

Využitelnost minerálních látek je ovlivněna mnoha faktory, zejména pak skladbou přijímané stravy spolu s množstvím a formou látek, které mohou pozitivně nebo negativně ovlivnit míru vstřebatelnosti minerálních látek. Mezi látky negativně ovlivňující stravitelnost patří například vláknina, kyselina fytoová nebo fenolické látky, které vytvoří s minerální látkou silnou vazbu a sníží tak její využitelnost organismem [25].

4.5.3 Stravitelnost toxických prvků

Podobně jako u makrobiogenních a oligobiogenních prvků byla i stravitelnost toxických prvků stanovena jako procentuální úbytek jejich obsahu ve vzorcích řas po enzymové hydrolýze, nikoliv na základě mechanismu jejich toxikologického účinku. Konkrétně byla sledována stravitelnost vybraných toxických prvků – kadmia (Cd), olova (Pb) a rtuti (Hg) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas po enzymatické hydrolýze pepsinem (Tab. 20), pankreatinem (Tab. 21) a kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (Tab. 22). Bylo též provedeno srovnání účinnosti jednotlivých typů enzymatických hydrolýz na hodnoty obsahů stanovených toxických prvků (Obr. 16).

Nejvyšší stravitelnost po enzymatické hydrolýze pepsinem (Tab. 20) byla zjištěna u kadmia (Cd), kde se hodnoty pohybovaly od 14,3 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 99,3 % (K; *Laminaria japonica*), naproti tomu u rtuti (Hg) byly zjištěny nejnižší hodnoty stravitelnosti od 7,7 % (A; *Eisenia bicyclis*) do 46,5 % (K; *Laminaria japonica*). Stravitelnost olova (Pb) se pohybovala od 12,1 % (S; *Spirulina platensis*) do 57,4 % (Wi; *Undaria pinnatifida*).

Tabulka 20: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pepsinem.

Vzorek	Cd	Pb	Hg
	Stravitelnost po hydrolýze pepsinem (%)		
S	45,8 ± 0,7	12,1 ± 0,4	34,8 ± 0,3
C	14,3 ± 0,1	19,0 ± 0,4	13,3 ± 0,1
D	98,7 ± 0,8	53,8 ± 0,6	9,8 ± 0,1
N	93,4 ± 0,6	43,6 ± 0,6	15,4 ± 0,3
A	98,7 ± 0,5	48,5 ± 0,7	7,7 ± 0,2
H	98,7 ± 0,4	45,5 ± 0,6	35,1 ± 0,5
K	99,3 ± 0,5	33,7 ± 0,5	46,5 ± 0,6
W	95,9 ± 0,3	26,0 ± 0,4	34,6 ± 0,5
Wi	98,8 ± 0,6	57,4 ± 0,4	38,8 ± 0,2

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Hodnoty stravitelnosti vybraných toxických prvků – kadmia (Cd), olova (Pb) a rtuti (Hg) v produktech za sladkovodních a mořských řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem jsou uvedeny v tabulce 21. Z výše uvedených toxických prvků byly nejvyšší hodnoty stravitelnosti zaznamenány u kadmia (Cd), kde se pohybovaly od 22,2 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 98,0 % (D; *Palmaria palmata*), nejnižší pak u rtuti (Hg) s hodnotami v rozmezí od 2,9 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 70,2 % (K; *Laminaria japonica*). V případě olova (Pb) se stravitelnost pohybovala od 0,7 % (S; *Spirulina platensis*) do 55,9 % (Wi; *Undaria pinnatifida*).

Tabulka 21: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po enzymatické hydrolýze pankreatinem.

Vzorek	Cd	Pb	Hg
	Stravitelnost po hydrolýze pankreatinem (%)		
S	33,3 ± 0,4	0,7 ± 0,2	10,5 ± 0,2
C	22,2 ± 0,1	32,5 ± 0,5	2,9 ± 0,2
D	98,0 ± 0,8	35,2 ± 0,5	13,1 ± 0,3
N	59,9 ± 0,6	53,5 ± 0,7	13,3 ± 0,1
A	80,1 ± 0,3	14,9 ± 0,2	9,5 ± 0,2
H	87,0 ± 0,6	39,9 ± 0,2	28,0 ± 0,3
K	87,2 ± 0,4	25,2 ± 0,1	70,2 ± 0,6
W	88,8 ± 0,4	41,4 ± 0,3	63,5 ± 0,4
Wi	90,6 ± 0,7	55,9 ± 0,4	7,7 ± 0,1

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka ($n = 3$).

Procentuální hodnoty stravitelnosti toxických prvků – kadmia (Cd), olova (Pb) a rtuti (Hg) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem jsou uvedeny v tabulce 22.

Ze stanovených toxických prvků byly nejvyšší hodnoty stravitelnosti naměřeny u kadmia (Cd) a pohybovaly se od 1,2 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 98,0 % (D; *Palmaria palmata*). Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u rtuti (Hg) v rozmezí od 6,7 % (C; *Chlorella pyrenoidosa*) do 70,2 % (K; *Laminaria japonica*). Stravitelnost olova (Pb) se pohybovala v intervalu od 1,6 % (W; *Undaria pinnatifida*) do 71,7 % (Wi; *Undaria pinnatifida*).

Tabulka 22: Stravitelnost toxických prvků – Cd, Pb, Hg (%) ve vzorcích řas po kombinované enzymatické hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

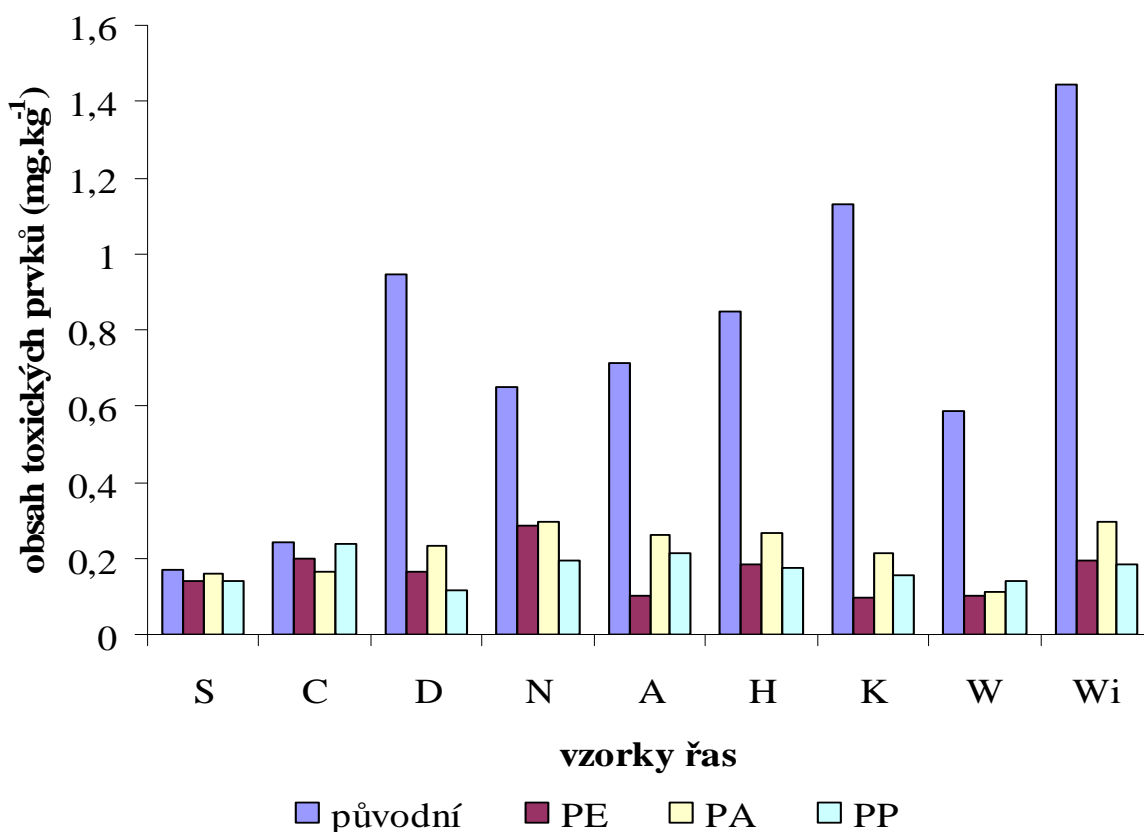
Vzorek	Cd	Pb	Hg
	Stravitelnost po hydrolýze pepsinem a pankreatinem (%)		
S	50,0 ± 0,4	11,6 ± 0,6	12,1 ± 0,2
C	1,2 ± 0,1	2,1 ± 0,3	6,7 ± 0,2
D	98,0 ± 0,7	70,6 ± 0,2	12,9 ± 0,2
N	81,4 ± 0,2	67,4 ± 0,3	23,5 ± 0,6
A	92,7 ± 0,3	1,8 ± 0,1	12,7 ± 0,4
H	93,6 ± 0,6	60,5 ± 0,4	22,0 ± 0,3
K	95,4 ± 0,3	1,7 ± 0,1	70,2 ± 0,3
W	94,6 ± 0,4	1,6 ± 0,2	8,8 ± 0,2
Wi	94,9 ± 0,8	71,7 ± 0,4	18,8 ± 0,2

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 3).

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že hodnoty stravitelnosti toxických prvků se mnohdy pohybovaly nad hranicí 90 %, což způsobuje problém především v případě kadmia (Cd), kdy jeho obsažené množství ve vzorcích řas ve více než polovině případů přesáhlo limit povolený francouzskou legislativou, u produktu z hnědé řasy Wakame instant (Wi; *Undaria pinnatifida*) dokonce více než dvojnásobně. Vzhledem k vysoké míře stravitelnosti (v tomto případě 94,9 % po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem) by mohlo dojít k zatížení organismu, přestože v průběhu vlastního procesu vstřebávání *in vivo* mohou působit ještě další faktory, např. pozitivní účinek vlákniny.

Z vysokého příjmu kadmia vyplývají zdravotní následky například v podobě dysfunkce ledvin, osteoporózy nebo poškození reprodukčních schopností vzniklé hromaděním kadmia v organismu [127]. Hromadění olova pak může například narušit syntézu hemoglobinu nebo omezit kognitivní vývoj a intelektuální schopnosti dětí [128]. Míra toxicity rtuti se odvíjí od její formy:

anorganické soli rtuti, které způsobují podráždění žaludku a poruchy ledvin, organické sloučeniny rtuti způsobující onemocnění nervové soustavy, a kovová rtuť, která může způsobovat třes, deprese a poruchy chování [129]. Jak už bylo zmíněno výše, neexistují v rámci České republiky ani Evropské unie žádná legislativní omezení pro obsah toxických prvků v řasách. Jednou z mála zemí, která má legislativně stanovené limity pro toxické prvky pro řasy určené ke konzumaci, je Francie. Vzhledem k vysokému obsahu kadmia a zároveň vysoké míře jeho stravitelnosti zjištěné měřením v rámci této disertační práce u produktů z řas, které jsou volně dostupné, a s ohledem na jeho negativní účinky na lidský organizmus, by bylo vhodné obdobné limity, které platí ve Francii, začlenit i do české legislativy.



Obrázek 16: Souhrnný obsah stanovených toxických prvků (mg.kg^{-1}) v produktech ze sladkovodních a mořských řas před hydrolýzou (původní), po hydrolýze pepsinem (PE), pankreatinem (PA) a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem (PP).

Na závěr této kapitoly je pro ilustraci na obrázku 16 uveden graf, kde lze pozorovat úbytek souhrnného množství analyzovaných toxických prvků v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ po enzymatické hydrolýze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem. Z grafu je patrné, že nelze jednoznačně určit, který typ enzymatické hydrolýzy měl největší vliv na snížení obsahu toxických prvků ve vzorcích řas. Účinek byl proměnlivý v závislosti na druhu řasy.

4.6 Sledování změn proteinových profilů po enzymatické hydrolýze

Pro sledování změn proteinových profilů vzorků sladkovodních a mořských řas po enzymatické hydrolýze byla použita metoda vertikální elektroforézy SDS–PAGE. Bylo postupováno dle metodiky uvedené v kapitole 3.5.

Izolace proteinů se zdařila pouze u vzorku zelené sladkovodní řasy *Chlorella pyrenoidosa* a sinice *Spirulina platensis*. V případě mořských řas byla izolace proteinů znemožněna a to patrně z důvodu silné vazby mezi proteiny a polysacharidy.

Problematická byla také následná enzymatická hydrolýza. Z důvodu kyselého prostředí, které je nutné pro působení enzymu pepsinu, nebylo možné provést SDS–PAGE bez předchozí neutralizace vzorku, která ale způsobila, že se proteinový profil nezdařil získat. Při enzymatické hydrolýze pankreatinem pak vyvstal problém v podobě příliš dominantního proteinového profilu samotného enzymu, který jak svou intenzitou tak množstvím bandů zcela překryl proteinový profil vzorků řas a tudíž nebylo možné sledovat jejich úbytek v průběhu enzymatické hydrolýzy.

Sledováním rozdílů pomocí SDS–PAGE mezi proteinovými profily čtyř druhů červených a zelených řas určených ke konzumaci za účelem jejich identifikace se zabývá studie [130, 131]. Publikované údaje o proteinovém

složení řas se však týkají pouze čerstvých vzorků řas. Ze zveřejněných studií vyplývá [130–132], že proteinové profily se liší nejen mezi jednotlivými druhy řas, ale mění se i v rámci jednoho druhu řasy v závislosti na době sběru vzorků. Hydrolýze červené řasy *Palmaria palmata* různými enzymy (trypsin, chymotrypsin, pronáza, lidská střevní šťáva) a následnému porovnání jednotlivých proteinových profilů pomocí SDS–PAGE s kaseinem, jakožto hojně využívaným referenčním proteinem v případě studia stravitelnosti, se věnuje publikace [126]. V rámci této studie bylo zjištěno, že stravitelnost proteinů řasy *Palmaria palmata* je nižší než v případě kaseinu, což je zřejmě způsobeno přítomností inhibitorů, pravděpodobně polysacharidů.

4.7 Stanovení polyfenolických látek

Polyfenolické látky byly stanoveny pomocí molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti jako celkové polyfenoly, zároveň byla zjišťována i množství jednotlivých vybraných polyfenolických látek pomocí RP–HPLC.

4.7.1 Stanovení polyfenolických látek metodou molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti

Vlastnímu stanovení celkových polyfenolických látek předcházela extrakce, kdy se z pěti různých způsobů (viz Tab. 5) zvolil ten, který poskytl největší výtěžnost celkových polyfenolů při následném stanovení UV/VIS spektrometrií. Přehled účinností jednotlivých extrakčních postupů je uveden v Tab. 23, hodnoty jsou uvedeny v mg.g⁻¹ GAE (ekvivalent kyseliny gallové).

Z Tab. 23 lze vyvodit, že nejúčinnějším typem extrakce byla pro většinu vzorků extrakce **(2)** (destilovaná voda), při níž došlo k vyextrahování největšího množství celkových polyfenolů. Výjimku tvořily řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) a *Undaria pinnatifida* (Wi), u nichž byla nejúčinnější extrakce **(3)** (100%

metanol), a řasa *Laminaria japonica* (K), u níž došlo k vyextrahování největšího množství celkových polyfenolů extrakcí (5) (80% metanol).

Po extrakci celkových polyfenolických látek s použitím nejúčinnější extrakční metody, tj. extrakce (2), a jejich následném stanovení molekulovou spektrometrií v UV/VIS oblasti bylo nejméně celkových polyfenolů (8,0 mg.g⁻¹ GAE; 8,6 mg.g⁻¹ GAE; 8,7 mg.g⁻¹ GAE) zaznamenáno u hnědých řas *Undaria pinnatifida* (Wi, W) a *Laminaria japonica* (K), zatímco jejich největší množství, až několikanásobně větší, bylo stanoveno v produktu z hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A; 192,6 mg.g⁻¹ GAE).

Tabulka 23: Závislost použité extrakční metody na množství stanovených celkových polyfenolů (mg.g⁻¹ GAE).

Vzorek	Typ extrakce*				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
	mg.g ⁻¹ GAE				
S	17,0 ± 0,5 ^{a,b}	43,2 ± 1,0 ^{a,b}	24,4 ± 0,2 ^a	18,4 ± 0,1 ^{a,b}	23,9 ± 0,1 ^b
C	13,2 ± 0,2 ^{a,b,c,d}	18,0 ± 0,2 ^{a,b}	25,8 ± 1,7 ^{a,b,c,d}	15,5 ± 0,1 ^{a,b}	16,8 ± 0,1 ^{c,d}
D	22,1 ± 0,7 ^a	31,8 ± 1,0 ^a	10,7 ± 0,3 ^a	25,0 ± 0,1 ^a	26,5 ± 0,4 ^a
N	16,2 ± 0,4 ^a	18,2 ± 0,6 ^{a,b}	4,7 ± 0,6 ^{a,b}	11,1 ± 0,1 ^{a,b}	15,1 ± 0,1 ^b
A	192,8 ± 0,8 ^a	192,6 ± 3,3 ^b	9,5 ± 0,5 ^{a,b}	84,1 ± 0,3 ^{a,b}	143,2 ± 9,5 ^{a,b}
H	26,9 ± 0,1 ^{a,b,c}	34,5 ± 5,8 ^{a,b,c}	6,0 ± 0,1 ^a	13,1 ± 0,1 ^b	9,5 ± 0,1 ^c
K	8,5 ± 0,3 ^a	8,7 ± 0,3 ^b	0,7 ± 0,1 ^{a,b,c}	8,8 ± 0,1 ^c	14,9 ± 0,1 ^{a,b,c}
W	3,7 ± 0,1 ^{a,b}	8,6 ± 0,4 ^{a,b}	1,3 ± 0,1 ^{a,b}	5,7 ± 0,1 ^a	5,9 ± 0,1 ^b
Wi	5,0 ± 0,1 ^{a,b}	8,0 ± 0,5 ^{a,c}	8,4 ± 0,2 ^{b,d}	4,6 ± 0,1 ^{c,d}	6,5 ± 0,1 ^{a,b,c}

* Typy extrakcí (1), (2), (3), (4), (5) jsou popsány v Tab. 5 v kapitole 3.6.1.

Hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (n = 4).

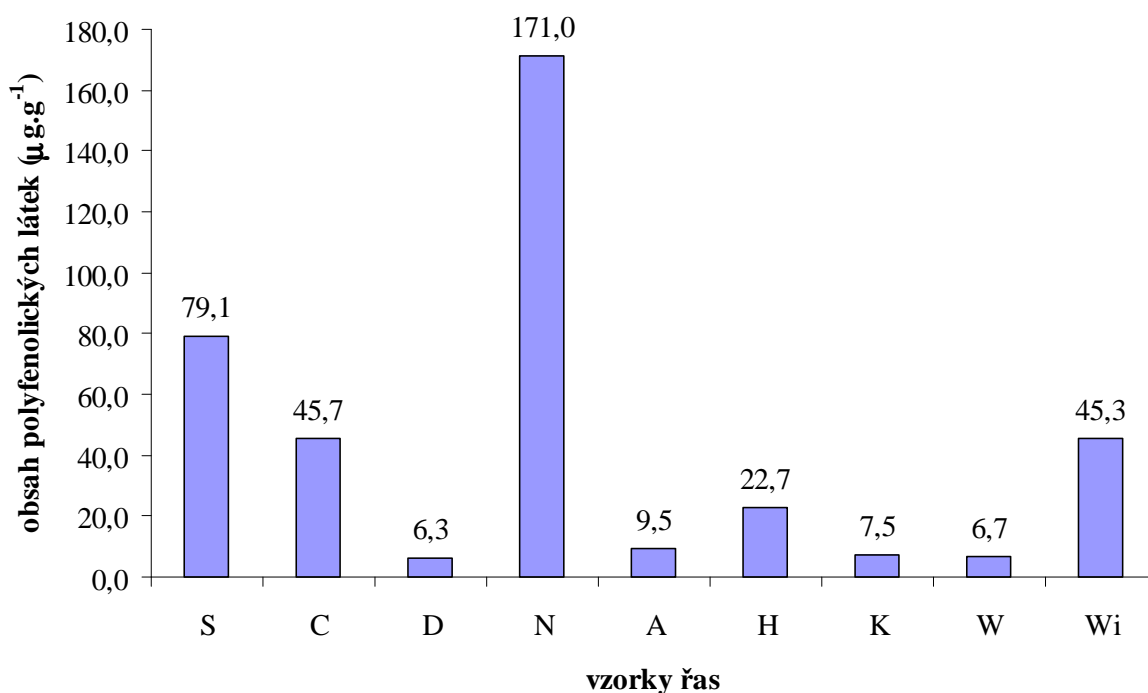
Hodnoty na stejném řádku sdílející totožný index jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$.

Obsah stanovených celkových fenolických látek u jednotlivých vzorků řas závisí na mnoha faktorech: na druhu řasy, lokalitě výskytu, ročním období, na podmínkách okolního prostředí i na metodě stanovení a druhu extrakčního činidla. Naměřené výsledky byly publikovány ve studii [43], ze které vyplývá, že jsou srovnatelné s obsahem fenolických látek v černém čaji a přesahují množství fenolických látek zjištěná v 223 druzích léčivých bylin [133], 62 druzích ovoce [134] a 56 druzích zeleniny [135]. I když naměřené hodnoty fenolických látek byly vysoké, nedosahují hodnot fenolických látek stanovených v kakau ($611 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ GAE) nebo červeném víně ($340 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ GAE), potravinách považovaných za přírodní zdroj fenolických látek.

4.7.2 Stanovení polyfenolických látek metodou RP–HPLC

Pro HPLC analýzu byla vybrána skupina polyfenolických látek, konkrétně kyselina gallová (GA), katechin (CAT), epikatechin (EC), katechingallát (CG), epikatechingallát (ECG), epigallokatechin (EGC), epigallokatechin gallát (EGCG), 4–hydroxybenzoová kyselina (4HBA) a pyrokatechol (PC), u nichž bylo sledováno, zda se ve vzorcích řas vyskytují, případně v jakém množství. Souhrnný obsah těchto látek vyskytujících se ve vzorcích řas je ilustrován na obrázku 17. Konkrétní výsledky stanovení jednotlivých polyfenolických látek jsou uvedeny v Tab. 24.

Z grafu na obrázku 17 vyplývá, že nejvyšší množství vybraných polyfenolických látek bylo detekováno ve vzorku červené řasy *Porphyra tenera* (N; $171 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), naproti tomu nejnižší množství bylo zaznamenáno u zástupce téhož druhu řasy, ve vzorku červené řasy *Palmaria palmata* (D; $6,3 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Zastoupení vybraných polyfenolických látek ve vzorcích hnědých řas (A – *Eisenia bicyclis*, H – *Hizikia fusiformis*, K – *Laminaria japonica*, W, Wi – *Undaria pinnatifida*) bylo nižší ($6,7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ – $45,3 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v porovnání se zástupci sladkovodních (S – *Spirulina platensis*, C – *Chlorella pyrenoidosa*) druhů ($79,1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; $45,7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).



Obrázek 17: Souhrnné obsahy stanovených polyfenolických látek (µg.g⁻¹) v produktech ze sladkovodních a mořských řas.

HPLC stanovení ukázalo (Tab. 24), že nejčastěji se vyskytujícími polyfenolickými látkami byli epikatechin (EC; 0,5 – 27,5 µg.g⁻¹ vzorku), epigallokatechin (EGC; 4,0 – 21,4 µg.g⁻¹ vzorku) a 4–hydroxybenzoová kyselina (4HBA; 1,6 – 20,5 µg.g⁻¹ vzorku). Nejméně často se vyskytoval pyrokatechol (PC), který byl detekován pouze u sinice *Spirulina platensis* (S) v množství 28,9 µg.g⁻¹ vzorku. Vzorek s největším zastoupením polyfenolických látek byla červená řasa *Porphyra tenera* (N), která obsahovala kyselinu gallovou (GA; 3,5 µg.g⁻¹ vzorku), katechin (CAT; 128,8 µg.g⁻¹ vzorku), epikatechin (EC; 16,4 µg.g⁻¹ vzorku), epikatechin gallát (ECG; 0,7 µg.g⁻¹ vzorku), epigallokatechin (EGC; 16,0 µg.g⁻¹ vzorku), epigallokatechin gallát (EGCG; 4,0 µg.g⁻¹ vzorku) a 4–hydroxybenzoovou kyselinu (4HBA; 1,6 µg.g⁻¹ vzorku).

Tabulka 24: Obsah vybraných polyfenolických látek v produktech z řas vyjádřený v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku.

Vzorek	Obsahy vybraných polyfenolických látek								
	GA	CAT	EC	CG	ECG	EGC	EGCG	4HBA	PC
	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$								
S	ND	$22,7 \pm 2,3$	$27,5 \pm 1,3$	ND	ND	ND	ND	ND	$28,9 \pm 0,6$
C	$5,0 \pm 0,2$	ND	ND	ND	ND	$20,2 \pm 0,7$	ND	$20,5 \pm 0,1$	ND
D	ND	ND	$0,5 \pm 0,1$	ND	ND	ND	ND	$5,8 \pm 0,1$	ND
N	$3,5 \pm 0,1$	$128,8 \pm 2,9$	$16,4 \pm 0,7$	ND	$0,7 \pm 0,2$	$16,0 \pm 0,5$	$4,0 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	ND
A	$2,8 \pm 0,1$	ND	$3,2 \pm 0,3$	$2,9 \pm 1,0$	ND	ND	$0,6 \pm 0,1$	ND	ND
H	$14,1 \pm 0,5$	ND	$8,2 \pm 0,1$	ND	ND	ND	$0,4 \pm 0,1$	ND	ND
K	ND	ND	$3,1 \pm 0,1$	ND	ND	$4,0 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1$	ND	ND
W	ND	ND	ND	ND	ND	$4,8 \pm 0,1$	ND	$1,9 \pm 0,1$	ND
Wi	ND	ND	$6,3 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,2$	ND	$21,4 \pm 0,1$	$7,5 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,1$	ND

GA – kyselina gallová, **CAT** – katechin, **EC** – epikatechin, **CG** – katechin gallát, **ECG** – epikatechin gallát, **EGC** – epigallokatechin, **EGCG** – epigallokatechin gallát, **4HBA** – 4–hydroxybenzoová kyselina, **PC** – pyrokatechol;

ND – nedetekováno

Naproti tomu v červené řase *Palmaria palmata* (D) bylo detekováno nejnižší množství polyfenolických látek, a to pouze epikatechin (EC; 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku) a 4–hydroxybenzoová kyselina (4HBA; 5,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku).

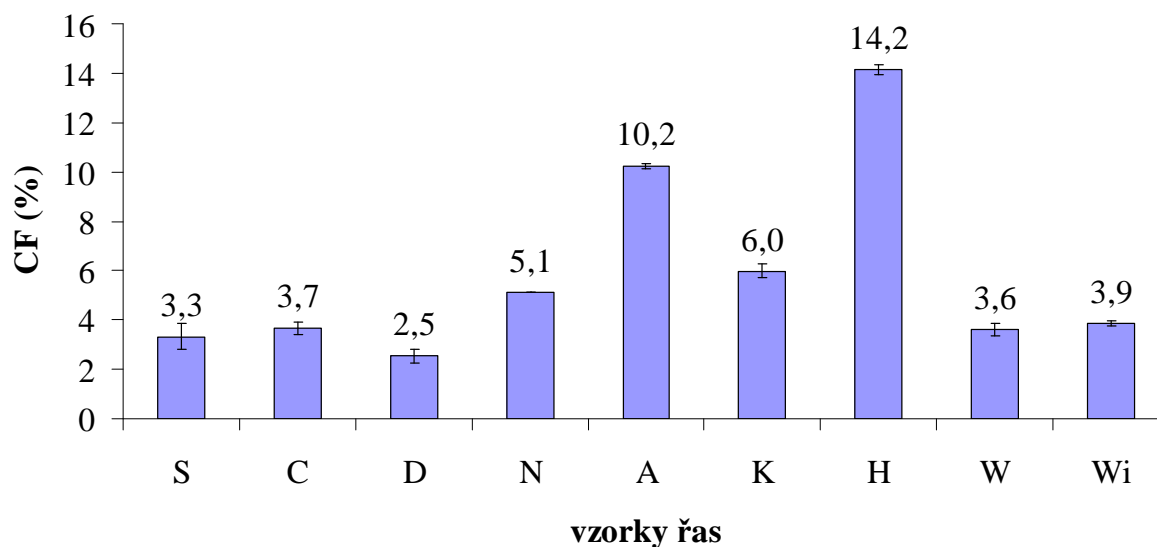
Naměřené hodnoty byly publikovány ve studii [43]. Vzhledem k tomu, že obsah polyfenolických látek závisí na mnoha faktorech (např. druh řasy, výskyt, růstové podmínky), se naměřené hodnoty lišily od hodnot publikovaných v jiných studiích, přičemž ve většině případů byly publikované hodnoty vyšší. Výjimku tvořil obsah kyseliny 4–hydroxybenzoové (4HBA) v červené řase *Porphyra tenera* (N) a v hnědé řase *Undaria pinnatifida* (W/Wi), který ve studii [37] činil jen 0,690 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (N) a 0,211 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (W/Wi), zatímco u řasy *Porphyra tenera* (N) byl v rámci této disertační práce naměřen obsah 1,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a u vzorků řas *Undaria pinnatifida* 1,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (W) a 8,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Wi).

4.8 Stanovení vlákniny

V rámci disertační práce byl stanoven obsah hrubé vlákniny (kapitola 4.8.1), neutrálně–detergentní vlákniny (kapitola 4.8.2) a acido–detergentní vlákniny (kapitola 4.8.3) gravimetrickou metodou s použitím přístroje ANKOM²²⁰ Fiber Analyzer. Navíc byl stanoven obsah pektinových látek (kapitola 4.8.4) molekulovou spektrometrií v UV/VIS oblasti.

4.8.1 Stanovení hrubé vlákniny

Hrubá vláknina (CF) v produktech ze sladkovodních a mořských řas byla stanovena dle metodiky uvedené v kapitole 3.7.1. Výsledky stanovení jsou zobrazeny na obrázku 18.

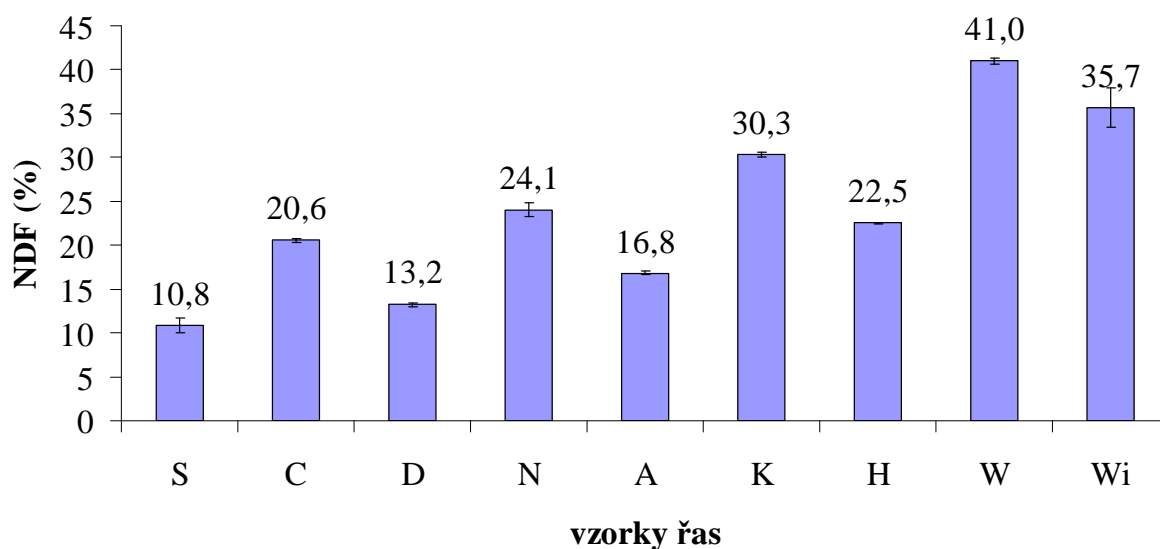


Obrázek 18: Obsah hrubé vlákniny – CF (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*).

Z výše uvedeného grafu je patrné, že nejvyšší hodnoty hrubé vlákniny byly naměřeny u vzorků hnědých řas *Hizikia fusiformis* (H; 14,2 %) a *Eisenia bicyclis* (A; 10,2 %). Naproti tomu u vzorku mořské červené řasy *Palmaria palmata* (D) byl zaznamenán nejnižší obsah hrubé vlákniny (2,5 %). Obsah hrubé vlákniny u ostatních vzorků řas se pohyboval v rozmezí od 3,3 % do 6,0 %.

4.8.2 Stanovení neutrálně–detergentní vlákniny

Obsah neutrálně–detergentní vlákniny (NDF) byl stanoven v produktech ze sladkovodních a mořských řas dle metodiky popsané v kapitole 3.7.2. Výsledky stanovení jsou názorně prezentovány na obrázku 19.

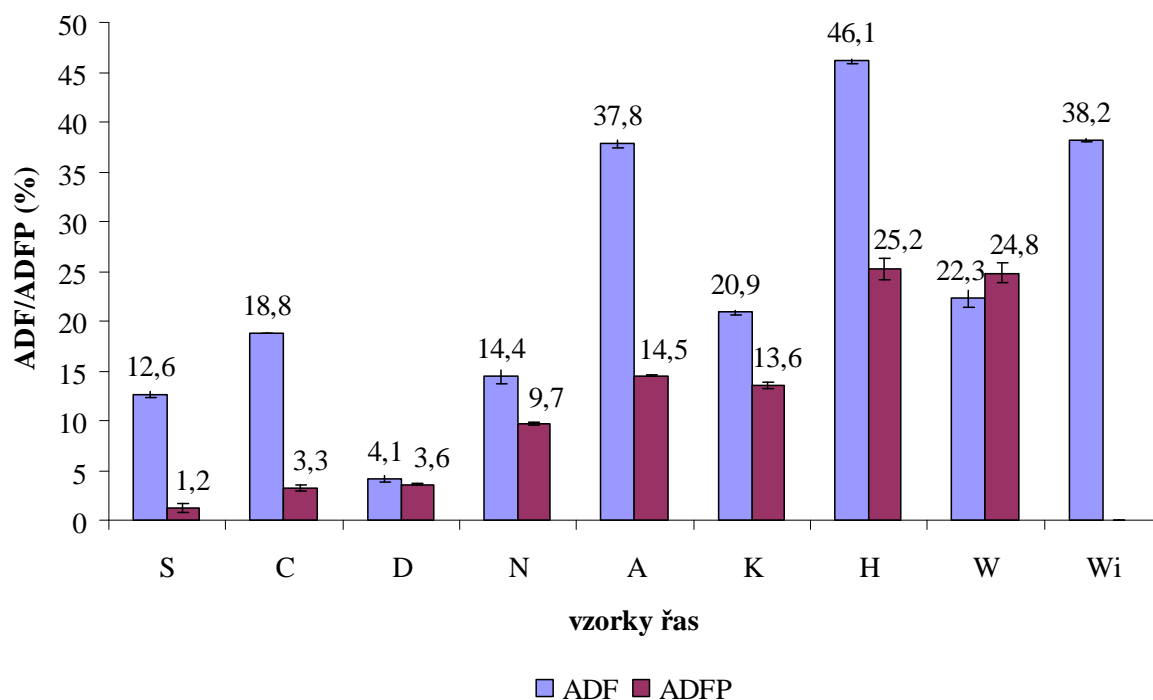


Obrázek 19: Obsah neutrálně–detergentní vlákniny – NDF (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*).

Obsah neutrálně–detergentní vlákniny se u vzorků řas pohyboval v rozmezí od 10,8 % do 41,0 %. Nejvyšší množství neutrálně–detergentní vlákniny bylo naměřeno u produktů vyrobených z hnědé mořské řasy *Undaria pinnatifida*, jmenovitě u produktů Wakame (W; 41,0 %) a Wakame instant (Wi; 35,7 %). Z grafu též vyplývá, že nejnižší množství neutrálně–detergentní vlákniny, zmiňovaných 10,8 %, bylo zaznamenáno u vzorku sinice *Spirulina platensis* (S).

4.8.3 Stanovení acido–detergentní vlákniny

Množství acido–detergentní vlákniny (ADF) i acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (ADFP) bylo stanoveno v produktech ze sladkovodních a mořských řas dle metodik uvedených v kapitolách 3.7.3 a 3.7.4. ADFP bylo stanoveno z důvodu nepřesné metody stanovení ADF, která je zatížena chybou v přítomnosti pektinových látek, které jsou v roztoku kyselého detergentu nerozpustné. Je proto nutné je před vlastním stanovením ze vzorků odstranit. Výsledky těchto stanovení jsou shrnuty na obrázku 20.



Obrázek 20: Obsah acido–detergentní vlákniny – ADF a acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek – ADFP (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*).

Hodnoty obsahu acido–detergentní vlákniny (ADF) u jednotlivých vzorků řas se dle obrázku 20 pohybovaly v širokém rozmezí od 4,1 % ve vzorku červené mořské řasy *Palmaria palmata* (D) do 46,1 % ve vzorku hnědé řasy *Hizikia fusiformis* (H). Užší rozmezí pak bylo zaznamenáno v případě hodnot acido–detergentní vlákniny bez pektinových látek (ADFP), kde se hodnoty pohybovaly od 1,2 % u sinice *Spirulina platensis* (S) do 25,2 % u hnědé řasy *Hizikia fusiformis* (H), přičemž obsah ADFP nebyl u produktu Wi z hnědé řasy *Undaria pinnatifida* stanoven.

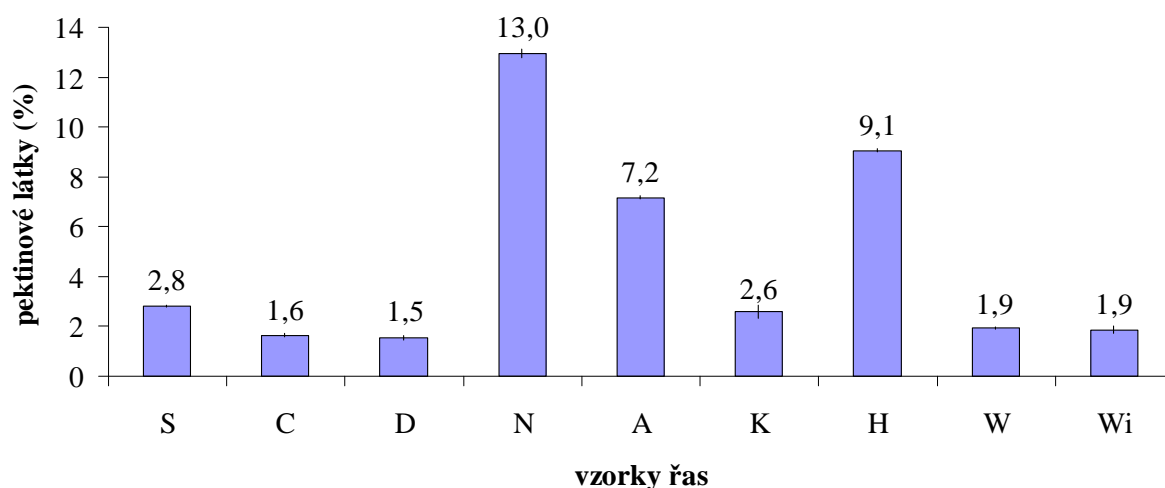
Naměřené výsledky byly až na drobné odchylky v souladu s hodnotami naměřenými v rámci studie [106], kdy byla použita totožná metoda stanovení a

obdobné vzorky řas. Na základě publikovaných údajů je zřejmé, že mořské řasy jsou dobrým zdrojem vlákniny [16, 136]. Ve vybraných vzorcích španělských řas určených ke konzumaci byl stanoven obsah vlákniny v rozmezí od 33,6 % do 50,0 % enzymaticko–gravimetrickou metodou AOAC, přičemž 19,6 % až 64,9 % z toho tvořila rozpustná vláknina. Rozpustná vláknina hnědých řas byla tvořena především uronovými kyselinami z alginátů a neutrálními cukry ze sulfátovaného fukoidanu a laminaranu, u červených řas pak sulfátovanými galaktany – karagenanem nebo agarem. Podíl nerozpustné vlákniny byl tvořen převážně celulórou a zbytky polysacharidů obsahující fukózu. Výjimku tvořila řasa Nori, u níž se vyskytovaly nejčastěji nerozpustné polysacharidy mannan a xylan [19]. Studie [17] uvádí obsah vlákniny v mořských řasách 25 % – 75 % sušiny. Studie [18] uvádí průměrné hodnoty vlákniny pro červené řasy 48,6 % a pro hnědé řasy 43,8 %. Pro srovnání přehledová studie [137] uvádí u luštěnin obsah vlákniny v rozmezí od 32,6 % do 36,8 %, z toho rozpustné vlákniny od 0,1 % do 0,5 %. Při posuzování rozdílných obsahů vlákniny je však nutné zohlednit použité metody stanovení a druh analyzovaných vzorků.

4.8.4 Stanovení pektinových látek

Stanovení obsahu pektinových látek v produktech ze sladkovodních a mořských řas bylo realizováno pomocí spektrofotometrického stanovení, přičemž bylo postupováno dle metodiky uvedené v kapitole 3.7.5.

Výsledky stanovení obsahu pektinových látek v produktech ze sladkovodních a mořských řas jsou uvedeny na obrázku 21.



Obrázek 21: Obsah pektinových látek (%) v produktech ze sladkovodních a mořských řas (S – *Spirulina platensis*; C – *Chlorella pyrenoidosa*; D – *Palmaria palmata*; N – *Porphyra tenera*; A – *Eisenia bicyclis*; K – *Laminaria japonica*; H – *Hizikia fusiformis*; W, Wi – *Undaria pinnatifida*) získaný spektrofotometrickým stanovením.

Z obrázku 21 je patrné, že obsah pektinových látek se v produktech ze sladkovodních a mořských řas pohyboval v rozmezí od 1,5 % do 13,0 %, přičemž nejvíce pektinových látek bylo naměřeno v červené řase *Porphyra tenera* (N), nejméně pak v červené řase *Palmaria palmata* (D).

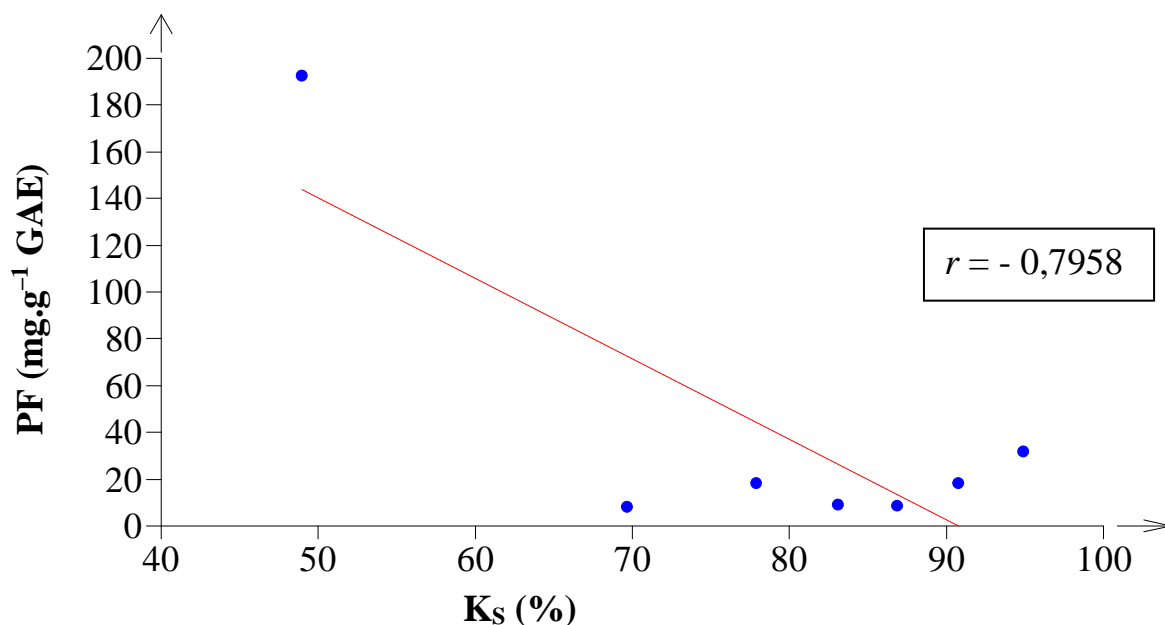
Pro srovnání lze uvést obsah pektinových látek v zelenině a ovoci, který není příliš vysoký, v ovocné dužině se pohybuje okolo 1 %. Větší množství pektinu se vyskytuje u ovoce např. v jablkách (0,5 – 1,6 % v čerstvé hmotě) a v zelenině např. v rajčatech (0,2 – 0,6 % v čerstvé hmotě) [138]. Vzhledem k tomu, že se pektiny uvolňují z komplexů polysacharidů tvořících buněčné stěny během procesu zrání a jsou tak součástí vlákniny, závisí jejich množství především na složení buněčné stěny řasy.

4.9 Zhodnocení vlivu různých faktorů na stravitelnost řas

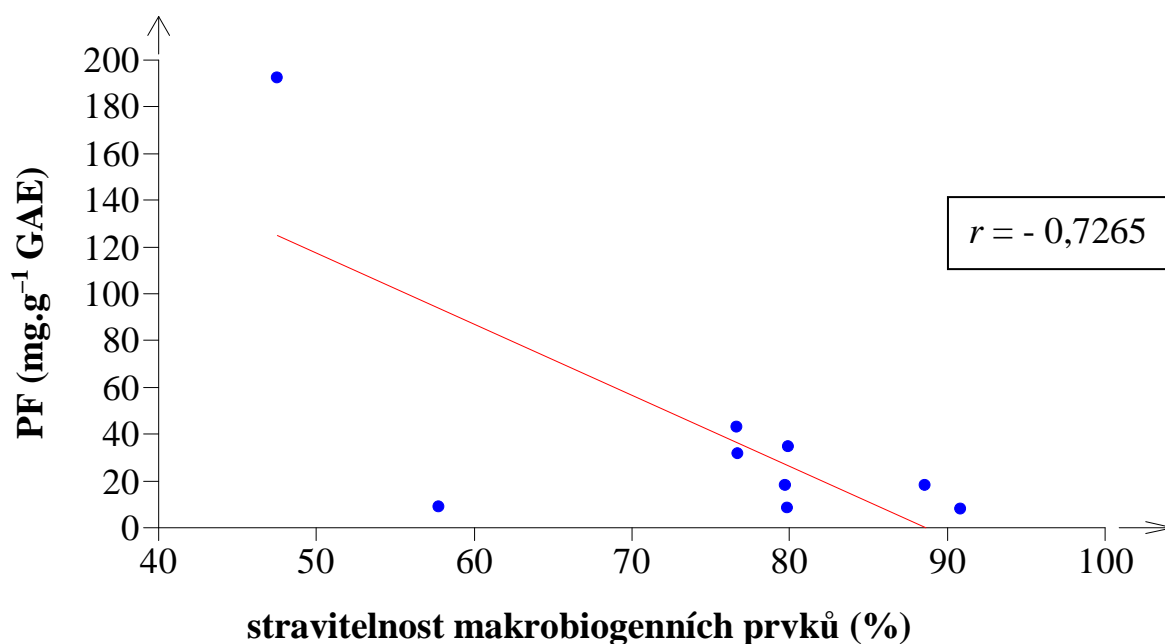
Pomocí Pearsonova korelačního koeficientu ($P < 0,05$) byla zhodnocena statistická závislost mezi faktory, které mohou ovlivnit stravitelnost řas (tj. obsah polyfenolických látek a obsah vlákniny včetně obsahu pektinových látek), a vlastními hodnotami stravitelností (tj. stravitelnost sušiny, stravitelnost organické hmoty, stravitelnost dusíkatých látek a stravitelnost makrobiogenních prvků, oligobiogenních prvků a toxických prvků). Korelační vztah bývá zpravidla zapříčiněn vzájemnými chemickými vazbami, které mohou významným způsobem ovlivnit hodnoty stravitelnosti. Na základě statistického vyhodnocení bylo zjištěno celkem osm statisticky průkazných korelací.

4.9.1 Vliv polyfenolických látek na hodnoty stravitelnosti

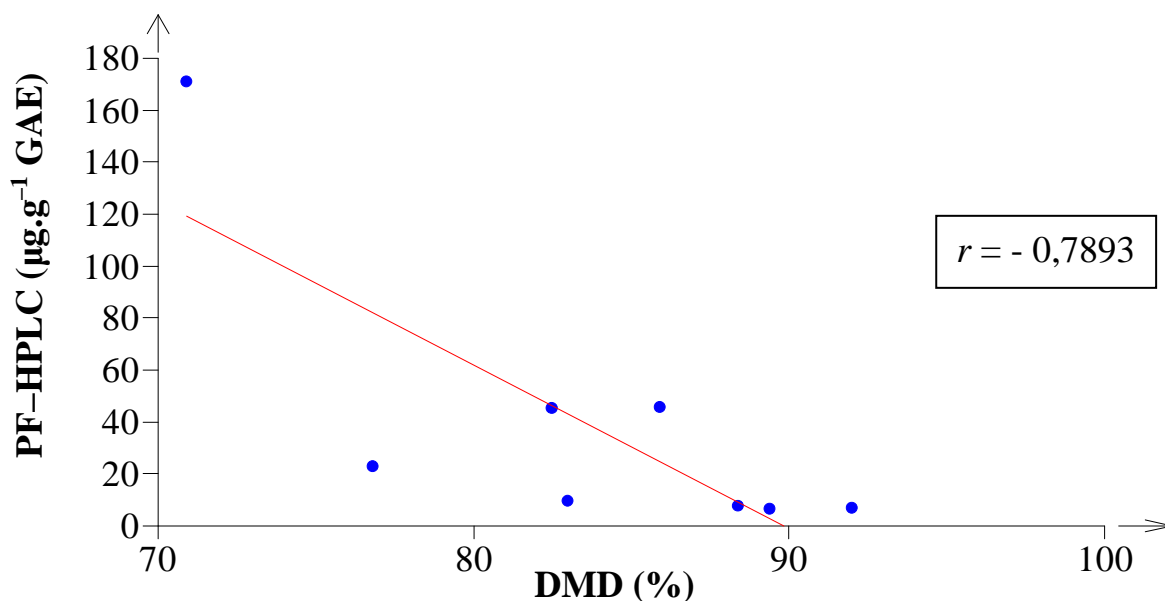
Statistickým vyhodnocením bylo zjištěno, že obsah polyfenolických látek stanovený spektrofotometricky i pomocí HPLC koreluje s hodnotami stravitelností. Konkrétně byl zjištěn statisticky průkazný korelační vztah mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF) a stravitelností dusíkatých látek (K_S) ($r = -0,7958$) viz Obr. 22 a vztah mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF) a stravitelností makrobiogenních prvků ($r = -0,7265$) viz Obr. 23. Korelační vztah ($r = -0,7893$) byl zjištěn i mezi obsahem polyfenolických látek stanovených HPLC (PF–HPLC) a stravitelností sušiny (DMD) viz Obr. 24, a vztah ($r = 0,8845$) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených HPLC (PF–HPLC) a stravitelností oligobiogenních prvků (Obr. 25). Mezi obsahem polyfenolických látek ve vzorcích řas a ostatními hodnotami stravitelností nebyl korelační vztah na hladině významnosti $P < 0,05$ statisticky prokázán.



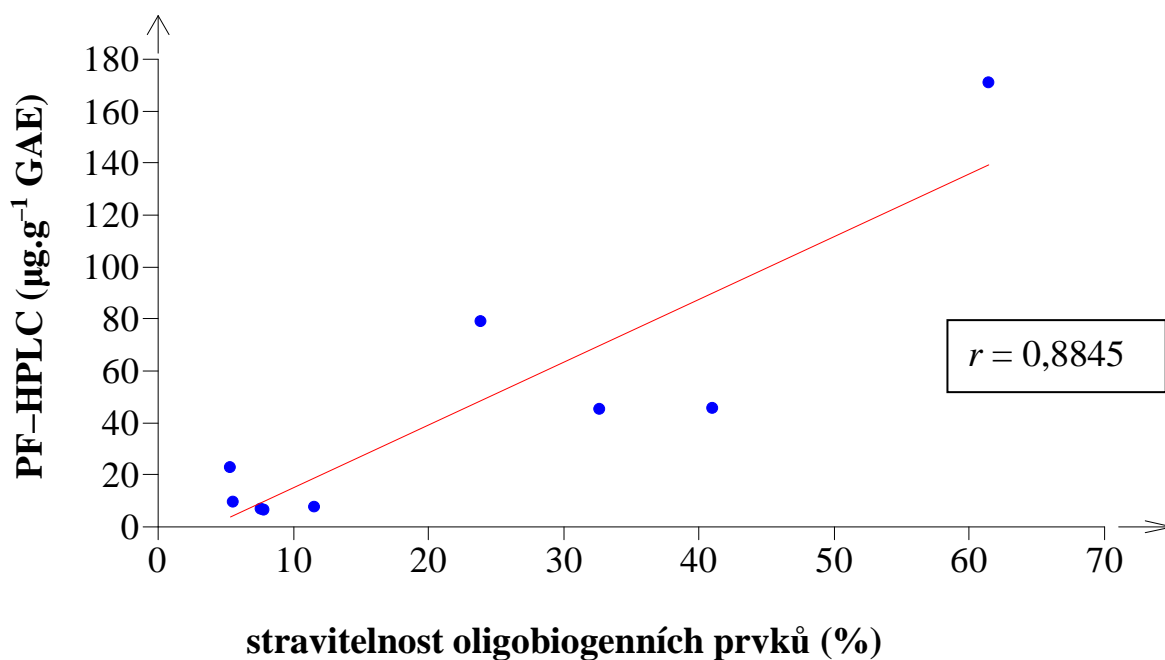
Obrázek 22: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF; mg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (K_s; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



Obrázek 23: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených spektrofotometricky (PF; mg.g⁻¹ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností makrobiogenních prvků (%) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



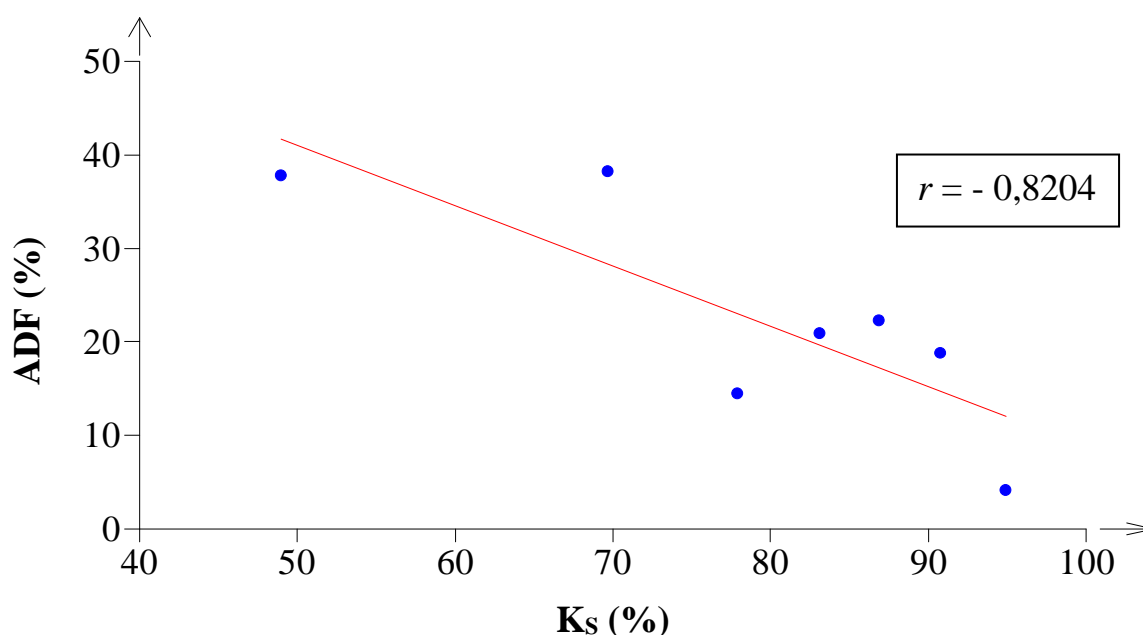
Obrázek 24: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených metodou HPLC (PF-HPLC; $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (DMD; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



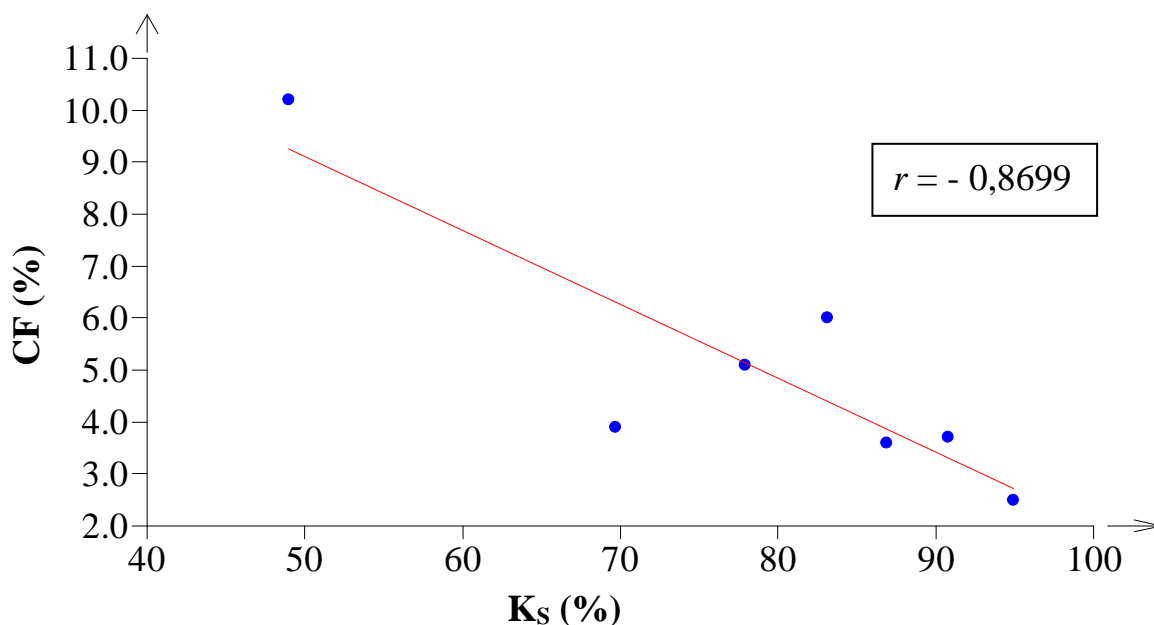
Obrázek 25: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem polyfenolických látek stanovených metodou HPLC (PF-HPLC; $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ GAE) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností oligobiogenních prvků (%) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).

4.9.2 Vliv vlákniny na hodnoty stravitelnosti

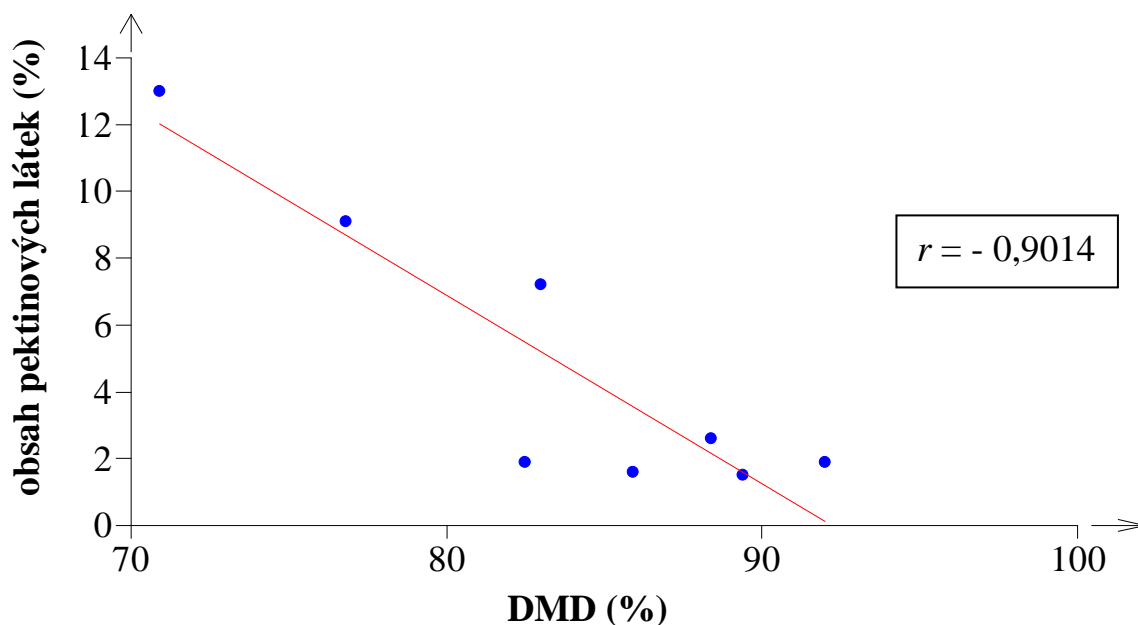
V případě vlivu vlákniny na hodnoty stravitelnosti byl zaznamenán korelační vztah ($r = -0,8204$) mezi množstvím acido–detergentní vlákniny (ADF) a stravitelností dusíkatých látek (K_S) (Obr. 26) a vztah ($r = -0,8699$) mezi obsahem hrubé vlákniny (CF) a stravitelností dusíkatých látek (K_S) ve vzorcích řas viz Obr. 27. Korelační vztah byl zjištěn i mezi obsahem pektinových látek a hodnotami stravitelnosti sušiny (DMD) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas (Obr. 28) s hodnotou Pearsonova korelačního koeficientu $r = -0,9014$. Statisticky významný korelační vztah ($r = -0,7949$) byl zjištěn i mezi obsahem pektinových látek a hodnotami stravitelnosti organické hmoty (OMD) ve vzorcích řas (Obr. 29). Mezi obsahem pektinových látek a ostatními hodnotami stravitelnosti nebyl korelační vztah na hladině významnosti $P < 0,05$ statisticky prokázán.



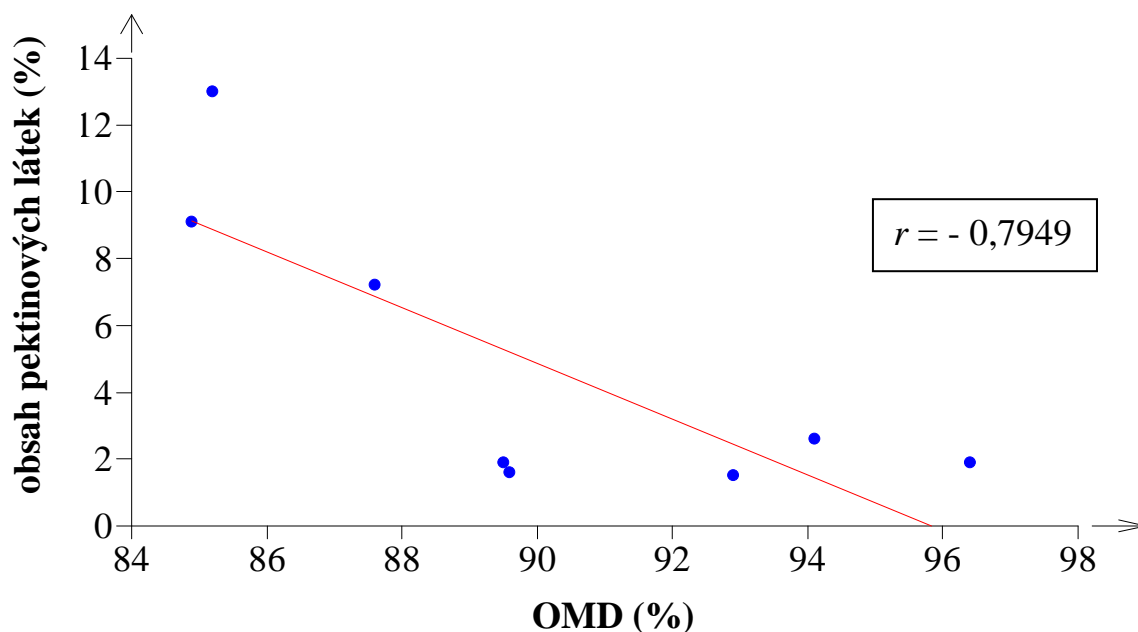
Obrázek 26: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem acido–detergentní vlákniny (ADF; %) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (K_S ; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



Obrázek 27: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem hrubé vlákniny (CF; %) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek (K_S; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



Obrázek 28: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem pektinových látek (%) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (DMD; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).



Obrázek 29: Grafické zobrazení a hodnota korelace (r) mezi obsahem pektinových látek (%) ve vzorcích sladkovodních a mořských řas a stravitelností sušiny (OMD; %) na hladině významnosti 5 % ($P < 0,05$).

Jak již bylo zmíněno v kapitole 1.5.2, stravitelnost je ovlivňována mnoha faktory, ať už endogenními nebo exogenními. Bylo zjištěno, že přidavek mořských řas do krmiva může měnit stravitelnost bílkovin a minerálních látek přítomných ve stravě, což dokazuje studie [136], která na krysách zkoumala využitelnost výživových složek krmiva, do něhož byly přidávány určité podíly mořských řas Nori a Wakame. Studií, které by se konkrétně zabývaly výzkumem vlivu různých faktorů na stravitelnost řas, je poměrně málo a zabývají se především vlivem přísadků řas na stravitelnost základních nutričních složek krmiva v souvislosti s jejich využitím v oblasti krmiv pro ryby [136].

Na základě statistického zhodnocení byly potvrzeny vztahy mezi hodnotami stravitelností a vybranými zkoumanými faktory ovlivňujícími stravitelnost i v rámci této disertační práce. Konkrétně se jednalo o vztah mezi obsahem pektinových látek a stravitelností sušiny a organické hmoty, dále mezi obsahem acido–detergentní a hrubé vlákniny a koeficientem stravitelnosti dusíkatých látek. Korelující byl i obsah polyfenolických látek s koeficientem stravitelnosti

dusíkatých látek, stravitelností sušiny i stravitelností makrobiogenních prvků a oligobiogenních prvků.

5 PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Je nesporné a mnoha studii potvrzené, že jak sladkovodní tak i mořské řasy jsou zdrojem bílkovin, esenciálních aminokyselin, vitaminů, chemických prvků a jiných zdraví prospěšných látek. Na základě provedených analýz však bylo zjištěno, že stravitelnost těchto látek u jednotlivých vzorků řas je velmi rozdílná a závislá na mnoha faktorech.

Metodiky pro stanovení stravitelnosti obecně nejsou příliš v praxi rozšířeny. Vzhledem k tomu, že produkty ze sladkovodních a mořských řas se i přes svou podobu s rostlinami jako typický rostlinný materiál nechovají, bylo nutné dostupné metodiky pro stanovení stravitelnosti modifikovat a optimalizovat tak, aby pomocí nich bylo stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas možné.

Přínos práce pro vědu:

- stanovené základní nutriční charakteristiky daly možnost srovnání s naměřenými hodnotami jiných autorů a tím přispěly ke specifikaci jednotlivých druhů řas;
- byla zjištěna značná variabilita hodnot stravitelností produktů ze sladkovodních a mořských řas i stravitelností jejich jednotlivých složek;
- byl zjištěn vliv doby hydrolýzy na hodnoty stravitelnosti sušiny a organické hmoty produktů z mořských a sladkovodních řas;
- byly stanoveny hodnoty obsahů polyfenolických látek a vlákniny včetně pektinových látek jakožto faktorů ovlivňujících stravitelnost;
- byly modifikovány a optimalizovány metodiky použité ke stanovení stravitelnosti produktů z mořských a sladkovodních řas i látek v nich obsažených;

- výsledky získané touto studií byly publikovány v mezinárodních odborných časopisech a prezentovány na českých i zahraničních konferencích;
- obecně mohou výsledky této práce přispět k lepší charakteristice produktů ze sladkovodních a mořských řas po stránce nutriční, respektive využitelnosti látek přítomných v řasové biomase.

Přínos pro praxi:

- optimalizované metodiky přispějí ke snazšímu stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas i látek v nich obsažených;
- poznatky získané výzkumem stravitelnosti mohou být dále rozvíjeny za účelem vyvinutí technologických kroků v rámci zpracování řas šetrných k prospěšným látkám v nich obsažených a vedoucích ke zvýšení jejich hodnot stravitelnosti a využitelnosti;
- veškeré naměřené hodnoty představují fakta použitelná pro zvýšení informovanosti konzumentů produktů ze sladkovodních a mořských řas.

ZÁVĚR

Mnohé studie označují mořské a sladkovodní řasy jako zdroj bílkovin, minerálních látek, vlákniny, esenciálních mastných kyselin a jiných látek. Otázkou však zůstává, nakolik jsou tyto látky obsažené v řasách využitelné/stravitelné a tudíž lidskému organismu prospěšné. Nejen tímto problémem se zabývá tato disertační práce, která předkládá soubor metodik upravených pro stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas. Práce zároveň zkoumá vybrané exogenní faktory podílející se na ovlivnění hodnot stravitelnosti řas. Je pozorován vliv doby hydrolýzy a použitého hydrolyzačního činidla na hodnoty stravitelnosti a obsah vybraných látek obsažených v řasách, které mohou ovlivnit hodnoty stravitelnosti, a to obsah polyfenolických látek a obsah vlákniny včetně obsahu pektinových látek.

Teoretická část této práce nabízí stručnou charakteristiku řas určených ke konzumaci, popisuje jejich chemické složení a nutriční hodnotu se zaměřením na produkty z řas dostupných v České republice. Pozornost je věnována i fyziologickému procesu trávení základních živin, stravitelnosti, metodám jejího stanovení a základnímu přehledu faktorů ovlivňujících stravitelnost. Další část je věnována popisu použitých metodik zvolených v návaznosti na stanovené cíle práce.

Experimentální část přináší výsledky získané plněním zadaných cílů práce. Ze stanovení základních nutričních charakteristik byl významný obsah dusíkatých látek u vzorků sladkovodních řas, jenž několikanásobně převyšoval hodnoty vzorků mořských řas. Lze též vyzdvihnout obsah oligobiogenních prvků, hlavně železa, jehož obsah byl nejvyšší v produktu z červené mořské řasy Nori (*Porphyra tenera*). Na druhou stranu byl vysoký i obsah toxického prvku kadmia, kdy polovina zkoumaných vzorků překročila limit daný francouzskou legislativou, v jednom případě až dvojnásobně.

U hodnot stravitelnosti sušiny, organické hmoty a koeficientu stravitelnosti dusíkatých látek byl statisticky prokázán vliv doby hydrolýzy na hodnoty stravitelnosti při použití různých hydrolyzačních činidel. Nejúčinnější kombinací bylo použití kombinované hydrolýzy pepsinem a následně pankreatinem po dobu 24 hodin. Nejvyšší hodnoty stravitelnosti byly zpravidla zaznamenány u vzorku červené řasy Dulse (*Palmaria palmata*). Hodnoty stravitelnosti chemických prvků byly velmi proměnlivé, variabilita mezi jednotlivými vzorky řas byla pravděpodobně způsobena začleněním těchto prvků do různých struktur, jejichž povaha významně ovlivnila výsledné hodnoty stravitelnosti.

Dále byly analyzovány látky mající předpoklad ovlivnění hodnot stravitelnosti. Metodou molekulové spektrometrie v UV/VIS oblasti bylo stanoveno vysoké množství polyfenolických látek, především pak ve vzorku hnědé řasy Arame (*Eisenia bicyclis*), kdy množství polyfenolických látek v ní obsažených byl srovnatelný s obsahem polyfenolických látek v černém čaji. Vybrané konkrétní polyfenolické látky byly ve vzorcích řas stanoveny i metodou RP–HPLC.

Bylo stanoveno množství vlákniny ve vzorcích řas, jakožto další exogenní faktor ovlivňující hodnoty stravitelnosti. Ve vzorcích řas bylo zjištěno významné množství hrubé vlákniny, neutrálně–detergentní vlákniny a acido–detergentní vlákniny, přičemž nejvyšší hodnoty byly zpravidla zjištěny ve vzorcích hnědých řas. Spektrofotometricky byl stanoven i obsah pektinových látek, jejichž obsah v řasách byl vyšší než v mnohých druzích zeleniny a ovoce. Nejvyšší množství bylo zaznamenáno ve vzorku červené řasy Nori (*Porphyra tenera*).

Na závěr bylo provedeno statistické zhodnocení vlivu vybraných analyzovaných exogenních faktorů na hodnoty stravitelnosti pomocí korelací. Výsledky průkazně dokázaly vztahy mezi hodnotami stravitelností a vybranými zkoumanými faktory ovlivňujícími stravitelnost, kdy korelační vztah bývá

zpravidla zapříčiněn vzájemnými chemickými vazbami, které významným způsobem ovlivní hodnoty stravitelnosti.

Vzhledem k vlastnosti řas absorbovat chemické prvky, tudíž i toxické prvky, z prostředí a na základě výsledků poukazujících na nadlimitní množství toxických prvků obsažených v řasách, doporučila bych v zájmu ochrany zdraví konečného spotřebitele vyjmout produkty z řas z obecné legislativy o potravinách a zavést pro ně obdobné limity, jaké jsou platné například ve Francii.

I přes vysokou proměnlivost nutričního složení mezi jednotlivými vzorky sladkovodních a mořských řas, jež je podmíněna mnoha vnějšími i vnitřními vlivy, je možné na základě předchozích studií nutričního složení řas a stanovených vysokých hodnot stravitelnosti konzumaci řas doporučit.

LITERATURA

- [1] MCHUGH, Dennis J. *A guide to the seaweed industry*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003, 105 s. ISBN 9251049580.
- [2] MACARTAIN, Paul, Christopher I. R. GILL, Mariel BROOKS, Ross CAMPBELL a Ian R. ROWLAND. Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutrition Reviews*. 2007, **65**(12): 535–543. ISSN 0029–6643.
- [3] BARSANTI, Laura a Paolo GUALTIERI. *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2006, 301 s. ISBN 0849314674.
- [4] PEREIRA, Leonel. A Review of the Nutrient Composition of Selected Edible Seaweeds. In: POMIN, Vitor H. *Seaweed: ecology, nutrient composition and medicinal uses*. Hauppauge, N.Y.: Nova Science, 2012, xiii, 248 p. ISBN 9781614708780.
- [5] VONSHAK, Avigad. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell–biology and Biotechnology*. London: Taylor&Francis, 1997, p. 233. ISBN 0–7484–0674–3.
- [6] LEY, B. M. *Chlorella: The Ultimate Green Food* [online]. Detroit Lakes: BL Publications, 2003 [cit. 2010–03–25]. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=98KYRjV4VQC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=&f=false>. ISBN 1–890766–28–3.
- [7] SHENG, Jianchun, Fang YU, Zhihong XIN, Liyan ZHAO, Xiaojun ZHU a Qiuhui HU. Preparation, identification and their antitumor activities in vitro of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa*. *Food Chemistry*. 2007, **105**(2): 533–539. ISSN 0308–8146.
- [8] BEWICKE, D. a B. A. POTTER. *Chlorella: The Emerald Food* [online]. Berkeley: Ronin Publishing, 1984 [cit. 2010–03–25]. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=dpYIVB9TBTAC&printsec=frontcover&dq=>

chlorella&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=&f=false>. ISBN 0-914171-02-X.

[9] SEAWEED INDUSTRY ASSOCIATION. A Spotlight on Arame (*Eisenia arborea* and *Eisenia bicyclis*). In: *Blogger* [online]. 2014-01-27 [cit. 2015-10-13]. Dostupné z: <https://seaweedindustry.com/community/blog/spotlight-aram-eisenia-arborea-and-eisenia-bicyclis>.

[10] BURTIN, Patricia. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 2003, **2**(4): 498-503. ISSN 1579-4377.

[11] IBAÑEZ, Elena a Alejandro CIFUENTES. Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013, **93**(4): 703-709, ISSN 0022-5142.

[12] MIŠURCOVÁ, Ladislava. Chemical Composition of Seaweeds. In: KIM, Se-Kwon, ed. *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*. Chichester: John Wiley & Sons, 2011, pp. 173-192. ISBN: 978-0-470-97918-1.

[13] EL GAMAL, Ali A. Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2010, **18**(1): 1-25. ISSN 1319-0164.

[14] GUPTA, Shilpi a Nissreen ABU-GHANNAM. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*. 2011, **22**(6): 315-326. ISSN 0924-2244.

[15] SMIT, Albertus J. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. *Journal of Applied Phycology*. 2004, **16**(4): 245-262. ISSN 0921-8971.

[16] ORTIZ, J., N. ROMERO, P. ROBERT, J. ARAYA, J. LOPEZ-HERNÁNDEZ, C. BOZZO, E. NAVARRETE, A. OSORIO a A. RIOS. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry*. 2006, **99**(1): 98-104. ISSN 0308-8146.

- [17] JIMÉNEZ-ESCRIG, A. a F. J. SÁNCHEZ-MUNIZ. Dietary fibre from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*. 2000, **20**(4): 585–598. ISSN 0271–5317.
- [18] DAWCZYNSKI, Christine, Rainer SCHUBERT a Gerhard JAHREIS. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*. 2007, **103**(3): 891–899. ISSN 0308–8146.
- [19] RUPÉREZ, Pilar a Fulgencio SAURA-CALIXTO. Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *European Food Research and Technology*. 2001, **212**(3): 349–354. ISSN 1438–2377.
- [20] RAMOS, Márcio Viana, Ana Cristina Oliveira MONTEIRO, Renato Azevedo MOREIRA a Ana De Fátima Fontenele Urano CARVALHO. Amino acid composition of some Brazilian seaweed species. *Journal of Food Biochemistry*. 2000, **24**(1): 33–39. ISSN 0145–8884.
- [21] NORZIAH, Mohd Hani a Chio Yen CHING. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chemistry*. 2000, **68**(1): 69–76. ISSN 0308–8146.
- [22] MATANJUN, Patricia, Suhaila MOHAMED, Noordin M. MUSTAPHA a Kharidah MUHAMMAD. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*. 2009, **21**(1): 75–80. ISSN 0921–8971.
- [23] MIŠURCOVÁ, Ladislava, Jarmila AMBROŽOVÁ a Dušan SAMEK. Seaweed Lipids as Nutraceuticals. In Se-Kwon Kim, editor: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 64, Burlington: Academic Press, 2011, pp. 339–355. ISBN 978–0–12–387669–0.
- [24] SÁNCHEZ-MACHADO, D. I., J. LÓPEZ-CERVANTES, J. LÓPEZ-HERNÁNDEZ a P. PASEIRO-LOSADA. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*. 2004, **85**(3): 439–444. ISSN 0308–8146.

- [25] MIŠURCOVÁ, Ladislava, Ludmila MACHŮ a Jana ORSAVOVÁ. Seaweed minerals as nutraceuticals. In: Se-Kwon Kim, editor: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 64. Burlington: Academic Press, 2011, pp. 371–390. ISBN 978–0–12–387669–0.
- [26] RUPÉREZ, P. Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry*. 2002, **79**(1): 23–26. ISSN 0308–8146.
- [27] SANTOSO, Joko, Satoko GUNJI, Yumiko YOSHIE–STARK a Takeshi SUZUKI. Mineral Contents of Indonesian Seaweeds and Mineral Solubility Affected by Basic Cooking. *Food Science and Technology Research*. 2006, **12**(1): 59–66. ISSN 1344–6606.
- [28] SUZUKI, Takeshi, Yumiko YOSHIE–STARK a Joko SANTOSO. Mineral Components and Anti–oxidant Activities of Tropical Seaweeds. *Journal of Ocean University of China*. 2005, **4**(3): 205–208. ISSN 1672–5182.
- [29] NORRIS, Earl R., Mary K. SIMEON a Hal B. WILLIAMS. The vitamin B and vitamin C content of marine algae. *The Journal of Nutrition*. 1937, **13**(4): 425–433. ISSN 0022–3166.
- [30] YAMADA, Shoji, Yoshie SHIBATA, Mitsue TAKAYAMA, Yuki NARITA, Kumiko SUGAWARA a Morimichi FUKUDA. Content and Characteristics of Vitamin B₁₂ in Some Seaweeds. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 1996, **42**(6): 497–505. ISSN 0301–4800.
- [31] BROWN, M. R., M. MULAR, I. MILLER, C. FARMER a C. TRENERRY. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*. 1999, **11**(3): 247–255. ISSN 0921–8971.
- [32] MIŠURCOVÁ, Ladislava, Soňa ŠKROVÁNKOVÁ, Dušan SAMEK, Jarmila AMBROŽOVÁ a Ludmila MACHŮ. Health Benefits of Algal Polysaccharides in Human Nutrition. In: Jeyakumar Henry, editor: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 66. Burlington: Academic Press, 2012, pp. 75–145. ISBN 978–0–12–394597–6.

- [33] MILLER, Ian J. Alginate composition of some New Zealand brown seaweeds. *Phytochemistry*. 1996, **41**(5): 1315–1317. ISSN 0031–9422.
- [34] MARINHO–SORIANO, E. a E. BOURRET. Polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta). *Bioresource Technology*. 2005, **96**(3): 379–382. ISSN 0960–8524.
- [35] KOIVIKKO, Riitta, Jyrki LOPONEN, Kalevi PIHLAJA a Veijo JORMALAINEN. High–performance Liquid Chromatographic Analysis of Phlorotannins from the Brown Alga *Fucus Vesiculosus*. *Phytochemical Analysis*. 2007, **18**(4): 326–332. ISSN 0958–0344.
- [36] LI, Yong–Xin, Isuru WIJESEKARA, Yong LI a Se–Kwon KIM. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*. 2011, **46**(12): 2219–2224. ISSN 1359–5113.
- [37] ONOFREJOVÁ, L., J. VAŠÍČKOVÁ, B. KLEJDUS, P. STRATIL, L. MIŠURCOVÁ, S. KRÁČMAR, J. KOPECKÝ a J. VACEK. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized–liquid and solid–phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2010, **51**(2): 464–470. ISSN 0731–7085.
- [38] PARYS, Sabine, Anne ROSENBAUM, Stefan KEHRAUS, Gerrit REHER, Karl–Werner GLOMBITZA a Gabriele M. KÖNIG. Evaluation of Quantitative Methods for the Determination of Polyphenols in Algal Extracts. *Journal of Natural Products*. 2007, **70**(12): 1865–1870. ISSN 0163–3864.
- [39] RODRÍGUEZ–BERNALDO DE QUIRÓS, A., M. A. LAGE–YUSTY a J. LÓPEZ–HERNÁNDEZ. Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. *Food Chemistry*. 2010, **121**(2): 634–638. ISSN 0308–8146.
- [40] KESAVA RAO, CH. a A. G. UNTAWALE. Polyphenols content of Indian seaweeds. *Mahasagar*. 1991, **24**(2): 99–102. ISSN 0542–0938.
- [41] SHIBATA, Toshiyuki, Yoichiro HAMA, Taiko MIYASAKI, Makoto ITO, a Takashi NAKAMURA. Extracellular secretion of phenolic substances from

living brown algae. *Journal of Applied Phycology*. 2006, **18**(6): 787–794. ISSN 0921–8971.

[42] YOSHIE, Yumiko, Wei WANG, David PETILLO a Takeshi SUZUKI. Distribution of catechins in Japanese seaweeds. *Fisheries Science*. 2000, **66**(5): 998–1000. ISSN 0919–9268.

[43] MACHU, Ludmila, Ladislava MISURCOVA, Jarmila VAVRA AMBROZOVA, Jana ORSAVOVA, Jiri MLCEK, Jiri SOCHOR a Tunde JURIKOVA. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*. 2015, **20**(1): 1118–1133. ISSN 1420–3049.

[44] GUSCHINA, Irina A. a John L. HARWOOD. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Progress in Lipid Research*. 2006, **45**(2): 160–186. ISSN 0163–7827.

[45] HARWOOD, John L. a Irina A. GUSCHINA. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie*. 2009, **91**(6): 679–684. ISSN 0300–9084.

[46] FALK–PETERSEN, S., J. R. SARGENT, J. HENDERSON, E. N. HEGSETH, H. HOP a Y. B. OKOLODKOV. Lipids and fatty acids in ice algae and phytoplankton from the Marginal Ice Zone in the Barents Sea. *Polar Biology*. 1998, **20**(1): 41–47. ISSN 0722–4060.

[47] ITO, Keiji a Kanji HORI. Seaweed; chemical composition and potential food uses. *Food Reviews International*. 1989, **5**(1): 101–144. ISSN 8755–9129.

[48] MARINHO–SORIANO, E., P. C. FONSECA, M. A. A. CARNEIRO a W. S. C. MOREIRA. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology*. 2006, **97**(18): 2402–2406. ISSN 0960–8524.

[49] NUMATA, Atsushi, Syoichi KANBARA, Chika TAKAHASHI, Ryoko FUJIKI, Michiko YONEDA, Eiichi FUJITA a Yasunobu NABESHIMA. Cytotoxic Activity of Marine Algae and a Cytotoxic Principle of the Brown Alga *Sargassum tortile*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1991, **39**(8): 2129–2131. ISSN 0009–2363.

- [50] KHANAVI, Mahnaz, Maryam NABAVI, Nargess SADATI, Mohammadreza Shams ARDEKANI, Jelve SOHRABIPOUR, Seyed Mohammad B. NABAVI, Padideh GHAEI a Seyed Nasser OSTAD. Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biological Research*. 2010, **43**(31): 31–37. ISSN 0716–9760.
- [51] ZUBIA, Mayalen, Marie–Sophie FABRE, Véronique KERJEAN a Eric DESLANDES. Antioxidant and cytotoxic activities of some red algae (Rhodophyta) from Brittany coasts (France). *Botanica Marina*. 2009, **52**(3): 268–277. ISSN 0006–8055.
- [52] HARADA, Hideki, Tadahide NORO a Yuto KAMEI. Selective Antitumor Activity *in Vitro* from Marine Algae from Japan Coasts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1997, **20**(5): 541–546. ISSN 0918–6158.
- [53] XU, Nianjun, Xiao FAN, Xiaojun YAN a C. K. TSENG. Screening marine algae from China for their antitumor activities. *Journal of Applied Phycology*. 2004, **16**(6): 451–456. ISSN 0921–8971.
- [54] ALEKSEYENKO, T. V., S. Ya. ZHANAYEVA, A. A. VENEDIKTOVA, T. N. ZVYAGINTSEVA, T. A. KUZNETSOVA, N. N. BESEDNOVA a T. A. KOROLENKO. Antitumor and Antimetastatic Activity of Fucoidan, a Sulfated Polysaccharide Isolated from the Okhotsk Sea *Fucus evanescens* Brown Alga. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007, **143**(6): 730–732. ISSN 0007–4888.
- [55] RODRÍGUEZ–BERNALDO DE QUIRÓS, A., S. FRECHA–FERREIRO, A. M. VIDAL–PÉREZ a J. LÓPEZ–HERNÁNDEZ. Antioxidant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research and Technology*. 2010, **231**(3): 495–498. ISSN 1438–2377.
- [56] ZUBIA, Mayalen, Daniel ROBLEDO a Yolanda FREILE–PELEGRIN. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*. 2007, **19**(5): 449–458. ISSN 0921–8971.

- [57] BALBOA, Elena M., Enma CONDE, Andres MOURE, Elena FALQUÉ a Herminia DOMÍNGUEZ. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*. 2013, **138**(2–3): 1764–1785. ISSN 0308–8146.
- [58] TASKIN, E., M. OZTURK, E. TASKIN a O. KURT. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*. 2007, **6**(24): 2746–2751. ISSN 1684–5315.
- [59] FREILE–PELEGRÍN, Yolanda a Juan Luis MORALES. Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. *Botanica Marina*. 2004, **47**(2): 140–146. ISSN 0006–8055.
- [60] KANDHASAMY, M. a K. D. ARUNACHALAM. Evaluation of *in vitro* antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*. 2008, **7**(12): 1958–1961. ISSN 1684–5315.
- [61] ZHENG, Yi, Yin–shan CHEN a Hai–sheng LU. Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 2001, **19**(4): 327–331. ISSN 0254–4059.
- [62] STIRK, Wendy A., Diana L. REINECKE a Johannes van STADEN. Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. 2007, **19**(3): 271–276. ISSN 0921–8971.
- [63] KHANZADA, Amina Kabir, Wazir SHAIKH, T. G. KAZI, Samina KABIR a Shahzadi SOOFIA. Antifungal activity, elemental analysis and determination of total protein of seaweed, *Solieria robusta* (Greville) Kylin from the coast of Karachi. *Pakistan Journal of Botany*. 2007, **39**(3): 931–937. ISSN 0556–3321.
- [64] KHAN, Mohammed N. A., Jae Suk CHOI, Min Chul LEE, Eliya KIM, Taek Jeong NAM, Hitoshi FUJII a Yong Ki HONG. Anti–inflammatory activities of methanol extracts from various seaweed species. *Journal of Environmental Biology*. 2008, **29**(4): 465–469. ISSN 0254–8704.

- [65] KAZŁOWSKA, Katarzyna, Todd HSU, Chia-Chung HOU, Wen-Chin YANG a Guo-Jane TSAI. Anti-inflammatory properties of phenolic compounds and crude extract from *Porphyra dentata*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010, **128**(1): 123–130. ISSN 0378–8741.
- [66] MARGRET, R. Jothibai, S. KUMARESAN a S. RAVIKUMAR. A preliminary study on the anti-inflammatory extract of *Ulva lactuca* in rat. *Journal of Environmental Biology*. 2009, **30**(5): 899–902. ISSN 0254–8704.
- [67] DAMONTE, Elsa B., María C. MATULEWICZ a Alberto S. CERESO. Sulfated Seaweed Polysaccharides as Antiviral Agents. *Current Medicinal Chemistry*. 2004, **11**(18): 2399–2419. ISSN 0929–8673.
- [68] PATTERSON, Gregory M. L. et al. Antiviral activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta). *Journal of Phycology*. 1993, **29**(1): 125–130. ISSN 0022–3646.
- [69] RICHARDS, James T., Earl R. KERN, Lowell A. GLASGOW, James C. OVERALL Jr, E. Frank DEIGN a Melvin T. HATCH. Antiviral Activity of Extracts from Marine Algae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1978, **14**(1): 24–30. ISSN 0066–4804.
- [70] LAHITOVÁ, N., M. DOUPOVCOVÁ, J. ZVONÁR, J. CHANDOGA a G. HOCCMAN. Antimutagenic Properties of Fresh-Water Blue-Green Algae. *Folia Microbiologica*. 1994, **39**(4): 301–303. ISSN 0015–5632.
- [71] OKAI, Yasuji, Kiyoka HIGASHI-OKAI, Yoshihisa YANO a Shuzo OTANI. Identification of antimutagenic substances in an extract of edible red alga, *Porphyra tenera* (Asadusa-nori). *Cancer Letters*. 1996, **100**(1–2): 235–240. ISSN 0304–3835.
- [72] CHO, Eun-Ju, Sook-Hee RHEE a Kun-Young PARK. Antimutagenic and Cancer Cell Growth Inhibitory Effects of Seaweeds. *Journal of Food Science and Nutrition*. 1997, **2**(4): 348–353. ISSN 1226–332X.
- [73] RAGHAVENDRAN, Hanumantha Rao Balaji, Arumugam SATHIVEL a Thiruvengadam DEVAKI. Hepatoprotective Nature of Seaweed Alcoholic

Extract on Acetaminophen Induced Hepatic Oxidative Stress. *Journal of Health Science*. 2004, **50**(1): 42–46. ISSN 1344–9702.

[74] ZHAO, Xue, Chang–Hu XUE, Zhao–Jie LI, Yue–Piao CAI, Hong–Ying LIU a Hong–Tao QI. Antioxidant and hepatoprotective activities of low molecular weight sulfated polysaccharide from *Laminaria japonica*. *Journal of Applied Phycology*. 2004, **16**(2): 111–115. ISSN 0921–8971.

[75] SPRYGIN, V. G., N. F. KUSHNEROVA, S. E. FOMENKO, L. A. SIZOVA a T. V. MOMOT. The Hepatoprotective Properties of an Extract from the Brown Alga *Saccharina japonica*. *Russian Journal of Marine Biology*. 2013, **39**(1): 65–69. ISSN 1063–0740.

[76] ZHANG, Quanbin, Zhien LI, Gefei ZHOU, Xizhen NIU a Hong ZHANG. Immunosuppressive Activities of Fucoidan from *Laminaria japonica*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 2003, **21**(4): 324–328. ISSN 0254–4059.

[77] LEE, Hyeon Ju, Hyeon Chang KIM, Libor VITEK a Chung Mo NAM. Algae Consumption and Risk of Type 2 Diabetes: Korean National Health and Nutrition Examination Survey in 2005. *Journal of nutritional Science and Vitaminology*. 2010, **56**(1): 13–18. ISSN 0301–4800.

[78] NWOSU, Felix, Jennifer MORRIS, Victoria A. LUND, Derek STEWART, Heather A. ROSS a Gordon J. MCDOUGALL. Anti–proliferative and potential anti–diabetic effects of phenolic–rich extracts from edible marine algae. *Food Chemistry*. 2011, **126**(3): 1006–1012. ISSN 0308–8146.

[79] IWAI, Kunihis. Antidiabetic and Antioxidant Effects of Polyphenols in Brown Alga *Ecklonia stolonifera* in Genetically Diabetic KK–A^y Mice. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2008, **63**(4), 163–169. ISSN 0921–9668.

[80] TIERNEY, Michelle S., Anna K. CROFT a Maria HAYES. A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina*. 2010, **53**(5): 387–408. ISSN 0006–8055.

[81] RATNASOORIYA, W. D., G. A. S. PREMAKUMARA a L. M. V. TILLEKERATNE. Hypotensive activity of crude extract of marine red algae,

Gracilaria sp. in rats. *Vidyodaya Journal of Science*. 1991, **3**(2): 35–39. ISSN 1391–1945.

[82]SUETSUNA, Kunio a Jiun–Rong CHEN. Identification of Antihypertensive Peptides from Peptic Digest of Two Microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Marine Biotechnology*. 2001, **3**(4): 305–309. ISSN 1436–2228.

[83]HRUŠKA, Michal. *Fyziologie živočichů a člověka*. 2. aktualizované vydání. Hradec Králové: MHL39, 2009, 573 s. Dostupné z: <http://biologie-psjg-hk-uhk.webnode.cz/news/hrujska-m-fyziologie-zivocichu-a-cloveka-i-a-ii-dil-verze-2009/>.

[84]MAROUNEK, Milan, Pavel BŘEZINA a Jan ŠIMŮNEK. *Fyziologie a hygiena výživy*. Vyškov: VVŠ PV Vyškov, 2003, 148 s. ISBN 80–7231–106–9.

[85]POKORNÝ, J. et al. *Přehled fyziologie člověka II. díl*. 3. přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2002, 255 s. ISBN 80–246–0229–6.

[86]WILHELM, Zdeněk. *Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy*. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2005, 115 s. ISBN 80–210–2837–8.

[87]JELÍNEK, Jan. *Biologie a fyziologie člověka a úvod do studia obecné genetiky*. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2003, 223 s. ISBN 80–7182–138–1.

[88]Trávicí soustava. In: *Anatomie lidského těla - obrázky* [online]. [cit. 2010-02-18]. Dostupné z: <http://anatomie-lidskeho-tela.kvalitne.cz/travici-soustava.html>.

[89]FOREJTOVÁ, J., F. LÁD, J. TŘINÁCTÝ, M. RICHTER, L. GRUBER, P. DOLEŽAL, P. HOMOLKA a L. PAVELEK. Comparison of organic matter digestibility determined by *in vivo* and *in vitro* methods. *Czech Journal of Animal Science*. 2005. **50**(1): 47–53. ISSN 1212–1819.

[90]MIŠURCOVÁ, Ladislava. Seaweed Digestibility and Methods Used for Digestibility Determination. In: KIM, Se–Kwon, ed. *Handbook of Marine*

Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. Chichester: John Wiley & Sons, 2011, pp. 285–301. ISBN 978–0–47–0979181.

[91] MACHŮ, Ludmila. *Vliv dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost*. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta, Ústav analýzy a chemie potravin.

[92] NÁMĚSTKOVÁ, Petra. *Stravitelnost organické hmoty a metody jejího stanovení*. [cit. 2013–05–03] Dostupné z :

http://www.eamos.cz/amos/koz/externi/koz_539/metody_stanoveni/organicke_hmoty.ppt

[93] GOSSELINK, J. M. J., J. P. DULPHY, C. PONCET, S. TAMMINGA a J. W. CONE. A comparison of *in situ* and *in vitro* methods to estimate *in vivo* fermentable organic matter of forages in ruminants. *NJAS–Wageningen Journal of Life Sciences*. 2004, **52**(1): 29–45. ISSN 1573–5214.

[94] TRĚNÁCTÝ, Jiří, Petr HOMOLKA, Ladislav ZEMAN a Michal RICHTER. Whole tract and post ruminal digestibility determined by *in situ* ruminal, intestinal mobile nylon bag and whole tract nylon capsule methods. *Animal Feed Science and Technology*. 2003, **106**(1–4): 59–67. ISSN 0377–8401.

[95] STERN, Marshall D., Alex BACH a Sergio CALSAMIGLIA. Alternative Techniques for Measuring Nutrient Digestion in Ruminants. *Journal of Animal Science*. 1997, **75**(8): 2256–2276. ISSN 0021–8812.

[96] HUR, Sun Jin, Beong Ou LIM, Eric A. DECKER a D. Julian MCCLEMENTS. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*. 2011, **125**(1): 1–12. ISSN 0308–8146.

[97] CLARKE, T., P. C. FLINN a A. A. MCGOWAN. Low-cost pepsin–cellulase assays for prediction of digestibility of herbage. *Grass and Forage Science*. 1982, **37**(2): 147–150. ISSN 0142–5242.

- [98] VAVRA, M. a J. L. HOLECHEK. Factors Influencing Microhistological Analysis of Herbivore Diets. *Journal of Range Management*. 1980, **33**(5): 371–374. ISSN 0022–409X.
- [99] PATRA, A. K., D. N. KAMRA a Neeta AGARWAL. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*. 2006, **128**(3–4): 276–291. ISSN 0377–8401.
- [100] TILLEY, J. M. A. a R. A. TERRY. A two–stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*. 1963, **18**(2): 104–111. ISSN 0142–5242.
- [101] MEYER, R. M., E. E. BARTLEY, F. JULIUS a L. R. FINA. Comparison of four *in vitro* methods for predicting *in vivo* digestibility of forages. *Journal of Animal Science*. 1971, **32**(5): 1030–1036. ISSN 0021–8812.
- [102] MABJEESH, S. J., M. COHEN a A. ARIELI. In Vitro Methods for Measuring the Dry Matter Digestibility of Ruminant Feedstuffs: Comparison of Methods and Inoculum Source. *Journal of Dairy Science*. 2000, **83**(10): 2289–2294. ISSN 0022–0302.
- [103] HOLDEN, L. A. Comparison of Methods of In Vitro Dry Matter Digestibility for Ten Feeds. *Journal of Dairy Science*. 1999, **82**(8), 1791–1794. ISSN 0022–0302.
- [104] MABEAU, Serge a Joël FLEURENCE. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*. 1993, **4**(4): 103–107. ISSN 0924–2244.
- [105] FLEURENCE, Joël. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 1999, **10**(1): 25–28. ISSN 0924–2244.
- [106] MIŠURCOVÁ, Ladislava, Stanislav KRÁČMAR, Bořivoj KLEJDUS a Jan VACEK. Nitrogen Content, Dietary Fiber, and Digestibility in Algal Food

Products. *Czech Journal of Food Science*. 2010, **28**(1): 27–35. ISSN 1212–1800.

[107] RUPÉREZ, Pilar a Gema TOLEDANO. Indigestible fraction of edible marine seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2003, **83**(12): 1267–1272. ISSN 0022–5142.

[108] GOÑI, Isabel, Montserrat GUDIÉL–URBANO a Fulgencio SAURA–CALIXTO. *In vitro* determination of digestible and unavailable protein in edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002, **82**(15): 1850–1854. ISSN 0022–5142.

[109] WONG, K. H. a Peter C. K. CHEUNG. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. *In vitro* protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food Chemistry*. 2001, **72**(1): 11–17. 0308–8146.

[110] MIŠURCOVÁ, Ladislava. *Nové nutriční aspekty a využití mořských a sladkovodních řas ve výživě člověka*. Zlín, 2008. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta.

[111] ČSN 46 7092–2. *Metody zkoušení krmiv: Část 2: Příprava vzorků ke zkoušení*. Český normalizační institut, Praha 1998.

[112] ČSN 46 7092–3. *Metody zkoušení krmiv: Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti*. Český normalizační institut, Praha 1998.

[113] ČSN 46 7092–9. *Metody zkoušení krmiv: Část 9: Stanovení obsahu popela*. Český normalizační institut, Praha 1998.

[114] ČSN 46 7092–4. *Metody zkoušení krmiv: Část 4: Stanovení dusíkatých látek (hrubého proteinu)*. Český normalizační institut, Praha 1998.

[115] JAVORSKÝ, P. et al. *Chemické rozborý v zemědělských laboratořích, I. Díl. 2. vyd.* České Budějovice: MZV ČSR, 1987, 399s.

[116] ZBÍRAL, J. *Analýza rostlinného materiálu, Jednotné pracovní postupy*. Brno: ÚKZÚZ, 1994.

- [117] MIŠURCOVÁ, Ladislava, Ivana STRATILOVÁ a Stanislav KRÁČMAR. Obsah minerálních látek ve vybraných produktech z mořských a sladkovodních řas. *Chemické listy*. 2009, **103**, 1027–1033. ISSN 1213–7103.
- [118] SZAROWSKÁ, Eva. *Hodnocení antioxidační aktivity vybraných aromatických rostlin*. Zlín, 2012. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta.
- [119] ROP, Otakar, Jiri MLCEK, Tunde JURIKOVA, Magdalena VALSIKOVA, Jiri SOCHOR, Vojtech REZNICEK a Daniela KRAMAROVA. Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010, **4**(22): 2431–2437. ISSN 1996–0875.
- [120] HEO, Soo–Jin, Seon–Heui CHA, Ki–Wan LEE a You–Jin JEON. Antioxidant Activities of Red Algae from Jeju Island. *Algae*. 2006, **21**(1): 149–156. ISSN 1226–2617.
- [121] WROLSTAD, Ronald E. et al. *Handbook of food analytical chemistry*. Chichester: Wiley & Sons, 2005, 1408 p. ISBN 978–0–471–72187–1.
- [122] DAWCZYNSKI, Christine, Ulrich SCHÄFER, Matthias LEITERER a Gerhard JAHREIS. Nutritional and Toxicological Importance of Macro, Trace, and Ultra–Trace Elements in Algae Food Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, **55**(25): 10470–10475. ISSN 0021–8561.
- [123] FLEURENCE, Joël a Catherine LE COEUR. Influence of mineralisation methods on the determination of the mineral content of the brown seaweed *Undaria pinnatifida* by atomic absorption spectrophotometry. *Hydrobiologia*. 1993, **260**(1): 531–534. ISSN 0018–8158.
- [124] VAN NETTEN, C., S. A. HOPTION CANN, D. R. MORLEY a J. P. VAN NETTEN. Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *The Science of the Total Environment*. 2000, **255**(1): 169–175. ISSN 0048–9697.

- [125] MACHŮ, Ludmila, Ladislava MIŠURCOVÁ, Dušan SAMEK, Jan HRABĚ a Miroslav FIŠERA. In vitro digestibility of different commercial edible algae products. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2014, **23**(5): 423–435. ISSN 1049–8850.
- [126] GALLAND-IRMOULI, Anne–Valérie, Joël FLEURENCE, Radia LAMGHARI, Michel LUCON, Catherine ROUXEL, Olivier BARBAROUX, Jean–Pierre BRONOWICKI, Christian VILLAUME a Jean–Louis GUÉANT. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). *Journal of Nutritional Biochemistry*. 1999, **10**(6): 353–359. ISSN 0955–2863.
- [127] GODT, Johannes, Franziska SCHEIDIG, Christian GROSSE–SIESTRUP, Vera ESCHE, Paul BRANDENBURG, Andrea REICH a David A. GRONEBERG. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2006, **1**(22): 1–6. ISSN 1745–6673.
- [128] MAHAFFEY, Kathryn R. Environmental Lead Toxicity: Nutrition As a Component of Intervention. *Environmental Health Perspectives*. 1990, **89**: 75–78. ISSN 0091–6765.
- [129] LANGFORD, N. J. a R. E. FERNER. Toxicity of mercury. *Journal of Human Hypertension*. 1999, **13**(10): 651–656. ISSN 0950–9240.
- [130] ROUXEL, Catherine, André DANIEL, Marc JÉRÔME, Monique ETIENNE a Joël FLEURENCE. Species identification by SDS–PAGE of red algae used as seafood or a food ingredient. *Food Chemistry*. 2001, **74**(3): 349–353. ISSN 0308–8146.
- [131] ROUXEL, Catherine, Eric BONNABEZE, André DANIEL, Marc JÉRÔME, Monique ETIENNE a Joël FLEURENCE. Identification by SDS PAGE of green seaweeds (*Ulva* and *Enteromorpha*) used in the food industry. *Journal of Applied Phycology*. 2001, **13**(3): 215–219. ISSN 0921–8971.
- [132] FLEURENCE, Joël, Estelle CHENARD a Michel LUCON. Determination of the nutritional value of proteins obtained from *Ulva*

armoricana. *Journal of Applied Phycology*. 1999, **11**(3): 231–239. ISSN 0921–8971.

[133] LI, Sha, Shu–Ke LI, Ren–You GAN, Feng–Lin SONG, Lei KUANG a Hua–Bin LI. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops and Products*. 2013, **51**: 289–298. ISSN 0926–6690.

[134] FU, Li, Bo–Tao XU, Xiang–Rong XU, Ren–You GAN, Yuan ZHANG, En–Qin XIA a Hua–Bin LI. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*. 2011, **129**(2): 345–350. ISSN 0308–8146.

[135] DENG, Gui–Fang, Xi LIN, Xiang–Rong XU, Li–Li GAO, Jie–Feng XIE a Hua–Bin LI. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods*. 2013, **5**(1): 260–266. ISSN 1756–4646.

[136] URBANO, Montserrat Gudiel a Isabel GOÑI. Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori (*Porphyra tenera*) and Wakame (*Undaria pinnatifida*), as a source of dietary fibre. *Food Chemistry*. 2002, **76**(3): 281–286. ISSN 0308–8146.

[137] LUNN, J. a J. L. BUTTRISS. Carbohydrates and dietary fibre. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*. 2007, **32**(1), 21–64. ISSN 1471–9827.

[138] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin: 1. 2. vyd.* Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80–86659–003.

SEZNAM PUBLIKACÍ

Publikace v databázi Web of Science:

MACHŮ, Ludmila, Ladislava MIŠURCOVÁ, Dušan SAMEK, Jan HRABĚ a Miroslav FIŠERA. In vitro digestibility of different commercial edible algae products. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2014, **23**(5): 423–435. ISSN 1049–8850.

MACHU, Ludmila, Ladislava MISURCOVA, Jarmila VAVRA AMBROZOVA, Jana ORSAVOVA, Jiri MLCEK, Jiri SOCHOR a Tunde JURIKOVA. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*. 2015, **20**(1): 1118–1133. ISSN 1420–3049.

MIŠURCOVÁ, Ladislava, František BUŇKA, Jarmila VÁVRA AMBROŽOVÁ, Ludmila MACHŮ, Dušan SAMEK a Stanislav KRÁČMAR. Amino Acid composition of Algal Products and Its Contribution to RDI. *Food Chemistry*. 2014, **151**: 120–125. ISSN 0308–8146.

VAVRA AMBROZOVA, Jarmila, Ladislava MISURCOVA, Robert VICHA, Ludmila MACHU, Dusan SAMEK, Mojmir BARON, Jiri MLCEK, Jiri SOCHOR a Tunde JURIKOVA. Influence of Extractive Solvents on Lipid and Fatty Acids Content of edible Freshwater Algal and Seaweed Products, the Green Microalga *Chlorella kessleri* and the Cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Molecules*. 2014, **19**(2): 2344–2360. ISSN 1420–3049.

SAMEK, Dušan, Ladislava MIŠURCOVÁ, Ludmila MACHŮ, Leona BUŇKOVÁ, Antonín MINAŘÍK a Miroslav FIŠERA. Whole-Cell Protein Profiles of Disintegrated Freshwater Green Algae and Cyanobacterium. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2016, **25**(1): 15–23. ISSN 1049–8850.

SAMEK, Dušan, Ladislava MIŠURCOVÁ, Ludmila MACHŮ, František BUŇKA a Miroslav FIŠERA. Influencing of amino acid composition of green freshwater algae and cyanobacterium by methods of cultivation. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2013, **38**(4): 360–368. ISSN 0250–4685.

MIŠURCOVÁ, Ladislava, Ludmila MACHŮ a Jana ORSAVOVÁ. Seaweed minerals as nutraceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2011, **64**(64): 371–390. ISSN 1043–4526.

MIŠURCOVÁ, Ladislava, Soňa ŠKROVÁNKOVÁ, Dušan SAMEK, Jarmila AMBROŽOVÁ a Ludmila MACHŮ. Health Benefits of Algal Polysaccharides in Human Nutrition. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2012, **66**: 75–145. ISSN 1043–4526.

ŠKROVÁNKOVÁ, Soňa, Ladislava MIŠURCOVÁ a Ludmila MACHŮ. Antioxidant Activity and Protecting Health Effects of Common Medicinal Plants. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2012, **67**: 75–139. ISSN 1043–4526.

Konferenční příspěvky:

MIŠURCOVÁ, Ladislava, Jiří MLČEK, Ludmila MACHŮ, Jarmila VÁVRA AMBROŽOVÁ a Hana FOJTÍKOVÁ. Inulin application as a soluble dietary fiber in the infant fruit formula. *XI. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou Bezpečnosť a kontrola potravín*, 27. – 28. 3.2014, Smolenice, Slovenská republika.

MACHŮ, Ludmila, Jarmila VÁVRA AMBROŽOVÁ, Ladislava MIŠURCOVÁ, Dušan SAMEK a Miroslav FIŠERA. Macroelements in

autotrophically cultivated *Chlorella* sp. and in Chlorella food supplement, and their contribution to DRIs. 54. pracovní konference České algologické společnosti, 16. – 18. 9. 2013, Třeboň, Česká republika.

MIŠURCOVÁ, Ladislava, Ludmila MACHŮ, Jarmila VÁVRA AMBROŽOVÁ, Dušan SAMEK a Miroslav FIŠERA. Algal polysaccharides and their function as dietary fiber. *Potravinarstvo: Scientific Journal for Food Industry*. 2013, 7(speciální číslo): 195–199. ISSN 1338–0230.

SAMEK, D., MIŠURCOVÁ, L., MACHŮ, L., VÁVRA AMBROŽOVÁ, J., and FIŠERA, M. Enzymatic and mechanical disruption method of algal cellulosic cell walls as a factor influencing their in vitro digestibility. *Potravinarstvo: Scientific Journal for Food Industry*. 2013, 7(speciální číslo): 214–217. ISSN 1338–0230.

Absolvované stáže a konference:

- algologická konference Chantransia 2012
(11. – 14. 10. 2012, Zelená Lhota u Nýrska)
- odborná stáž na LF Univerzity Palackého v Olomouci (září 2012)
- 54. pracovní konference České algologické společnosti
(16. – 18. 9. 2014, Třeboň)

Ocenění:

- ocenění na Interní konferenci studentů doktorského studia (1. 2. 2013)

CURRICULUM VITAE

OSOBNÍ ÚDAJE

<i>Jméno a příjmení:</i>	Ludmila Machů	<i>Státní příslušnost:</i>	Česká republika
<i>Datum narození:</i>	9. 4. 1986	<i>Národnost:</i>	česká
<i>Bydliště:</i>	Obchodní 586, 763 21 Slavičín	<i>Mobil. tel:</i>	+420 737 008 036
		<i>E-mail:</i>	lmachu@ft.utb.cz
<i>Místo narození:</i>	Zlín	<i>Rodinný stav:</i>	svobodná

VZDĚLÁNÍ

1997 – 2005	Gymnázium Jana Pivečky ve Slavičíně
2005 – 2008	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, obor Chemie a technologie potravin (bakalářské studium)
2008 – 2010	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, obor Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin (magisterské studium)
2010 – dosud	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, obor Technologie potravin (doktorské studium)

PRAXE

2014 – dosud	JACOBS DOUWE EGBERTS OPS CZ s.r.o. Mondeléz CR Coffee Production, Valašské Meziříčí <i>Specialista oddělení kontroly jakosti</i>
--------------	--

ŘEŠENÉ PROJEKTY

2011 IGA/22/FT/11/D

Optimalizace metodiky na stanovení vybraných nutričních faktorů mořských a sladkovodních řas (člen řešitelského týmu)

2012 IGA/FT/2012/038/D

Optimalizace metodiky na stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas (hlavní řešitel)

2013 IGA/FT/2013/017

Stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas (člen řešitelského týmu)

2014 IGA/FT/2014/011

Stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas (člen řešitelského týmu)

ZNALOSTI A DOVEDNOSTI

Jazyky: anglický jazyk – aktivní znalost na úrovni *upper intermediate*
německý jazyk – základní znalost

Certifikáty: interní auditor integrovaného systému řízení

Řidičské oprávnění: skupina B

Práce s PC:

OS Windows, MS Office (Word, Excel, PowerPoint), SAP,
statistický program QC Expert (TriloByte Statistical Software)