

Aplikace lišejníku islandského jako netradiční suroviny potravin

Bc. Adéla Petružiová

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Adéla Petrůjová**
Osobní číslo: **T18701**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Aplikace lišejníku islandského jako netradiční suroviny potravin**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. charakterizovat netradiční surovinu lišejník islandský a stručně shrnout jeho aplikace ve farmacii a potravinářství
2. popsat jeho chemické složení včetně biologicky aktivních látek

II. Experimentální část

1. připravit portfolio potravinářských výrobků obsahujících lišejník islandský a stanovit u nich vybrané jakostní znaky

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] GIORDANI, P., MINGANTI, V., BRIGNOLO, D., MALASPINA, P., CORNARA, L., DRAVA, D. 2017. Is there a risk of trace element contamination in herbal preparations? A test study on the lichen *Cetraria islandica*. *Chemosphere*. 2017 Aug;181: 778-785.
- [2] INGÓLFSDÓTTIR, K. 2000. Bioactive compounds from Iceland moss. *Bioactive Carbohydrate Polymers*. 2000: 25-36.
- [3] MELI, M., A., DESIDERI, D., CANTALUPPI, C., CECCOTTO, F., FEDUZI, L., ROSELLI, C. 2018. Elemental and radiological characterization of commercial *Cetraria islandica* (L.) Acharius pharmaceutical and food supplementation products. *Sci. Total Environ*. 2018 Feb 1; 613-614: 1566-1572.
- [4] XU, M., HEIDMARSSON, S., OLAFSDOTTIR, E., S., BUONGIGLIO, R., KOGEI, T., OMARSDOTTIR, S. 2016. Secondary metabolites from cetrarioid lichens: Chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential. *Phytomedicine*. 2016 May 15;23(5):441-459.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá aplikací lišejníku islandského (*Cetraria islandica*) do sušenek a müsli směsí. Sušenky a müsli směsi byly připraveny v různých variantách a z různých surovin. Následně byly vzorky podrobeny nutriční analýze, která zahrnovala stanovení obsahu vlhkosti, popela, lipidů, hrubé bílkoviny, škrobů, neutrálně-detergentní vlákniny, hrubé vlákniny a stravitelnosti. U sušenek se v porovnání se základní variantou snížil obsah škrobu, a naopak se zvýšil obsah vlákniny. U müsli směsí došlo ke zvýšení obsahu škrobů v porovnání s jinými bezlepkovými vzorky müsli směsí, které měli podobnou surovinovou skladbu.

Klíčová slova: Lišejník islandský, *Cetraria islandica*, sušenky, müsli směsi, nutriční analýza

ABSTRACT

The thesis deals with the application of Iceland moss (*Cetraria islandica*) to biscuit and muesli mixture. Biscuits and muesli mixtures were prepared in different variants and from different ingredients. Subsequently, the samples were subjected to nutritional analysis, which included determination of moisture content, ash content, lipid, crude protein, starch, neutral-detergent fiber, crude fiber and digestibility. Compared to the basic variant, the starch content of the biscuits decreased and, conversely, the fiber content increased. The starch content of the muesli mixtures increased compared to the other gluten-free samples of muesli mixtures that had a similar material composition.

Keywords: Icelandic lichen, *Cetraria islandica*, biscuits, muesli mixtures, nutritional analysis

Zde bych chtěla poděkovat mé vedoucí diplomové práce doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za příjemnou spolupráci, cenné rady a připomínky. Velké poděkování patří taktéž paní laborantce Ing. Lence Fojtíkové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST.....	9
1 CHARAKTERIZACE LIŠEJNÍKŮ.....	10
1.1 VZHLED A VÝSKYT LIŠEJNÍKŮ	10
1.2 LIŠEJNÍK ISLANDSKÝ (<i>CETRARIA ISLANDICA</i>).....	11
2 SLOŽENÍ LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO	14
2.1 PRIMÁRNÍ LÁTKY	14
2.1.1 Polysacharidy	15
2.1.2 Polyoly	17
2.1.3 Dusíkaté látky.....	19
2.1.4 Karotenoidy	21
2.1.5 Vitamíny s růstové faktory.....	22
2.2 SEKUNDÁRNÍ LÁTKY	22
2.2.1 Lichenové kyseliny	23
2.2.2 Atranorin	28
2.2.3 Kyselina lekanorová.....	29
2.3 MAKROBIOGENNÍ A MIKROBIOGENNÍ PRVKY	30
3 APLIKACE LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO	32
3.1 SAMOTNÝ SUŠENÝ LIŠEJNÍK ISLANDSKÝ A ČAJ S LIŠEJNÍKEM	32
3.2 TABLETKY, PASTILKY, DROPSY S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM.....	33
3.3 SMĚS K PŘÍPRAVĚ HORKÉHO NÁPOJE	33
3.4 BYLINNÉ KAPKY S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM A SIRUPY	34
3.5 ÚSTNÍ SPREJ S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM.....	34
3.6 ZUBNÍ PASTA S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
4 CÍL PRÁCE	36
5 METODIKA PRÁCE.....	37
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	37
5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	37
5.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	38
5.3.1 Suroviny	38
5.3.2 Příprava sušenek se základní recepturou a lišejníkem	39
5.3.3 Příprava müsli směsí	42

5.4	STANOVENÍ VLHKOSTI.....	44
5.5	STANOVENÍ POPELA.....	45
5.6	STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK A PŘEPOČET NA OBSAH HRUBÉ BÍLKOVINY	45
5.7	STANOVENÍ CELKOVÝCH LIPIDŮ	46
5.8	STANOVENÍ ŠKROBU.....	47
5.9	STANOVENÍ HRUBÉ VLÁKNINY	48
5.10	STANOVENÍ NEUTRÁLNĚ–DETERGENTNÍ VLÁKNINY	49
5.11	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI.....	51
5.12	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ	53
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	54
6.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ VYBRANÝCH JAKOSTNÍCH PARAMETRŮ U SUŠENEK.....	54
6.1.1	Výsledky stanovení vlhkosti	54
6.1.2	Výsledky stanovení obsahu popela	55
6.1.3	Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny	56
6.1.4	Výsledky stanovení obsahu lipidů	57
6.1.5	Výsledky stanovení obsahu škrobu	58
6.1.6	Výsledky stanovení obsahu vlákniny.....	59
6.1.7	Výsledky stanovení stravitelnosti	60
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ VYBRANÝCH JAKOSTNÍCH PARAMETRŮ U FINÁLNÍCH MŮSLI SMĚSÍ	61
6.2.1	Výsledky stanovení vlhkosti	61
6.2.2	Výsledky stanovení obsahu popela	62
6.2.3	Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny	63
6.2.4	Výsledek stanovení obsahu lipidů.....	64
6.2.5	Výsledky stanovení obsahu škrobu.....	64
6.2.6	Stanovení vlákniny.....	65
6.2.7	Stanovení stravitelnosti	66
6.3	STANOVENÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ U LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO	67
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	70
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	82
	SEZNAM OBRÁZKŮ	83
	SEZNAM TABULEK.....	84
	SEZNAM PŘÍLOH.....	85

ÚVOD

Lišejník islandský (*Cetraria islandica*) je druh rostliny, která je nenáročná na živiny. Často roste v chladných, nehostinných, arktických podmínkách, kde bývá přichycen ke skalnatému podkladu. Již v minulosti se lišejník islandský používal jako léčivá a podpůrná rostlina při různých nemocech. Uvádí se, že lišejník má silné protizánětlivé účinky. Může tak pomoci při suchém kašli, obecně je to velký pomocník při zánětech v oblasti dýchacích cest. Díky jeho hořké chuti je nápomocný i při potížích se zažívacím traktem. Dnes se na trhu můžeme setkat s potravinovými doplňky, které mají lišejník jako jednu ze svých léčivých složek. Potraviny s přídavkem lišejníku se však na trhu vyskytují ojediněle anebo vůbec. Cílem práce je aplikování lišejníku do potravin, kde by mohl potenciálně zvyšovat nutriční hodnotu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERIZACE LIŠEJNÍKŮ

Lišejníky jsou charakteristické svým symbiotickým vztahem, který je tvořen mezi jedním nebo dvěma druhy hub a řasami. Ačkoli se lišejníky jeví jako rostlinné organismy, při bližším zkoumání (např. pod mikroskopem) lze rozeznat miliony buněk řas, též nazývané jako fotobiont, vetkaných do matrice tvořené vlákny hub, nazývané jako mykobiont. Věda, která studuje a zabývá se lišejníky, se nazývá lichenologie (Honegger, 1991).

Většina mykobiontů je zařazena do jediné skupiny *Ascomycetes* (houby vřeckovýtrusné), konkrétně do podtřídy *Lecanoromycetidae*. Tato skupina vřeckovýtrusných hub se vyznačuje otevřeným typem plodnice – *apotheciem* (Moore a Alexopoulos, 2019).

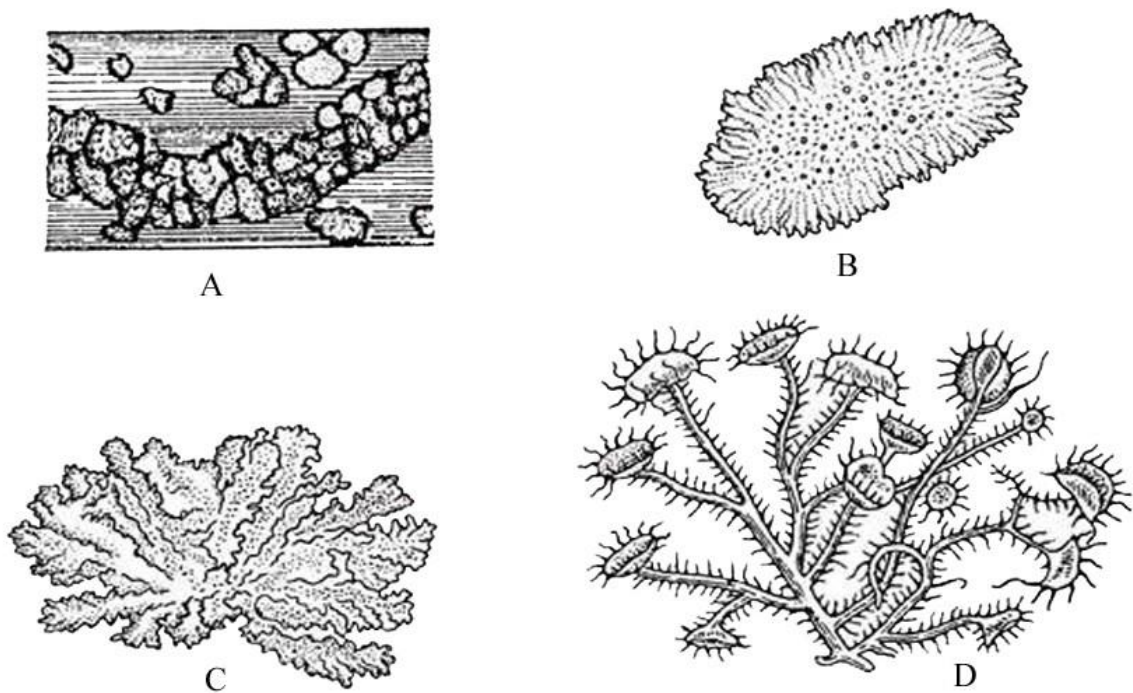
Často se lišejníky označují tak, jako by to byly samostatné organismy. V minulosti docházelo ke komplikacím s jejich zařazením a klasifikací do systému. Historicky byly lišejníkové houby po většinu 19. a 20. století zařazeny do vlastní třídy Lišejníky (*Lichen*) (Honegger, 1993).

Ve skutečnosti můžeme lišejníky popsat jako tzv. malé ekosystémy, které tvoří asociaci mezi dvěma nebo více složkami, konkrétně mezi producentem – řasou a spotřebitelem – houbou. V důsledku toho lišejníky nelze klasifikovat do přírodních systémů, protože nemají žádnou fylogenezi. Dnes jsou klasifikovány a začleněny společně s jinými chitinovými houbami do říše hub (*Fungi*) (Tehler a Wedin, 2008).

1.1 Vzhled a výskyt lišejníků

Tělo lišejníku tvoří tzv. stélka (*thallus*). Jedná se o označení korpusu těla bezcévnatých rostlin, hub a některých řas, které není diferencované na dílčí orgány (jako kořen, stonek a list). Podle tvaru stélky můžeme rozlišovat 4 základní typy stélky: korovitou, lupenitou, keříčkovitou a vláknitou (Nash, 1996).

- Korovitá – pevně srůstá s podkladem, nelze ji oddělit bez jejího poškození,
- lupenitá – k podkladu přirůstá jen částečně, lze je od podkladu oddělit,
- keříčkovitá – vzhledem připomíná keřík, dlouhé stélky vyrůstají z jednoho místa a následně se větví a odstává od podkladu,
- a vláknitá – tvoří ji dlouhé vláknité stélky.



Obrázek 1 Typy stélek u lišejníků: A – vláknitá; B – korovitá; C – lupenitá; D – keříčkovitá (Hawksworth a Hill, 1984)

Stélka lišejníků je tvořena z 90 – 95 % jemnými vlákny hub (hyf), která mají mezi sebou navázány buňky řas (Podterob, 2008). Lišejníky jsou obecně nenáročné na životní podmínky. Lze je ve větší míře nalézt spíše v chladnějších a nehostinných oblastech na severu (Hansen, 2007), ale i mírném podnebném pásmu. Jsou schopny kolonizovat širokou škálu pozemských stanovišť, jako jsou povrchy kamenů, kůry stromů, dokonce i zalesněná stanoviště (Giordani a kol., 2017).

1.2 Lišejník islandský (*Cetraria islandica*)

Lišejník islandský, v našich podmínkách známý taky jako puklérka islandská, je lišejník, jehož stélka je dužnatá a roste v podobě keříčků. Jeho zbarvení může být od šedozelené až do šedobílé barvy. Lišejník islandský dorůstá výšky 7,5 – 10,0 cm. Stélka je větvená a je zakončená zploštělými laloky (Moore a Alexopoulos, 2019).



Obrázek 2 Vzhled lišejníku islandského (*Cetraria islandica*) (Bildagentur-online, 2017)

Níže je uvedeno taxonomické zařazení lišejníku islandského (*Cetraria islandica*):

Říše: houby (*Fungi*)

Oddělení: houby vřecovýtrusné (*Ascomycota*)

Třída: Pezizomycotina

Podtřída: *Lecanoromycetidae*

Řád: misničkotvaré (*Lecanorales*)

Čeleď: terčovkovité (*Parmeliaceae*)

Rod: terčovka (*Hypogymnia*)

Druh: *Cetraria islandica* (L.) Ach.

Podle taxonomie lze ještě druh *Cetraria islandica* rozdělit na další 3 poddruhy:

- *Cetraria islandica* (L.) Ach. ssp. *crispiformis*
- *Cetraria islandica* (L.) Ach. ssp. *islandica*
- *Cetraria islandica* (L.) Ach. ssp. *orientalis* (Classification of *Cetraria* Ach., [2020]).



Obrázek 3 Lišejník islandský (*Cetraria islandica*) (Jirásek, 2014)

Lišejník islandský roste převážně na vlhkých místech, zachycen na pevném podkladu, jako je např. skála nebo kůra jehličnatých stromů. Vyskytuje se zejména v severních a subarktických oblastech, ale najít ho můžeme i po celé Evropě. Díky velké ploše povrchu a nedostatku kořenů, lišejník minimalizuje zisk živin absorpcí ze substrátu, a naopak lépe využívá živiny z okolní atmosféry. Akumulace látek z okolního prostředí může mít i negativní vliv v podobě škodlivých látek, jako jsou organické sloučeniny, radioizotopy a těžké kovy. Obsah těchto látek je v dnešní době ostře hlídáný, a tudíž nehrozí riziko, že by lišejník islandský mohl být škodlivý (Meli a kol., 2018).

2 SLOŽENÍ LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO

Složení stélky lišejníku může být rozděleno do dvou skupin, na primární a sekundární látky lišejníku. Primární látky obsažené v lišejníku mají především strukturální funkci a jsou součástí buněčného metabolismu, jako u ostatních rostlin z říše *Plantae* (Podterob, 2008). Sekundární látky jsou metabolity lišejníků, které nejsou obvykle přítomné v ostatních rostlinách. Jejich role v lišejnících jsou zatím z části neobjasněny. Sekundární metabolity jsou již z historie známy svými léčivými účinky, mezi které řadíme antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivé, analgetické, antipyretické a protinádorové účinky (Akbulut a Yildiz, 2010).

V níže uvedené tabulce 1 je zobrazeno rozdělení primárních a sekundárních látek lišejníků a jejich konkrétní příklady (Podterob, 2008).

Tabulka č. 1: Základní rozdělení látek obsažených v lišejnících

Primární látky	Sekundární látky
chitin	atranorin
lichenin	kyselina fumarprotocetrarová
isolichenin	kyselina gyroforová
celulóza a hemicelulóza	kyselina protocetrarová
pektiny	kyselina usnová
polyoly	kyselina lekanorová
vitamíny	kyselina protolichesterinová
aminokyseliny	kyselina lichesterinová
barviva (chlorofyly, karotenoidy, xantofyly)	

2.1 Primární látky

Mezi primární látky obsažené v lišejnících řadíme látky, které jsou tvořeny především intracelulárně. Patří zde: chitin, lichenin a isolichenin, hemicelulóza, pektiny, polyoly, aminokyseliny, vitamíny a barviva (Karunaratne a kol., 2005).

2.1.1 Polysacharidy

Všechny druhy dosud známých lišejníků produkují různé množství a různé druhy polysacharidů. Polysacharidy izolované z lišejníků mají především lineární nebo částečně substituovanou strukturu α – nebo β –glukanů. Dále bylo popsáno několik struktur galaktomanó-zového typu. Nedávno bylo taktéž popsáno několik komplexních heteroglykanů (Olafsdottir a Ingólfssdóttir, 2001). Obsahy některých polysacharidů jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka č. 2: Obsah polysacharidů u některých druhů lišejníků, v % na sušinu (Akbulut a Yildiz, 2010)

Druh lišejníku	Ve vodě rozpustné cukry	Obsah polysacharidů [%]			
		Lichenin	Hemicelulóza	Celulóza	Celkový obsah polysacharidů
<i>Cetraria islandica</i>	1,9	50,9	25,8	3,9	82,5
<i>Cetraria nivalis</i>	1,5	18,8	59,7	3,9	83,9
<i>Alectoria ochroleuca</i>	1,2	45,6	34,6	3,7	85,1
<i>Cladonia alpestris</i>	0,3	2,4	73,8	7,3	83,8
<i>Stereocaulon paschale</i>	1,1	2,2	59,8	8,6	72,4

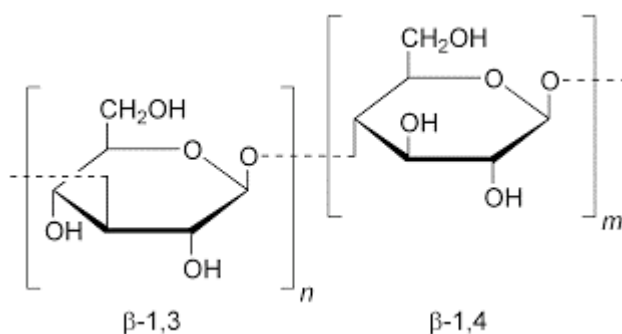
2.1.1.1 Lichenin a isolichenin

Studie uvádí, že pokud se lišejník vaří spolu s vodou, vzniká velké množství lepkavého, želatinového produktu, který je nazýván populárně jako „mechový škrob“ – odborným termínem nazýván jako lichenin. Skládá se ze dvou frakcí o různé rozpustnosti. Frakce nerozpustná ve studené vodě, ale rozpustná ve vroucí vodě je nazývána jako lichenin. Frakce, která je naopak rozpustná ve studené vodě je nazývána jako isolichenin (Podterob, 2008).

Lichenin je gelotvorný, lineární (1→3), (1→4)- β -D –glukan s vazebným poměrem 3:7. Průměrná molekulová hmotnost β -glukanů je uváděna mezi 20 a 62 kD (Peat a kol., 1957). Dřívější studie prokazovaly podobnost mezi licheninem a celulózou. Přesto se lichenin od celulózy liší tím, že je rozpustný v horké vodě, kdežto celulóza rozpustná není (Chanda a kol., 1957). Pomocí rentgenové krystalografie byla analyzována trojrozměrná

struktura licheninu. Dle získaných rentgenových diagramů bylo zjištěno, že vlákna β -glukanů jsou orientována do trojitých spirálovitých struktur tzv. triple-helix (Gorin a Barreto-Bergter, 1983).

Isolichenin byl prvním α -glukanem získaným z lišejníků. Chemickou strukturou představuje isolichenin (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- α -D-glukan (obr. č. 4) s vazebným poměrem 2:1 a jeho molekulová hmotnost se pohybuje okolo 7 kD (Peat a kol., 1961). Občas tyto α -glukany mohou být rozvětveny na atomech kyslíku (Olafsdottir a kol., 1999).



Obrázek 4 Chemická struktura licheninu (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glukan
(Lichenin, 2019)

2.1.1.2 Galaktoglukomanany

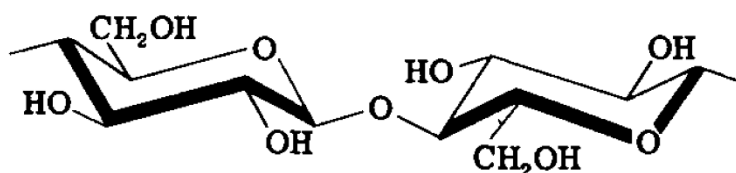
Po extrakci horkou vodou a následné extrakci pomocí zásaditého roztoku lze z lišejníků získat směs heteropolysacharidů, která obsahuje zbytky D-manózy, D-galaktózy, D-glukózy a kyseliny hexuronové (Podterob, 2008). Hlavní řetězec galaktoglukomananů je složen z (1 \rightarrow 6) vázaného α -D-manopyranosylu. Poměr manózy:galaktózy:glukózy je zde variabilní. Nicméně ve většině případů zde dominuje manóza a galaktóza. Množství glukózy u této frakce je třeba zvážit, protože je zde možná kontaminace malým množstvím glukanů (Olafsdottir a Ingólfssdóttir, 2001).

2.1.1.3 Hemicelulóza a celulóza

Hemicelulózy jsou heterogenní polymery pentóz (xylóza, arabinóza), hexóz (manóza, glukóza, galaktóza) a uronových kyselin. Na rozdíl od celulózy, hemicelulózy nejsou chemicky homogenní. Podle převažující složky je možno hemicelulózy rozdělit do dvou skupin: s převažujícími xylany nebo glukomanany. Xylany jsou heteropolysacharidy s homopolymerní páteřní řetězcí 1,4-vázaných β -oxylopyranózových jednotek. Kromě xylózy mohou

xylany obsahovat arabinózu, kyselinu glukuronovou nebo její 4 –O –metyléter a kyseliny octovou, ferulovou a *p*-kumarovou (Saha, 2003).

Celulóza je taktéž přírodní polysacharid, nerozpustný ve vodě, složený z jednotek β -D-glukóz spojených kovalentní vazbou 1 \rightarrow 4 (obr. č. 5). Polymerační stupeň celulózy je řádově až 10 000. V přírodě je obsažen v primárních buněčných stěnách rostlin (Aspinall, 1980).



Obrázek 5 Chemická struktura celulózy (Aspinall, 1980)

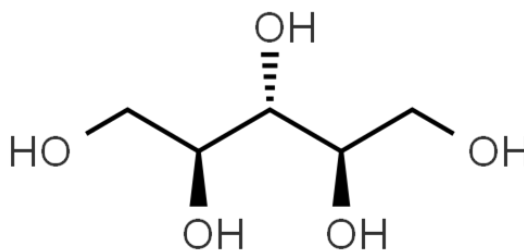
2.1.2 Polyoly

Polyoly, nazývané taky jako polyalkoholy nebo cukerné alkoholy, jsou látky získané redukcí aldehydické či ketonické skupiny cukru na hydroxy skupinu. Skupina polyolů obsahuje jak acyklické polyoly (glycitol) tak i cyklické polyoly (cyklitol). Chemicky, fyzicky a biologicky se polyoly podobají cukrům do té míry, že některé mají sladkou chuť a používají se jako sladidla do potravin (např. xylitol). V rostlinách polyoly figurují hlavně v procesu biogeneze a metabolismu, kde jsou z nich tvořeny především doprovodné cukry, obvykle ketózy (Bieleski, 1982). Polyoly jsou taktéž hlavními transportními a skladovacími látkami při metabolismu lišejníků (Dudley a Lechowicz, 1987).

V lišejníku lze identifikovat následující polyoly: adonitol (ribitol), glycerol, D-manitol, siphulitol a volemitol (Akbulut, Yildiz, 2010).

2.1.2.1 Ribitol

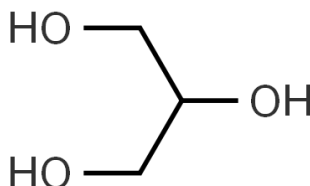
Ribitol, též nazývaný jako adonitol, je cukerným alkoholem odvozeným od ribózy (obr. č. 6), jeho molekulová hmotnost je $152,15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ a je rozpustný ve vodě (Ribitol, [2020]).



Obrázek 6 Chemický vzorec ribitolu (ChemSpider [2020])

2.1.2.2 *Glycerol*

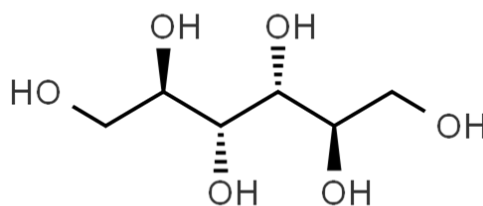
Glycerol (obr. č. 7) je metabolit alkoholu s třemi uhlíkovými atomy. V lidském těle je produkován a distribuován uvnitř buněk při nízkých koncentracích ($< 0,1 \text{ mmol.l}^{-1}$). Může být vytvořen z glycerol-3-fosfátu prostřednictvím enzymu glycerol kináza. Dalším způsobem tvorby glycerolu v těle může být deesterifikace triacylglycerolů, čím vzniká většina glycerolu cirkulujícího v krvi (Lin, 1977).



Obrázek 7 Chemický vzorec glycerolu (ChemSpider [2020])

2.1.2.3 *Mannitol*

Mannitol, nejrozšířenější a přirozeně vyskytující se acyklický hexitol (obr. č. 8), se vyskytuje v několika druzích ovoce a zeleniny (Lewis, Smith, 1967). Až dosud se vyráběl chemickou hydrogenací fruktózy, kdy vznikal spolu se sorbitolem (izomer mannitolu). V dnešní době probíhá mnoho výzkumů na získání mannitolu jako produktu z kvasinek (Song a kol., 2002).

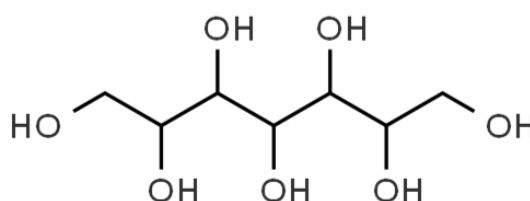


Obrázek 8 Chemický vzorec mannitolu (ChemSpider [2020])

Mannitol má poloviční sladivost ve srovnání se sacharózou, proto je používán jako sladidlo vhodný pro diabetiky (nízkokalorické sladidlo). Ve větších dávkách může mít projímavé účinky (Rice a kol., 2019). Obsah mannitolu v lišejníku islandském není vysoký, vypovídá o tom i jeho typicky hořká chuť.

2.1.2.4 Volemitol

Volemitol je z chemického hlediska polyalkohol, konkrétně D-glycero-D-manno-heptitol (obr. č. 9). Je to přirozeně se vyskytující „cukerný alkohol“ se sedmi uhlíky. Jedná se o látku široce distribuovanou v rostlinách, červených řasách, plísních, mechu a lišejnících (Richtmyer, 1970).



Obrázek 9 Chemický vzorec volemitolu (ChemSpider [2020])

2.1.3 Dusíkaté látky

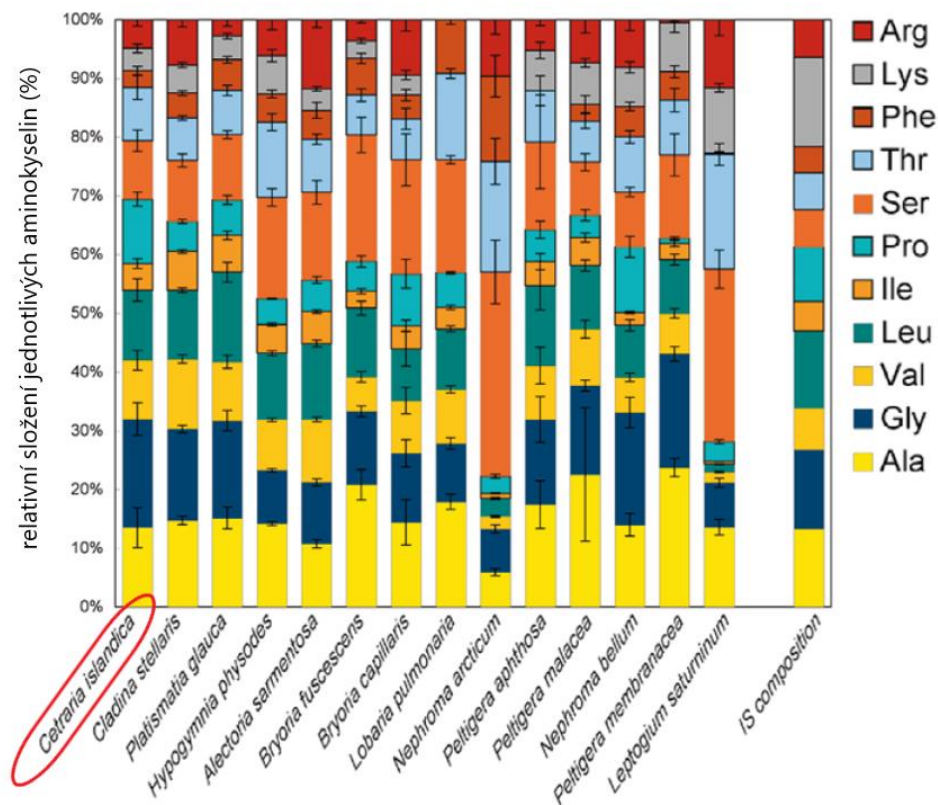
Zkoumání složení dusíkatých látek v lišejnících je velmi obtížné, protože stélka lišejníku ukládá dusíkaté látky v malých množstvích. Nedostatek dusíkatých látek může mít za následek omezení růstu a rozšíření lišejníků. Obecně lišejníky mají různé preference pro různé formy dusíku. Původ anorganického dusíku, který je vázaný ve sloučeninách (v amoniaku a dusičnanech), je především z dešťové vody (Akbulut a Yildiz, 2010), zatímco utilizace organického dusíku je dobře známá vlastnost volně žijících řas a sinic (Cornell a kol., 2003).

U lišejníků, které tvoří symbiotický vztah se zelenými řasami (mezi ně radíme i lišejník islandský) je obsah dusíkatých látek limitován obsahem dusíku ve stélce (Honegger, 1991). Naproti tomu mykobionti, kteří tvoří symbiotický vztah se sinicemi, mají přístup i k atmosférickému dusíku, tudíž se vyznačují i vyššími koncentracemi dusíku ve stélce (Dahlman a kol., 2004).

Seznam konkrétních dusíkatých látek, které se vyskytují ve stélce lišejníků, je uveden v tabulce č. 3 (Akbulut a Yildiz, 2010).

Tabulka č. 3: Dusíkaté látky v lišejnících

Aminokyseliny	Ostatní dusíkaté látky
alanin, arginin, asparagin, asparagová kyselina, betain, cystein, glutamová kyselina, glutamin, glycin, izoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, prolin, serin, treonin, tryptofan, tyrosin, valin.	amoniak, cholin, cholin sulfát, etanolamin, metylamin, trimethylamin.



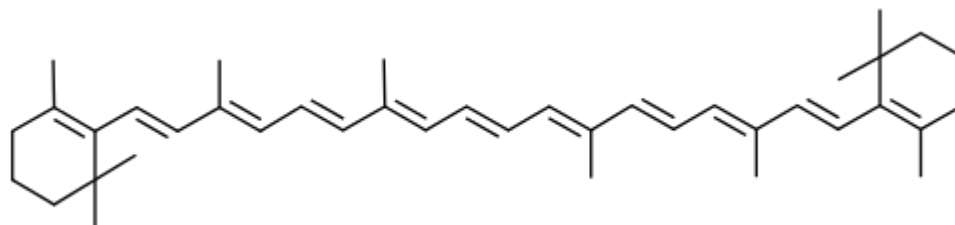
Obrázek 10 Graf zastoupení AMK u vybraných druhů lišejníků (upraveno dle Dahlman a kol., 2004)

2.1.4 Karotenoidy

Karotenoidy spolu s dalšími rostlinnými barvivy (chlorofyl a fykobiliny) fungují jako receptory světelné energie. Karotenoidy vykonávají taktéž ochrannou funkci, pomocí molekulárního kyslíku zabráňují degradaci chlorofylu (Podterob, 2008). Karotenoidy jsou zodpovědné za červené, oranžové a žluté odstíny listů, ovoce a květin, syntetizovat ho mohou pouze rostliny, bakterie, houby a řasy (Mayne, 1996).

Většina karotenoidů je odvozena z uhlíkatých řetězců se 40 uhlíky v základní struktuře, která zahrnuje systém konjugovaných dvojných vazeb (obr. č. 11). Kostra karotenoidů může nést cyklické koncové skupiny, které mohou být substituovány kyslíkem, který obsahuje funkční skupiny. Na základě struktury můžeme tedy karotenoidy rozdělit do dvou skupin: na karoteny obsahující atomy uhlíku a vodíku a xantofyly, které nesou aspoň jeden atom kyslíku (Stahl a Sies, 2003).

Antioxidační vlastnosti karotenoidů spočívají v degradaci dvou druhů reaktivních forem kyslíku: singletového kyslíku a peroxylového radikálu (Young a Lowe, 2001).



Obrázek 11 Chemický vzorec β -karotenu (ChemSpider [2020])

2.1.5 Vitamíny s růstové faktory

Ve složení lišejníku figurují v malém množství i vitamíny a růstové faktory. Konkrétně zde můžeme najít: kyselinu askorbovou (vit. C), biotin, kyselinu folinovou, kyselinu listovou (vit. B₉), niacin (vit. B₃), pantotenovou kyselinu (vit. B₅), riboflavin (vit. B₂), tiamin (vit. B₁) a kyanokobalamin (vit. B₁₂) (Akbulut a Yildiz, 2010).

2.2 Sekundární látky

Obsah sekundárních metabolitů se pohybuje od 0,1 – 2,0 % v sušině (Akbulut a Yildiz, 2010). Podle sekundárních metabolitů lze lišejníky i fylogeneticky zařazovat do systému. Pomocí sekundárních metabolitů bylo popsáno 25 rodů a 149 druhů cetrarioidních lišejníků (Randlane a Saag, 2003).

Sekundární metabolity nejsou absolutně nezbytné pro přežití a růst lišejníků, nicméně jejich studie odhalila mnoho možných výhod. Sekundární metabolity mohou mít vliv na biotické a abiotické interakce lišejníků s jejich prostředím. Mohou pomoci chránit stélku před býložravci, patogeny, konkurenty a externími abiotickými faktory (UV záření). Mnoho z nich vykazuje různé biologické aktivity (Molnár a Farkas, 2010).

Mezi základní sekundární metabolity lišejníku řadíme: lichenové kyseliny (lichesterinovou, protolichesterinovou, fumaroprotocetratovou, protocetratovou, usnovou, gyroforovou), atranorin a kyselinu lekanorovou (Xu a kol., 2016; Akbulut a Yildiz, 2010).

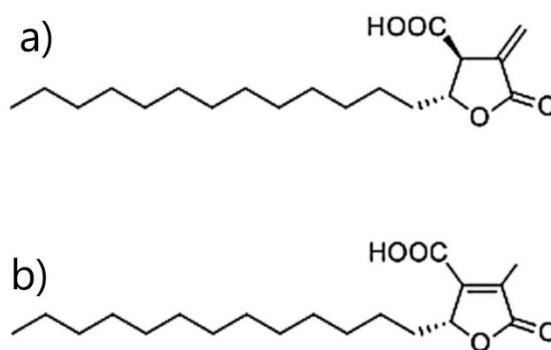
2.2.1 Lichenové kyseliny

Lichenové kyseliny je pojem označující skupinu kyselin, které se jedinečně vyskytují u lišejníků. Kyseliny mají hořkou chuť a jsou známy antibiotickým účinkem (Xu a kol., 2016). Znalosti o skladbě lichenových kyselin lišejníků a jejich profilů se rychle rozšiřovala díky vysoce výkonné metodě kapalinové chromatografie (Huneck a kol., 1994).

2.2.1.1 Protolichesterinová a lichesterinová kyselina

Kyselina protolichesterinová je alifatický γ -lakton s metylenovou skupinou na α -uhlíku. Kyselina má 2 enantiomery, kdy v lišejníku islandském (*Cetraria islandica*) je přítomen enantiomer (+)-protolichesterinové kyseliny (Xu a kol., 2016). Protolichesterinová kyselina (obr. č. 12a) může izomerovat na lichesterinovou kyselinu (obr. č. 12b) (Cavallito a kol., 1948).

U kyseliny (+)-protolichesterinové byla nalezena slabá antimikrobiální aktivita ($MIC^1 = 250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) proti nepatogennímu druhu *Mycobacterium aurum*, který je podobný patogennímu druhu *M. tuberculosis* (Indólfisdóttir a kol., 1998). Další antimikrobiální aktivita byla nalezena při léčbě žaludečních a duodenálních vředů. MIC (+)-protolichesterinové kyseliny pro inhibici *Helicobacter pylori* byla stále hodně vysoká ($MIC = 32 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (Indólfisdóttir a kol., 1997).



Obrázek 12 Chemický vzorec (a) protolichesterinové kyseliny; (b) lichesterinové kyseliny (upraveno dle Xu a kol., 2016)

¹ MIC = minimální inhibiční koncentrace; nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která inhibuje viditelný růst mikroorganismu

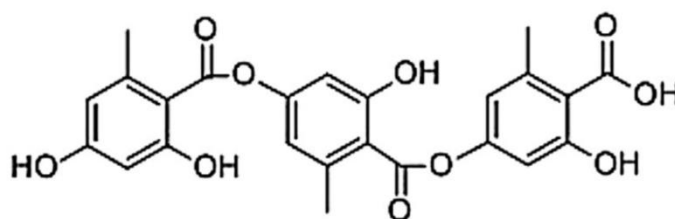
Kyselina (+)-protolichesterinová byla testována i v chemoterapeutickém odvětví, kdy byla *in vitro* účinným inhibitorem reverzní transkriptázy viru lidské imunodeficiency. Antiproliferační aktivita byla prováděna za použití řady lidských maligních buněčných linií a u řady z nich vykazovala specificky silnou aktivitu (karcinom prsu, mnohočetný myelom, karcinom pankreatu a střeva) (Bessadóttir a kol., 2014). Nicméně při testování antioxidační aktivity *in vitro* s použitím modelované peroxidace, se neprokázaly žádné výrazné hodnoty antioxidační aktivity (Kumar a Müller, 1999a). Naopak kyselina (+)-lichesterinová, která byla izolovaná z *Cetraria islandica*, má významnou inhibiční aktivitu na růst *Trypanosoma brucei* (MIC = 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) ve srovnání se suraminem (MIC = 13,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) použitým jako pozitivní reference (Igoli a kol., 2014). Taktéž existuje patent, který používá kombinaci (+)-lichesterinových a (+)-protolichesterinových kyselin ke stimulaci pigmentace lidské kůže (Boustie a kol., 2012).

Byla taky studována protizánětlivá aktivita protolichesterinové kyseliny, která selektivně *in vitro* inhibuje enzym 5-lipooxygenázu. Produkty lipooxygenázové dráhy slouží jako mediátory při bronchokonstrikci² a zánětlivých reakcích v oblasti dýchacích cest. Inhibice enzymů by tak mohla teoreticky vést k uvolnění bronchiálního svalu a k protizánětlivým reakcím (Ingólfssdóttir, 2000).

2.2.1.2 Gyroforová kyselina

Gyroforová kyselina má strukturu depsidu, což je typ polyfenolické sloučeniny, která obsahuje dva nebo více monocyklických aromatických jednotek spojených esterovou vazbou (obr. č. 13). Slabá antimikrobiální aktivita kyseliny gyroforové byla objevena proti vybraným bakteriím a houbám (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* a *Candida glabrata*) (Candan a kol., 2006).

² bronchokonstrikce = zúžení průdušek, ke kterému dochází při alergiích a při anafylaktickém šoku

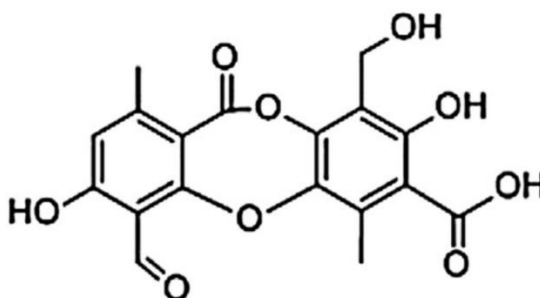


Obrázek 13 Chemický vzorec gyroforové kyseliny (upraveno dle Xu a kol., 2016)

Bioaktivita kyseliny gyroforové může souviset s její interakcí s DNA a je jediným inhibito-rem aktivity DNA topoisomerázy I mezi testovanými lišejníkovými sloučeninami. Výsledek výzkumu by mohl vést k novým účinným molekulám léčiv, které budou zaměřené na DNA (Plsíková a kol., 2014).

2.2.1.3 *Protocetratová kyselina*

Protocetratová kyselina má strukturu tzv. depsidonu, což je látka, která má ve své struktuře jak depsidy tak cyklické étery (obr. č. 14). Nejčastěji se vyskytují u lišejníků, ale byly izo-lovány i z vyšších rostlin (Xu a kol., 2016).



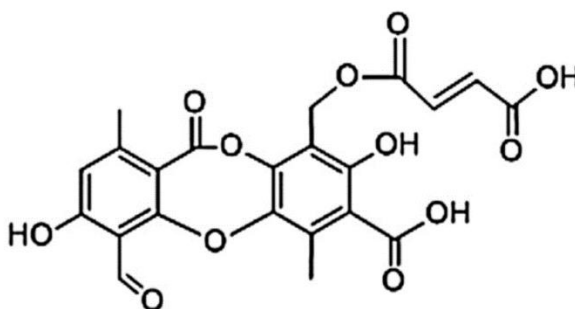
Obrázek 14 Chemický vzorec protocetratové kyseliny (upraveno dle Xu a kol., 2016)

Účinky protocetratové kyseliny byly zkoumány především pro její antimikrobiální vlastnosti. Výrazně inhibuje růst houbových a bakteriálních patogenů. Látka vykazovala lepší antimikrobiální aktivitu proti G^- bakteriím *Salmonella typhi* ($MIC = 0,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) než referenční antibiotikum ciprofloxacin ($MIC = 4 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (Nishanth a kol., 2014). Zatímco výzkum Tay a kol. (2004) neprokázal žádnou slibnou aktivitu protocetrarové kyseliny proti G^- nebo G^+ bakteriím, ale pouze slabou antifungální aktivitu (Tay a kol., 2004).

Výše uvedené rozdíly v antimikrobiální aktivitě mohly být způsobeny použitím rozdílných metod. Ve druhém případě, Tay a kol. (2004) používali diskovou difúzní metodu, zatímco Nishanth a kol. (2014) provedli metodu standartního ředění bujony pro bakterie. Roli by mohly hrát difúzní vlastnosti a omezená rozpustnost kyseliny fumaroprocetrarové (Xu a kol., 2016).

2.2.1.4 Fumaroprocetrarová kyselina

Fumaroprocetrarová kyselina svou chemickou strukturou (obr. č. 15) patří taktéž do skupiny depsidonů. Oproti procetrarové kyselině se liší navíc navázanou karboxylovou kyselinou přes esterovou vazbu (Xu a kol., 2016).



Obrázek 15 Chemický vzorec fumaroprocetrarové kyseliny (upraveno, Xu a kol., 2016)

O funkcích kyseliny fumaroprocetrarové jsou zkoumány teorie, že by mohla zvyšovat toleranci toxického Mn^{2+} tím, že kation absorbuje, a zároveň zvyšovat vstřebávání kationtu Fe^{3+} (Hauck a Huneck, 2007). Další literatura popisuje využití kyseliny fumaroprocetrarové jako potencionálního inhibitoru tyrozinázy (enzym obsahující měď), která je rozhodující pro produkci melaninu. Sloučeniny schopné inhibovat tento enzym by mohly být následně využity při bělení kůže (Brandão a kol., 2017).

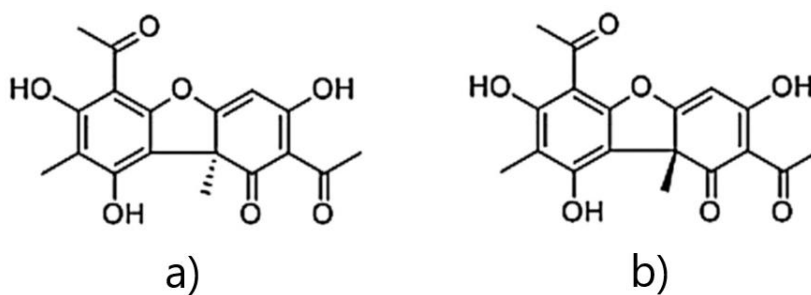
Kromě silného účinku kyseliny fumaroprocetrarové na G^- bakterii *Klebsiella pneumoniae* ($MIC = 31 \mu g \cdot ml^{-1}$) má tato lišejníková látka slabou antimikrobiální aktivitu proti bakteriím jako jsou *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Listeria monocytogenes* a proti houbám druhu *Aspergillus flavus* (Mišić a kol., 2008).

V neposlední řadě byla zkoumána antioxidační aktivita kyseliny. Vykazovala vyšší antioxidační aktivitu v testu při vychytávání superoxidových aniontů než známý antioxidant kvercetin, ale stále slabší aktivitu než kyselina askorbová (Lohézic–Le Dévéhat a kol., 2007).

Dále byla zaznamenána mukolytická³ aktivita kyseliny fumarprotocetratové. Je však třeba zmínit, že použité dávky kyseliny fumarprotocetratové (25; 50 a 100 mg.kg⁻¹ nebo 0,053; 0,106 a 0,212 mmol.kg⁻¹) byly výrazně vyšší než pozitivní kontrola (ambroxol: 1 mg.kg⁻¹ nebo 2,64 μmol.kg⁻¹) (De Barros Alves a kol., 2014).

2.2.1.5 Usnová kyselina

Ze stovek známých sekundárních metabolitů lišejníků je dibenzofuranový derivát usnová kyselina bezpochyby nejrozsáhlejší studovaná látka. Usnová kyselina je žluté kortikální barvivo a vyskytuje se ve dvou enantiomerních formách: (–)-usnová kyselina (obr. č. 16a) a (+)-usnová kyselina (obr. č. 16b) (Indólfisdóttir, 2002).



Obrázek 16 Chemický vzorec a) (–)-usnové kyseliny; b) (+)-usnové kyseliny
(upraveno dle Xu a kol., 2016)

Hlavní problém při aplikaci samotné kyseliny usnové spočívá v její potenciální hepatotoxicitě. Hromadné důkazy ukazují, že cíle hepatotoxicity vyvolané kyselinou (+)-usnovou mohou zahrnovat endoplazmatické retikulum, mitochondrie a lysozom, což vede k vyčerpání energie a buněčnému stresu (Bessadóttir a kol., 2012).

Je známo, že kyselina (–)-usnová je účinnější než kyselina (+)-usnová pro indukci buněčné apoptózy u některých buněčných modelů, jako jsou lidské lymfocyty, přestože má kyselina (–)-usnová docela podobnou cytotoxicitu jako kyselina (+)-usnová (Koparal a kol., 2006).

Byla zkoumána i redoxní aktivita usnových kyselin, kde došli k závěrům, že prooxidační nebo antioxidační aktivita usnových kyselin je závislá na použité koncentraci usnových kyselin (Rabelo a kol., 2012).

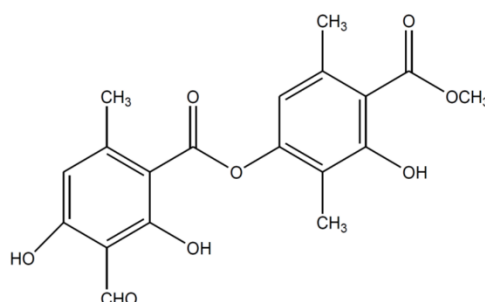
³ Mukolytická aktivita = umožnění zkapalnění průduškového sekretu a následně snadnější vykašlávání hlenu

Antibakteriální aktivita kyseliny usnové se zdá být specifičtější proti G^+ kmenům. Antimikrobiální aktivita kyseliny (+)-usnové proti G^+ bakteriím je primárně způsobena inhibicí syntézy RNA a DNA (Indólfsdóttir, 2002). Podobně je antivirová aktivita usnových kyselin připisována inhibici transkripce RNA (Campanella a kol., 2002).

Vzhledem k tomu, že výrobky obsahující kyselinu usnovou jsou uváděny na trh jako potravinové doplňky, nejsou regulovány jako drogy a za bezpečnost nese odpovědnost výrobce a distributor. Celkově vzato je třeba dalšího výzkumu, abychom pochopili toxicitu (+)- a (-)-usnových kyselin, jejich interakce s jinými léky a jejich vztah dávka–odpověď (Xu a kol., 2016).

2.2.2 Atranorin

Atranorin, derivát β -orcinolu (obr. č. 17), je lišejníková kyselina, často přítomná v mnoha lišejníkových rodinách (*Cladoniaceae*, *Lecanoraceae*, *Parmeliaceae*, *Streocaulaceae*) (Studzińska–Sroka a kol., 2017).



Obrázek 17 Chemický vzorec atranorinu (upraveno dle Tomovic a kol., 2019)

Jeho antibakteriální aktivita byla prostudována na *Staphylococcus aureus*, jedné z nejnebezpečnějších bakterií, která se nachází v dýchacích cestách a na kůži. Výsledky zkoumané aktivity byly různorodé. Byly publikovány jak pozitivní výsledky antimikrobiální aktivity (Ranković a kol., 2007), tak i výsledky, které popisují nižší aktivitu atranorinu ve srovnání se streptomycinem (Kosanić a kol., 2014). Další studie poukazuje na významnou aktivitu proti dvěma G^- bakteriím: *Proteus vulgaris*, bakterie zodpovědná za infekce zažívacího traktu, pneumonii a meningitidu, a *Aeromonas hydrophila*, bakterie způsobující gastroenteritidu (Neeraj a kol., 2011).

Rozdíly zjištěných aktivit mohou vyplývat z rozdílných zdrojů nebo rozdílných původů testovaných kmenů, použité metodě nebo dokonce z různých čistot testovaných látek (Studzińska–Sroka a kol., 2017).

Jeho antifugální aktivita se naopak zdá jako zanedbatelná. Nebyl účinný proti vláknitým houbám a vykazoval jen slabou antifungální aktivitu proti *Aspergillus fumigatus* a *Candida albicans* (desetkrát nižší než ketokonazol) (Türk a kol., 2006).

Jeho antioxidační aktivita byla změřena pomocí testu peroxidace lipidů a výsledky ukázaly, že atranorin má mírnou, ale na dávce závislou aktivitu proti lipidové peroxidaci (Marante a kol., 2003).

Cytotoxická aktivita atranorinu byla vyšetřena proti rakovinným buňkám lidského i zvířecího původu. Ve většině případů byl tento efekt popsán jako neúčinný, pouze v několika případech byla sloučenina popsána jako aktivní (Studzińska–Sroka a kol., 2017).

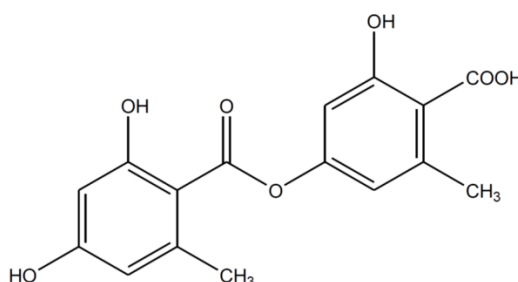
Mezi lišejníkovými sekundárními metabolity je atranorin nejčastěji odpovědný za alergickou reakci. Atranorin může způsobovat fotokontaktní dermatitidu a vystavení slunečnímu záření může příznaky zesílit (Thune a Solberg, 1980).

Nicméně informace o toxicitě atranorinu jsou vzácné, zveřejněné výsledky naznačují dobrý bezpečnostní profil samotné látky (Melo a kol., 2011).

V další studii bylo zkoumáno, zda může atranorin ovlivnit absorpci světla ve stélce lišejníku. Atranorin může zvyšovat schopnost lišejníkové řasy používat světlo o menších vlnových délkách a tím umožňují maximální využití nízkých intenzit světla (Rao a Le-Blanc, 1965).

2.2.3 Kyselina lekanorová

Kyselina lekanorová je klasifikována jako polyfenol. (obr. č. 18) a je to běžná látka obsažená v lišejnících. Kyselina a její deriváty mají biologickou aktivitu. Bylo dokázáno, že tato kyselina je inhibítozem histidin dekarboxylázy s extrémně nízkou toxicitou (Umezawa a kol., 1984).



Obrázek 18 Chemický vzorec kyseliny lekanorové (upraveno dle Tomovic a kol., 2019)

Kyselina lekanorová má silnou absorpci v UV oblasti spektra, ale pouze ve fialové oblasti. Kyselina hraje důležitou roli při ochraně lišejníkových symbiontů před škodlivým slunečním zářením, zejména před jeho UV složkou (Luo a kol., 2009).

2.3 Makrobiogenní a mikrobiogenní prvky

Během minulého století se globální antropogenní kovové vstupy do ekosystémů po celém světě podstatně zvýšily, a to převážně kvůli lidské činnosti. Lišejníky jsou velmi účinné při zachycování stopových prvků rozpuštěných v mokřých srážkách a přítomné v suchých depozicích. Z tohoto důvodu jsou lišejníky považovány za vhodné biomonitory v analýze životního prostředí (Minganti a kol., 2014).

Stopové prvky jsou přítomny ve velmi omezeném množství a několik z nich plní rozhodující funkce v udržování lidského zdraví. Například mnoho kovů je vázáno na proteiny, které jsou součástí enzymatických systémů nebo mají strukturální a paměťové funkce. Přiměřené doplnění stopových prvků může zabránit nebo zvrátit nežádoucí patologické stavy (Goyer, 1995).

Mezi nejhojněji zastoupené prvky v lišejníku islandském je možno zařadit: K, Ca, P, S a Fe. Pokud jde o toxické prvky, Al se pohyboval od koncentrace 2020 do 2900 mg.kg⁻¹ v sušině, Rb a Sr se pohybovaly od 6,2 do 6,8 mg.kg⁻¹ (Meli a kol., 2018).

Analýza v obsahu Pb ukázala významný pokles v čase. Tento pokles lze snad vysvětlit zákazem olovnatého paliva pro silniční vozidla (Giordani a kol., 2017).

Taky je známo, že lišejník islandský koncentruje přírodní radionuklidy atmosférického původu, zejména ²¹⁰Pb a ²¹⁰Po. Koncentrace aktivity ²¹⁰Po se pohybovala od 0,195

do $0,274 \text{ Bq.L}^{-1}$ u produktů (tinktury) zakoupených v obchodech s bylinami. Tato zjištění zdůrazňují potřebu monitorování těžkých kovů v léčivých rostlinách, aby byla zaručena bezpečnost a kvalita těchto populárních bylinných přípravků. Neustálé monitorování radioaktivních a stabilních kontaminantů v produktech *C. islandica*, může zajistit, že jejich obsah nepřesáhne doporučené úrovně, a tím chránit zdraví spotřebitelů (Meli a kol., 2018).

Na rozdíl od Pb data ukázala, že se koncentrace Mn v průběhu času neustále zvyšovala. Atmosférický Mn může souviset jak s přírodními zdroji, tak s emisemi. Hlavními přírodními vstupy Mn do atmosféry jsou zvětralé skály a lesní požáry, zatímco důležitými antropogenními zdroji jsou vypouštění komunálních odpadních vod, splaškové kalý, těžba a zpracování nerostných surovin, emise ze slitin a spalování fosilních paliv (Minganti a kol., 2014).

3 APLIKACE LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO

Lišejník islandský (*Cetraria islandica*) je hojně používaným léčebně podpurným produktem od starověku v tradiční medicíně po celém světě díky jeho schopnosti syntetizovat širokou škálu sekundárních metabolitů, které mají různé biologické aktivity.

Tradiční medicíny (např. Ayurvéda nebo Tradiční čínská medicína) využívají přírodní produkty. Tyto směry byly praktikovány po celém světě stovky až tisíce let, a rozvinuly se v řádně regulované medicínské systémy. Ve svých různých podobách mohou mít určité vady, ale stále jsou cenným úložištěm lidských znalostí (Alves a Rosa, 2007).

Začátkem devatenáctého století začala éra „moderních“ léčiv. V roce 1805, první farmakologicky aktivní sloučenina, morfin, byl izolován mladým německým lékárníkem jménem Friedrich Sertürner z rostliny opia (Hamilton, Basket, 2000). Pozdější vývoj syntetických látek vedl ke snížení významu přírodních produktů a začaly se objevovat obavy, že používání některých přírodních produktů pro léčivé účely mohou být zcela zakázány. Přírodní produkty jsou stále důležité pro vývoj nových léků či doplňků stravy a tyto výrobky se neustále používají (Yuan a kol., 2016). Jedním a nemalým příkladem může být nynější zájem o výzkum sekundárních metabolitů lišejníku islandského.

Na dnešním trhu lze nalézt hodně produktů, které využívají léčivých látek lišejníku islandského v různé formě. V této kapitole je zpracovaný základní přehled produktů s lišejníkem, které lze na trhu zakoupit. Obrázky jednotlivých produktů jsou vloženy v příloze I.

3.1 Samotný sušený lišejník islandský a čaj s lišejníkem

Nejčastěji můžeme v obchodních sítích koupit nejjednodušší variantu, a to lišejník islandský v sušené podobě. Prodává se většinou v papírovém obalu. Sušený lišejník islandský se pak používá k přípravě nálevů a odvarů.

Pro přípravu nálevu se například doporučuje 1 – 2 čajové lžičky sypké směsi zalít 250 ml vroucí vody a následně nechat louhovat 15 min v zakryté nádobě. Následně se nálev scedí. Doporučuje se nálev konzumovat 1 – 2 x za den a nálev vždy připravit čerstvý.

Pro přípravu odvaru se doporučuje vsypat jedna čajová lžička do 250 ml studené vody, směs se přivede k varu a nechá se krátce povařit. Následně se nechá v zakryté nádobě 15 min odstát a scedí se (Valdemar Grešík, [2020]).

Na trhu lze zakoupit i sypanou čajovou směs například „Průduškový čaj Islandský vánek“, obsahující ve směsi bylin lišejník islandský (stélky). Směs by měla sloužit pro podporu vykašlávání (Dr. Popov, [2020]).

3.2 Tabletky, pastilky, dropsy s lišejníkem islandským

Lišejník islandský může být podáván i ve formě tablet, kdy jsou přesně určené dávky. Jsou doporučovány jako doplněk stravy při potížích zejména se zažívacím traktem (nechutenství, průjemy, žaludeční a střevní katary, záněty dutiny ústní). Obsah léčivé látky v jedné tobolce je $250 \text{ mg} \pm 5 \%$ *Cetraria islandica* (ExHerbis, [2020]).

Nejvíce na trhu jsou rozšířeny léčivé pastilky s obsahem lišejníku islandského. Většina produktů je určena jako doplněk stravy při potížích s hltanem a jeho sliznicemi, s dýchacími cestami a s hlasivkami. Obecně jsou pastilky vhodné jako doplněk při léčbě chřipky a nachlazení. Všechny produkty lze zakoupit volně v prodejních sítích. Vyrábí se např. Müllerovy pastilky® s islandským lišejníkem a vitamínem C (hlasivky) (Dr. Müller Pharma, [2020]). Pastilky od firmy Herbovit obsahují také přidání vitamínu C (Herbofit, [2020]), firma Vitar má na trhu pastilky MaxiVita SeptAngin – lišejník islandský, které zklidňují podráždění krku a horních cest dýchacích (Vitar, [2020]).

Na trhu je možné zakoupit i dropsy s obsahem lišejníku, které slouží na dobrou regulaci dýchacích cest. Tyto obsahují 0,5 % extrakt lišejníku (Valdemar Grešík, [2020]).

3.3 Směs k přípravě horkého nápoje

Na trhu existuje i sypaná směs k přípravě horkého léčivého nápoje s obsahem lišejníku islandského. Konkrétně například produkt „HerbalMed Hot Drink Dr. Weiss“, který je určen při kašli na podporu průdušek.

Pro přípravu zde doporučují rozpustit 2 – 3 čajové lžičky v šálku horké vody.

Kromě lišejníku směs obsahuje více složek jako lékořici lysou, jitrocel kopinatý, ostružiník křovitý, mátu peprnou, heřmánek pravý a další (Dr. Max, [2020]).

3.4 Bylinné kapky s lišejníkem islandským a sirupy

Na trhu jsou dostupné i Pavlovy bylinné kapky s lišejníkem islandským Lišejník islandský. Jedná se o přírodní bylinný extrakt ze stélek léčivé rostliny lišejníku islandského, který podporuje normální funkci dýchacích cest. Složení tinktury: melasový ethanol 40 %, léčivá rostlina lišejník islandský (Bylinné kapky, [2020]).

Také je možno zakoupit sirupy, jako např. Müllerův sirup s islandským lišejníkem a vitamínem C (Dr. Müller Pharma, [2020]).

3.5 Ústní sprej s lišejníkem islandským

Anginal ústní sprej s lišejníkem islandským pro péči o sliznici dutiny ústní je také volně prodejný. Jako pomocné látky jsou zde přidány mentol a olej z eukalyptu (Dr. Müller Pharma, [2020]).

3.6 Zubní pasta s lišejníkem islandským

Na trhu existuje i zubní pasta s přídavkem lišejníku – PURO zubní pasta aloe vera + islandské lišejníky, obsahuje přidanou složku Aloe Vera s dalšími synergickými složkami, jako jsou: *Echinacea*, Vitamíny C a A a islandské lišejníky (Beautyland, [2020]).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo navrhnout potenciálně vhodné potraviny z oblasti cereálních technologií k obohacení lišejníkem islandským. Vzhledem ke konzistenci lišejníku byly připraveny dvě skupiny potravin, ke kterým se lišejník islandský přidal, a u nich byly následně stanovovány základní nutriční parametry. Byly připraveny čtyři druhy sušenek s přídavkem lišejníku a čtyři druhy müsli směsí s přídavkem lišejníku. Sušenky i müsli směsi zahrnovaly bezlepkovou variantu i variantu s obsahem lepku.

Dále práce obsahovala dílčí cíle, které obsahovaly samotnou přípravu sušenek i müsli směsí dle předem zadané receptury. Dalším cílem bylo u vyrobených vzorků stanovit vybrané jakostní parametry, které zahrnovaly stanovení obsahu vlhkosti, popela, bílkovin, lipidů, škrobu, hrubé a neutrálně-detergentní vlákniny, stravitelnosti sušiny a stravitelnosti organické hmoty. Následně byly získané výsledky statisticky vyhodnoceny. Výsledky byly diskutovány a byly formulovány závěry práce.

5 METODIKA PRÁCE

5.1 Použité chemikálie

Carrez I (30 % ZnSO_4)

Carrez II (15 % $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)

směs pankreatických enzymů (složení: proteáza s aktivitou 350 FIG–U g^{-1} , lipáza s aktivitou 6000 FIG–U g^{-1} a amyláza s aktivitou 7500 FIG–U g^{-1} , dodavatel: Merck KGaA)

enzym pepsin (s aktivitou 0.7 FIG–U g^{-1} , dodavatel: Merck KGaA)

enzym α -amyláza (dodavatel: ANKOM Technology)

H_2O_2 (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

H_2SO_4 (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

H_3BO_3 (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

HCl (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

KH_2PO_4 (dodavatel: PENTA, Ing. Petr Švec)

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (dodavatel: PENTA, Ing. Petr Švec)

Na_2SO_3 (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

$\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (katalyzátor v poměru 1:10)

NaOH (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

NDC: 120 g činidla + 20 ml triethylenglykolu (dodavatel: ANKOM Technology)

n-hexan (dodavatel: Ing. Petr Lukeš)

Tashiro indikátor

5.2 Použité přístroje a pomůcky

analytické váhy Kern AES A01

Ankom Fiber Analyzátor 220

automatický polarimetr P3001RS

Daisy^{II} Inkubátor, inkubační láhev

destilační zařízení Behr S2

extrakční baňky k přístroji Soxtherm Gerhardt

extraktor Soxtherm Gerhardt

filtrační sáčky F57

mineralizační jednotka Block Digest 12

muflové pece Veb Elektro Bad Frankenhausen a LaC-LMH 11/12

sonikační zařízení BANDELIN SONOREX RK 52H

stroj na sekání tuhých potravin ETA CENTRUM

sušárna Venticell 111 Comfort

tavící zařízení Impulce Sealer KF-200H

tyčový mixér Braun

varné hnízdo LTHS 250

varné kamínky

vodní lázeň GFL typ 1031

filtrační nálevky, filtrační papíry, extrakční patrony, drátěný držák, vata, hliníkové misky, kádinky, porcelánové kelímky,

odměrné baňky a další standardní vybavení laboratoře

5.3 Příprava vzorků

5.3.1 Suroviny

Lišejník islandský, zakoupen u firmy ATGREEN v množství 1 kg, byl rozdrcen pomocí sekačského mixéru a umístěn do tmavé plastové nádoby s víkem. Nádoba byla umístěna v klimatizované laboratoři při teplotě 23 ± 2 °C za nepřístupu světla.

Vejce, máslo, cukr moučky, hladká mouka, špaldová mouka, ovesná mouka, mouka z tmavého teffu, rýžová mouka, vanilinový cukr a sůl byly zakoupeny v běžné obchodní síti.

Suroviny pro müsli směsi byly zakoupeny v různých obchodních sítích od různých dodavatelů. Použité obilné i bezlepkové vločky byly převážně od firmy Countrylife, teffové vločky

byly značky Zdraví z přírody. Většina ovoce použité ve směsích byly sušené mrazem (jahoda a malina – firma Allnature; višně – firma Zdraví z přírody). Ostatní ovoce bylo sušenou jinak než mrazem (meruňky – firma IBK trade; švestky – firma Superfruit; dřišťál – Countrylife; goji, goldenberries (mochyně), brusinky – firma Lbros s.r.o). Mandle byly zakoupeny již nasekané, pistácie byly zakoupeny celé, neloupané, kešu a lískové ořechy byly zakoupeny celé. Pistácie, kešu a lískové ořechy byly před přidáním do směny nadrceny nožem na menší kousky. Lněné semínko a chia semínka byly od firmy Countrylife, slunečnicové semínko od firmy Zdraví z přírody. Jedlé květy byly zakoupeny u firmy Oxalis.

Všechny suroviny pro výrobu sušenek (stejně tak müsli směsí) byly skladovány v originálních obchodních baleních nebo byly uloženy do tmavých plastových dóz v klimatizované laboratoři při 23 ± 2 °C za nepřístupu světla. Máslo a vejce byly ihned spotřebovány nebo uloženy do lednice při teplotě do 8 °C.

5.3.2 Příprava sušenek se základní recepturou a lišejníkem

Pro práci byly připraveny 4 receptury sušenek, jednak v základní variantě (bez přídavku lišejníku islandského), a pak také s přídavkem lišejníku islandského. Receptury pro výrobu sušenek vycházely z užitého vzoru č. 33013 (UTB ve Zlíně, 2019). Podle recepturního složení vyobrazeného v tabulce č. 4 byla připravena základní těsta na výrobu sušenek. Varianty obsahující lepek zahrnovaly vzorky obsahující špaldovou mouku a ovesnou mouku. Bezlepkové varianty byly vyhotoveny z rýžové mouky a kombinací mouky z tmavého teffu spolu s rýžovou moukou. Všechny suroviny byly zakoupeny v obchodních sítích v baleních 400 – 1000 g.

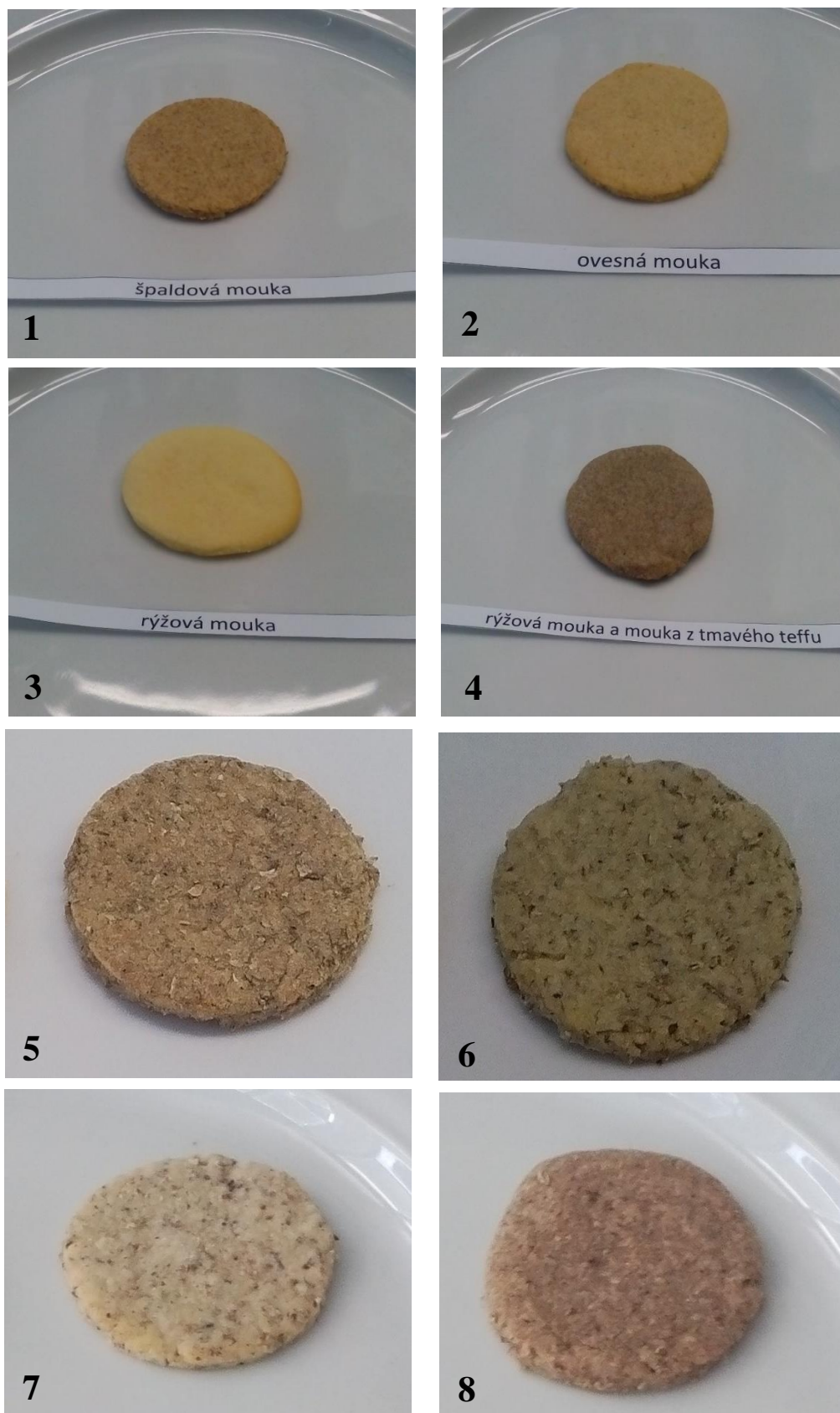
Máslo o pokojové teplotě bylo utřeno s cukrem. Poté byl přidán žloutek. Vedle v nádobě byly smíchány ostatní suché komponenty a následně byly pomocí vařečky vmíchány do směsi. Hotové těsto bylo dopracováno ručně a zabalené do potravinové folie bylo uloženo na 24 h do lednice při teplotě do 8 °C. Následující den bylo těsto vyváleno a byly vykrajovány sušenky o přibližné tloušťce 5 – 8 mm. Vykrojené sušenky byly před samotným pečením vloženy na 10 min do lednice při teplotě do 8 °C. Sušenky byly pečeny v horkovzdušné troubě při 175 °C po dobu 6 – 7 min. Po upečení byly sušenky nechány vychladnout při laboratorní teplotě. Po vychladnutí byly vzorky rozemlety tyčovým mixérem a uskladněny v tmavých PET lahvích v klimatizované laboratoři při 23 ± 2 °C.

Pro přípravu každé receptury sušenek s přidavkem lišejníku islandského bylo připraveno několik variant s různým množstvím přidavku lišejníku islandského. U varianty č. 1 a 2 byly zkoušeny přidavky 2, 5 a 10 g. U bezlepkových variant č. 3 a 4 byly vytvořeny 4 varianty – se 2, 5, 7 a 10 g přidavku lišejníku. Fotografie všech variant sušenek jsou uvedeny v Příloze II.

K analýze byl vybrán z každé varianty receptu nejvhodnější přídavek lišejníku islandského, kdy byla sensoricky posouzena konzistence, chuť a barva výsledné sušenky. U variant č. 1 a 2 byly dále analyzovány vzorky s přidavkem 10 g lišejníku islandského. U variant č. 3 a 4 byly vybrány vzorky se 7 g lišejníku islandského s přidavkem 0,1 % guarové gumy z důvodu lepší konzistence u bezlepkových variant. Rozpis jednotlivých receptur s přidavkem lišejníku islandského je zobrazen v tabulce č. 5. Fotografie vyhotovených sušenek vybraných k analýze jsou na obrázku 19.

Tabulka č. 4: Recepturní složení sušenek

1.		2.		3.		4.	
špaldové		ovesné		rýžové		tmavý teff a rýžové	
suroviny	[g]	suroviny	[g]	suroviny	[g]	suroviny	[g]
máslo	42,0	máslo	42,0	máslo	44,0	máslo	44,0
cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5
žloutek	12,0	žloutek	12,0	žloutek	12,0	žloutek	12,0
hladká mouka	12,4	hladká mouka	29,7	rýžová mouka hladká	71,0	mouka z tmavého teffu	21,2
špaldová mouka	56,6	ovesná mouka	39,3	vanilinový cukr	4,5	rýžová mouka	49,4
vanilinový cukr	4,5	vanilinový cukr	4,5	sůl	0,1	vanilinový cukr	4,5
sůl	0,1	sůl	0,1			sůl	0,1



Obrázek 19 Vyrobené sušenky: 1 – špaldová; 2 – ovesná; 3 – rýžová; 4 – rýžová a teffová; 5 – špaldová + 10 g LI; 6 – ovesná + 10 g LI; 7 – rýžová + 7 g LI; 8 – rýžová a teffová + 7 g LI (LI – lišejník islandský)

Tabulka č. 5: Recepturní složení sušenek s přidavkem lišejníku

1.		2.		3.		4.	
špaldové + 10 g LI ⁴		ovesné + 10 g LI		rýžové + 7 g LI		tmavý teff a rýžové + 7 g LI	
suroviny	[g]	suroviny	[g]	suroviny	[g]	suroviny	[g]
máslo	42,0	máslo	42,0	máslo	44,0	máslo	44,0
cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5	cukr moučka	22,5
žloutek	12,0	žloutek	12,0	žloutek	12,0	žloutek	12,0
hladká mouka	10,6	hladká mouka	25,4	rýžová mouka hladká	64	mouka z tmavého teffu	19,1
špaldová mouka	48,4	ovesná mouka	33,6	lišejník	7	rýžová mouka	44,5
lišejník	10	lišejník	10	vanilinový cukr	4,5	lišejník	7
vanilinový cukr	4,5	vanilinový cukr	4,5	sůl	0,1	vanilinový cukr	4,5
sůl	0,1	sůl	0,1	guarová guma	0,071	sůl	0,1
						guarová guma	0,071

LI – lišejník islandský

5.3.3 Příprava müsli směsí

Dále bylo navrženo osm müsli směsí s přidavkem lišejníku islandského, ze kterých byly vybrány dvě směsi obsahující lepek a dvě směsi bezlepkové. Při přípravě receptur se vycházelo z patentu č. 305620 (UTB ve Zlíně, 2017).

Z osmi namodelovaných müsli směsí byly vybrány k analýze celkem čtyři směsi. Konkrétně byly vybrány dvě směsi z bezlepkových surovin (č. 6 a 8) a 2 směsi obsahující lepek (č. 2 a 3). Všechny müsli směsi obsahovaly 5 % lišejníku islandského. Složení vybraných müsli směsí je zapsáno v tabulce č. 6 a 7. Obrázek č. 20 vyrobených müsli směsí je přiložen na následující straně. Složení vybraných müsli směsí je zapsáno v tabulce č. 6 a 7. Surovinová skladba a fotografie modelových müsli směsí, které nebyly vybrány k analýze, jsou uvedeny v Příloze III.

⁴ Zkr. LI = lišejník islandský

Tabulka č. 6: Složení müsli směsí s obsahem lepku

číslo varianty			
2		3	
surovina	podíl [g]	surovina	podíl [g]
žitné vločky	50	ječné vločky	70
kamutové vločky	20	lišejník islandský	5
lišejník islandský	5	květ růže	2
modrá chrpa	1,5	slunečnicové semínko	2
chia semínka	2,5	dýňové semínko	2
pistácie	3	lískový oříšek	5
meruňka	6	jablko	10
švestka	6	brusinka	4
goji	6		

Tabulka č. 7: Složení müsli směsí bez obsahu lepku

číslo varianty			
6		8	
surovina	podíl [g]	surovina	podíl [g]
quinoové vločky	50	vločky bílé quinoi	50
teffové vločky	20	vločky černé quinoi	20
lišejník islandský	5	lišejník islandský	5
květ levandule	0,5	květ vřesu	1,5
kešu oříšek	3	piniové oříšky	2
lněné semínko zlaté	2,5	dýňové semínko	3,5
meruňky	10	jablko	10
rybíz	5	jahoda	4
malina	4	mochyně	4



Obrázek 20 Vzorky müsli směsí: 1–vzorek č. 2; 2–vzorek č. 3; 3–vzorek č. 6; 4–vzorek č. 8

5.4 Stanovení vlhkosti

Stanovení vlhkosti u všech vzorků bylo provedeno podle normy ČSN EN ISO 712 (461014).

Na hliníkové misky, které byly předem vysušeny (130 °C po dobu 1 hodiny) a zváženy, bylo na každou misku naváženo 2 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 0,1 mg. Následně byly vzorky sušeny v sušárně při teplotě 130 °C po dobu 2 hodin. Poté byly vzorky přemísřeny do exikátoru. Po vychladnutí byly vzorky zváženy s přesností na 0,1 mg. Výsledek byl získán jako průměr ze tří stanovení.

Obsah vlhkosti jednotlivých vzorků v % byl vypočítán dle vzorce č. 1:

$$v = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (1)$$

kde: m_0 je hmotnost prázdné vysušené hliníkové misky [g],

m_1 je hmotnost hliníkové misky se vzorkem před vysušením [g],

m_2 je hmotnost hliníkové misky se vzorkem po vysušení [g].

Sušina vzorků v % byla následně vypočtena dle vzorce č. 2:

$$S = 100 - v \quad (2)$$

5.5 Stanovení popela

Obsah popela u všech vzorků bylo provedeno metodou spalování dle normy ČSN ISO 2171 (461019).

Do porcelánových kelímků, které byly předem vyžihány (550 °C po dobu 1 hodiny) a zvaženy, bylo naváženo 2 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 0,1 mg. Porcelánové kelímky se vzorkem byly následně páleny v peci při 550 °C po dobu 5,5 hodin. Poté byly kelímky se spáleným vzorkem schlazeny v exikátoru a zvaženy s přesností na 0,1 mg. Výsledek byl získán jako průměr ze tří stanovení.

Obsah popela jednotlivých vzorků v % byl vypočítán dle vzorce č. 3:

$$P = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (3)$$

kde: m_0 je hmotnost prázdného kelímku po vyžihání [g],

m_1 je hmotnost kelímku se vzorkem před spálením [g],

m_2 je hmotnost kelímku se vzorkem po spálení [g].

Obsah popela v sušině v % byla následně vypočtena dle vzorce č. 4:

$$P_S = \frac{P \times 100}{S} \quad (4)$$

kde: S je sušina vzorku [%].

5.6 Stanovení dusíkatých látek a přepočítání na obsah hrubé bílkoviny

Pro stanovení dusíkatých látek a pro následný přepočítání na obsah hrubé bílkoviny byla použita norma ČSN EN ISO 20483 (461401). Přepočítávací koeficient pro vzorky byl 6,25 (Příhoda a kol., 2003).

Do mineralizační baňky bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml koncentrované HCl, dále několik kapek H₂O₂ a zarovnaná lžička katalyzátoru

$\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (smíchaných v poměru 1:10). Obsah se nechal zmineralizovat na mineralizační jednotce Block Digest 12 při 400 °C po dobu 1 hodiny. Hotový mineralizát byl nechán vychladnout a byl převeden do odměrné baňky (25 ml) a následně doplněn po risku destilovanou vodou. Do destilační baňky bylo napipetováno 10 ml zmineralizovaného vzorku a 20 ml 30% roztoku NaOH. NH_3 uvolněný pomocí destilace byl jímán do titrační baňky s obsahem 2% roztoku H_3BO_3 . Do titrační baňky bylo následně přidáno několik kapek Tashiro indikátoru a roztok byl titrován roztokem H_2SO_4 o koncentraci $0,025 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ do stálého červenofialového zbarvení. Výsledek byl získán jako průměr ze čtyř stanovení.

Obsah hrubé bílkoviny v g byl vypočítán dle vzorce č. 5:

$$m_B = a \times 10^{-3} \times c \times M_N \times f_t \times f_z \times f_{př} \quad (5)$$

kde: a je spotřeba odměrného roztoku H_2SO_4 [ml],

c je přesná koncentrace odměrného roztoku H_2SO_4 ($c = 0,02416 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$),

M_N je molární hmotnost dusíku ($M_N = 14,04 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$),

f_t je titrační faktor ($f_t = 2$),

f_z je zředovací faktor ($25 \text{ ml}/10 \text{ ml} = 2,5$),

$f_{př}$ je přepočítávací faktor pro danou potravinu ($f_{př} = 6,25$).

Obsah hrubé bílkoviny v % byl poté vypočten ze vztahu č. 6:

$$B = \frac{m_B}{n} \times 100 \quad (6)$$

kde: n je přesná navážka vzorku [g].

Následně byl proveden přepočet obsahu hrubé bílkoviny v sušině v % podle vzorce č. 7:

$$B_S = \frac{B}{S} \times 100 \quad (7)$$

kde: S je sušina vzorku [%].

5.7 Stanovení celkových lipidů

Stanovení celkových lipidů bylo provedeno provozní metodou extrakce dle Soxhleta na ekstraktoru Soxtherm Gerhardt. Nepolární netěkavé látky byly ze vzorku odstraněny pomocí extrakčního rozpouštědla hexanu.

Do extrakční baňky byly vloženy 3 varné kamínky, baňky byly vysušeny a následně zváženy. Do papírové extrakční patrony bylo naváženo 3 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Vzorek byl převrstven kouskem vaty a spolu s držákem na patronu vložen do extrakční baňky. Do extrakční baňky bylo nalito 100 ml hexanu a baňky vloženy do zábrusu na přístroji Soxtherm. Byla spuštěna chladící voda a následně i program a přístroj Soxtherm podle přiloženého návodu. Samotná extrakce na přístroji trvala 2,5 hodiny. Po ukončení extrakce byl zbytek hexanu odpařen v digestoři a vzorky byly vloženy do sušárny na dobu 1 hodiny (za teploty 105 °C). Po zchlazení v exikátoru byla baňka s tukem zvážena a výsledek byl získán jako průměr ze tří stanovení (Svoboda a kol., 2009).

Obsah celkových lipidů u vzorků v % byl stanoven dle vzorce č. 8:

$$T = \frac{m_b - m_a}{n} \times 100 \quad (8)$$

kde: m_a je hmotnost prázdné extrakční baňky [g],

m_b je hmotnost extrakční baňky s tukem [g],

n je navážka vzorku [g].

Množství lipidů v sušině vyjádřené v % pak bylo vypočítáno podle vztahu č. 9:

$$T_s = \frac{T}{S} \times 100 \quad (9)$$

kde: S je sušina vzorku [%].

5.8 Stanovení škrobu

Stanovení škrobu bylo provedeno dle normy ČSN EN ISO 10520 (566120).

Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 5 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 0,1 mg. Ke vzorku bylo přidáno 25 ml zředěné HCl (pro obilný škrob 1,124 hmot. %). Směs byla promíchána a bylo přidáno dalších 25 ml zředěné HCl. Odměrné baňky byly vloženy do vodní lázně a nechaly se vařit po dobu 30 minut. Následně byly baňky vyjmuty z vroucí lázně, do každé baňky bylo přidáno dalších 20 ml zředěné HCl. Poté byly odměrné baňky schlazeny na laboratorní teplotu. Byly přidány 3 ml roztoku Carrez I. Směs byla důkladně promíchána a následně byly přidány 3 ml roztoku Carrez II. Směs byla opět důkladně promíchána a nechala se stát 5 minut. Z filtrátu byl na polarimetru změřen úhel otočení α při 20 °C. Výsledek byl získán jako průměr ze čtyř měření.

Obsah škrobu v % byl stanoven dle vzorce č. 10:

$$\check{S} = \frac{\alpha \times 100}{[\alpha]_{\lambda}^t \times l \times n} \times 100 \quad (10)$$

kde: l je délka polarimetrické trubice [1 dm],

n je navážka vzorku [g],

$[\alpha]_{\lambda}^t$ je specifická otáčivost při teplotě t a vlnové délce λ (pro obilný škrob = 183,3 °).

Následně byl vypočten obsah škrobu v sušině v % podle vztahu č. 11:

$$\check{S}_s = \frac{\check{S}}{s} \times 100 \quad (11)$$

kde: s je sušina vzorku [g].

5.9 Stanovení hrubé vlákniny

Obsah hrubé vlákniny ve vzorku byl stanoven jako zbytek po kyselé a alkalické úpravě vzorku, kdy dochází k oxidativně hydrolytické degradaci nativní celulózy. Filtrační sáček F57 byl předem zvážen s přesností na 0,1 mg, následně byl propraný v acetonu a odvětrán v digestoři. Do sáčku bylo naváženo 0,5 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Popsané sáčky se vzorkem a prázdný korekční sáček byly proprány v acetonu pro vyluhování tuku přítomného ve vzorcích. Poté byly sáčky odvětrány v digestoři a následně vloženy do zařízení Ankom Fiber analyzátor. Vzorky byly nejprve promývány v roztoku H_2SO_4 o koncentraci $0,1275 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ po dobu 45 minut při teplotě 100 °C. Poté byl roztok kyseliny vypuštěn a vzorky byly 3x promyty horkou (85 – 90 °C) destilovanou vodou po dobu 5 minut. Následovala alkalická hydrolyza pomocí roztoku NaOH o koncentraci $0,313 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ po dobu 45 minut při teplotě 100 °C. Poté byl roztok hydroxidu opět vypuštěn a vzorky byly opět 3x promývány horkou (85 – 90 °C) destilovanou vodou a následně studenou vodou po dobu 5 minut. Sáčky byly vyjmuty ze zařízení a pomocí filtračního papíru byly šetrně zbaveny přebytkem vody. Pak byly sáčky vloženy do acetonu na dobu 3 minut a následně se nechaly odvětrat v digestoři. Proprané vzorky byly vloženy do sušárny, kde byly sušeny po dobu 4 hodin při teplotě 105 °C. Vysušené sáčky byly vloženy do exikátoru, po ochladnutí byly zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg.

Sáčky byly vloženy do předem vyžíhaných a zvážených porcelánových kelímků s přesností na 0,1 mg. Následně byly vzorky spáleny v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5,5 hodin. Kelímky byly vloženy do exikátoru, kde byly zchlazeny a opět byly zváženy s přesností na 0,1 mg. Každý vzorek byl proveden ve 3 opakování (Sumczynski a kol., 2015).

Obsah hrubé vlákniny byl vypočten v % podle vzorce č. 12:

$$CF = \frac{(m_3 - m_1 \times c_1) - (m_4 - m_1 \times c_2)}{m_2} \times 100 \quad (12)$$

kde: m_1 je hmotnost prázdného sáčku [g],

m_2 je hmotnost navážky vzorku [g],

m_3 je hmotnost vysušeného vzorku po hydrolýze [g],

m_4 je hmotnost vzorku po spálení [g],

c_1 je hmotnost korekčního sáčku po hydrolýze [g],

c_2 je hmotnost korekčního sáčku po spálení [g].

Korekce hmotnosti byly vypočteny podle vzorců č. 13 a 14:

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (13)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (14)$$

kde: m_s je hmotnost vysušeného prázdného sáčku po hydrolýze [g],

m_p je hmotnost popela prázdného sáčku [g].

5.10 Stanovení neutrálně–detergentní vlákniny

K přesnějšímu určení obsahu vlákniny se používá stanovení neutrálně-detergentní vlákniny (NDF) v roztoku laurylsulfátu sodného, disodné soli etylendiamintetraoctové kyseliny, boritanu sodného, dihydrogenfosforečnanu sodného s přidavkem α -amylázy. Bylo připraveno neutrálně-detergentní činidlo (NDC) smícháním 120 g činidla a 20 ml trietylglykolu do objemu 2 l (pH 6,9 – 7,1). Dále byl připraven neutrálně-detergentní roztok (NDR) smíchá-

ním 2 l NDC, 20 g Na₂SO₃ a 4 ml α-amylázy. Filtrační sáček F57 byl předem zvážen s přesností na 0,1 mg, následně byl propraný v acetonu a odvětrán v digestoři. Do sáčku bylo naváženo 0,5 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Zatavené sáčky spolu s prázdným korekčním sáčkem byly vloženy do zařízení Ankom Fiber analyzátor. Do zařízení byl nalit NDR a vzorky se nechaly inkubovat při zapnutém míchání po dobu 75 minut při 100 °C. Po uplynutí příslušné doby byl NDR vypuštěn a vzorky byly 3x promyty horkou (85 – 90 °C) destilovanou vodou vždy s přídavkem α-amylázy po dobu 5 minut. Na závěr byl proveden proplach studenou destilovanou vodou. Následně byly sáčky vyjmuty a lehce vysušeny filtračním papírem. Vzorky byly umístěny na 3 minuty do acetonu, nechaly se odvětrat v digestoři a byly vloženy do sušárny, kde byly sušeny při 105 °C po dobu 4 hodin. Po vysušení byly vzorky vloženy do exikátoru a následně zváženy s přesností na 0,1 mg. Poté byly vzorky přemístěny do předem vyžíhaných a zvážených porcelánových kelímků a bylo provedeno spálení vzorků v muflové peci při 550 °C po dobu 5,5 hodin. Po opětovném ochlazení v exikátoru byly zváženy zbytky po spálení. Pro každý vzorek byly provedeny 3 opakování (Sumczynski a kol., 2015).

Podle vzorce č. 15 byla vypočtena neutrálně–detergentní vláknina v %:

$$NDF = \frac{(m_3 - m_1 \times c_1) - (m_4 - m_1 \times c_2)}{m_2} \times 100 \quad (15)$$

kde: m_1 je hmotnost prázdného sáčku [g],

m_2 je hmotnost navážky vzorku [g],

m_3 je hmotnost vysušeného vzorku [g],

m_4 je hmotnost vzorku po spálení [g],

c_1 je hmotnost korekčního sáčku po hydrolýze [g],

c_2 je hmotnost korekčního sáčku po spálení [g].

Korekce hmotnosti byly vypočteny podle vzorců č. 16 a 17:

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (16)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (17)$$

kde: m_s je hmotnost vysušeného prázdného sáčku po hydrolýze [g],

m_p je hmotnost popela prázdného sáčku [g].

5.11 Stanovení stravitelnosti

Pro stanovení stravitelnosti vzorků byla použita enzymaticko-gravimetrická metoda, ve které se používá kombinace hydrolýzy za přítomnosti pepsinu a pankreatinu metodou *in vitro*. Metoda je založena na simulaci pobytu tráveniny v prostředí gastrointestinálního traktu. Filtrační sáček F57 byl předem zvážen s přesností na 0,1 mg, následně byl propraný v acetonu a odvětrán v digestoři. Do sáčku bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Zatavené sáčky spolu s prázdným korekčním sáčkem byly vloženy do inkubační láhve. Do láhve bylo nalito 1,7 l roztoku HCl o koncentraci $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ s rozpuštěným pepsinem. Na 25 ks sáčků se vzorkem bylo použito 3 g enzymu pepsinu. Láhev spolu se vzorky byla vložena do inkubátoru Daisy^{II}. Inkubace probíhala za teploty $37 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 4 hodin. Po ukončení inkubace byly sáčky propláchnuty destilovanou vodou a následně byl do láhve nalit fosfátový pufr o pH 7,45. K přípravě fosfátového pufru bylo použito 3,09 g KH_2PO_4 , 32,49 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 2,64 g pankreatinu. Obsah láhve se nechal inkubovat v zařízení Daisy^{II} po dobu 24 hodin při $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Po inkubaci byla láhev vložena na 30 minut do sušárny, která byla vyhřátá na teplotu $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně byly sáčky se vzorky vyjmuty a propláchnuty ve studené destilované vodě, aby došlo k odstranění zmazovatělého škrobu. Poté byly vzorky sušeny v sušárně při $105 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 24 hodin. Po zchlazení v exsikátoru byly sáčky zváženy s přesností na 0,1 mg. Poté byly vzorky přemístěny do předem vyžíhaných a zvážených porcelánových kelímků a bylo provedeno spálení vzorků v muflové peci při $550 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 5,5 hodin. Po opětovném ochlazení v exsikátoru byly zváženy zbytky po spálení. Stravitelnost byla definována v % jako stravitelnost organické hmoty vzorku (OMD) a jako stravitelnost sušiny vzorku (DMD) (Sumczynski a kol., 2015).

Stravitelnost sušiny v % byla vypočtena podle vzorce č. 18:

$$DMD = 100 - \frac{100 \times DMR}{m_2 \times DM} \quad (18)$$

Hmotnost vzorku bez sáčku po inkubaci a vysušení byla vypočtena podle vztahu č. 19:

$$DMR = m_3 - m_1 \times c_1 \quad (19)$$

Obsah sušiny ve vzorku bylo vypočteno dle vztahu č. 20:

$$DM = \frac{S \times m_s}{100} \quad (20)$$

Hodnota stravitelnosti organické hmoty ve vzorku vyjádřená v % byla vypočtena dle vzorce č. 21:

$$OMD = 100 - \frac{100 \times (DMR - AR)}{m_2 \times DM \times OM} \quad (21)$$

Hmotnost popela vzorku byla vypočtena podle vztahu č. 22:

$$AR = m_4 - m_1 \times c_1 \quad (22)$$

Obsah organické hmoty v sušině vzorku byla vypočtena dle vzorce č. 23:

$$OM = \frac{S-P}{100} \quad (23)$$

kde: DMD je hodnota stravitelnosti sušiny [g],

DMR je hmotnost vzorku bez sáčku po inkubaci a vysušení [g],

DM je obsah sušiny ve vzorku [g],

OMD je hodnota stravitelnosti organické hmoty [%],

AR je hmotnost popela vzorku bez sáčku [g],

OM je obsah organické hmoty v sušině [g],

S je obsah sušiny ve vzorku [%],

P je obsah popela ve vzorku [%],

m_s je hmotnost vzorku potřebné pro stanovení sušiny [g],

m_1 je hmotnost prázdného sáčku [g],

m_2 je hmotnost navážky vzorku [g],

m_3 je hmotnost vysušeného vzorku po inkubaci [g],

m_4 je hmotnost vzorku po spálení [g],

c_1 je hmotnost korekčního sáčku po inkubaci [g],

c_2 je hmotnost korekčního sáčku po spálení [g].

Korekce hmotnosti byly vypočteny podle vzorců č. 24 a 25:

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (24)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (25)$$

kde: m_s je hmotnost vysušeného prázdného sáčku po inkubaci [g],

m_p je hmotnost popela prázdného sáčku [g].

5.12 Statistické zpracování výsledků

Pro statistické vyhodnocení odlehlých hodnot ze souboru dat byl použit Dean–Dixonův test. Dále byl použit parametrický Studentův t -test srovnávající rozdíl středních hodnot dvou nezávislých souborů. Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Byly porovnány získané výsledky nutriční analýzy u sušenek a müsli směsí s přidávkou lišejníku. Každá skupina výrobků (tj. sušenky a müsli směsi) byla porovnávána a diskutována odděleně. Samotná kapitola bude věnována i nutriční analýze samotného lišejníku islandského. Výsledky jsou zapsány jako střední hodnota jednotlivých stanovení spolu se směrodatnou odchylkou stanovení (SD).

6.1 Výsledky stanovení vybraných jakostních parametrů u sušenek

6.1.1 Výsledky stanovení vlhkosti

Stanovení vlhkosti sušenek bylo provedeno dle postupu popsáno v kapitole 5.4 a pro následný výpočet vlhkosti vzorků byly použity vzorce č. 1 a 2. Výsledky stanovení vlhkosti u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 8. Obsah vlhkosti v sušenkách se odvíjí od použitých surovin (mouka, vejce, máslo, cukr, lišejník). Největší vliv na výslednou vlhkost představovaly suroviny vejce a máslo. Všechny analyzované vzorky sušenek splňovaly požadavky dané vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 18/2020 Sb. v platném znění, kde je povolena vlhkost max. 15 %, a tím i definována min. hodnota sušiny výrobku 85 %. Obsah vlhkosti u všech vzorků se pohyboval od 4,28 po 5,47 %. Vlhkost je jedním ze zásadních parametrů jakosti potravin, které musí být sledovány. Při zvýšené vlhkosti u potravin existuje tendence rozvoje mikrobů a plísní, následně by mohlo docházet ke kontaminaci potravin mykotoxiny a k rozvoji oxidačního žluknutí a tím i způsobení nepoživatelnosti potravin.

Tabulka č. 8: Výsledky stanovení obsahu vlhkosti u vzorků sušenek

Vzorek	Vlhkost [%] ± SD
1. špaldové	4,99 ± 0,09 ^a
2. ovesné	4,28 ± 0,02 ^b
3. rýžové	5,02 ± 0,02 ^a
4. tmavý teff a rýžové	5,14 ± 0,07 ^a
5. špaldové + LI	4,78 ± 0,05 ^c
6. ovesné + LI	4,57 ± 0,07 ^b
7. rýžové + LI	4,61 ± 0,04 ^{b, c}
8. tmavý teff a rýžové + LI	5,47 ± 0,03 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský.

6.1.2 Výsledky stanovení obsahu popela

Stanovení popela v sušině u vzorků sušenek bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.5 a následně vypočteno dle vzorců č. 3 a 4. Výsledky stanovení popela v sušině u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 9. Množství popela ve vzorku odráží množství minerálních látek. Množství minerálních látek je opět ovlivněno surovinovou skladbou vzorku, kdy největší zastoupení minerálních látek obsahují použité mouky. Obsah popela se u vzorků pohyboval v rozmezí od 0,986 do 0,520 % vztaženo na sušinu. U většiny vzorků můžeme pozorovat, že s přidavkem lišejníku se obsah popela ve vzorcích snížil. Lze se domnívat, že to může být způsobeno tím, že mouka, která byla nahrazena lišejníkem, obsahovala více popela, resp. minerálních látek než samotný lišejník. U vzorků č. 2 a 6 nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly v obsahu popela. Z naměřených dat lze tedy vyvodit, že přidavek lišejníku islandského do sušenek má spíše negativní vliv na obsah minerálních látek a snižuje ho.

Tabulka č. 9: Výsledky stanovení obsahu popela v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	Popel v sušině [%] \pm SD
1. špaldové	0,986 \pm 0,012 ^a
2. ovesné	0,849 \pm 0,001 ^{b, c}
3. rýžové	0,610 \pm 0,030 ^d
4. tmavý teff a rýžové	0,826 \pm 0,021 ^b
5. špaldové + LI	0,913 \pm 0,036 ^c
6. ovesné + LI	0,847 \pm 0,052 ^{b, c}
7. rýžové + LI	0,520 \pm 0,037 ^d
8. tmavý teff a rýžové + LI	0,755 \pm 0,018 ^e

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský.

6.1.3 Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny

Stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.6 a následně vypočteno dle vzorců č. 5, 6 a 7. Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 10. Nejvýznamnější vliv na obsah hrubé bílkoviny ve vzorcích měl použitý druh mouky, popř. její množství. Obsah hrubé bílkoviny se pohyboval od 4,17 do 11,9 %. Nejvyšší obsah bílkovin (a to 11,9 %) byl naměřen u vzorku č. 1, kdy byla použita špaldová mouka, u které se obsah bílkovin pohybuje v rozmezí od 11 do 13 % (Marconi a kol., 2002). Přídavek lišejníku do sušenek měl za následek snížení obsahu hrubé bílkoviny. U sušenek, kde byly použity mouky s obsahem lepku, které obsahují více bílkovin, je trend poklesu mírnější než u bezlepkových sušenek. Obsah bílkovin v rýži se pohybuje okolo 9 % (Lasztity a Hidvégi, 1983). Z výsledků lze usoudit, že konkrétně lišejník islandský jako přísada bude negativně ovlivňovat obsah hrubé bílkoviny v požadované potravíně. Ztrátu bílkovin přídavkem lišejníku by bylo možné nahradit přídavkem proteinu, proteinových izolátů, výtažků apod., a tím zvýšit výživovou hodnotu sušenky. Nejnižší obsah bílkovin byl stanoven u vzorků, u kterých byla použita rýžová mouka spolu s přídavkem lišejníku.

Tabulka č. 10: Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	Hrubá bílkovina v sušině [%] ± SD
1. špaldové	11,9 ± 0,2 ^a
2. ovesné	9,55 ± 0,24 ^b
3. rýžové	5,08 ± 0,17 ^c
4. tmavý teff a rýžové	5,66 ± 0,09 ^c
5. špaldové + LI	9,46 ± 0,14 ^b
6. ovesné + LI	8,28 ± 0,10 ^d
7. rýžové + LI	4,17 ± 0,08 ^e
8. tmavý teff a rýžové + LI	5,30 ± 0,15 ^c

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský.

6.1.4 Výsledky stanovení obsahu lipidů

Stanovení obsahu lipidů v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.7 a následně vypočten dle vzorců č. 8 a 9. Výsledky stanovení obsahu lipidů v sušině u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 11. Původ lipidových látek ve vzorcích sušenek je z použitých surovin, předně z másla a menší množství z vaječného žloutku. Obsah lipidů se pohyboval v rozmezí od 25,4 do 28,2 %. Nejvyšší obsah lipidů byl stanoven u vzorku č. 2, kde byla použita ovesná mouka bez přídavku lišejníku. U všech vzorků lze předpokládat nižší oxidační stabilitu. Lipidické látky jsou citlivé na oxidační procesy, proto jsou oxidační reakce jedním z hlavních zdrojů zhoršování kvality během výroby, skladování, distribuce i finální přípravy potravin. I malé koncentrace (< 1 %) lipidů v potravině jsou náchylné k oxidaci, které jsou součástí souboru reakcí zvaných žluknutí. Mezi škodlivé změny způsobené touto reakcí patří nejen ztráta chuti nebo tvorba pachutě, ale také ztráta barvy, nutričních hodnot a hromadění sloučenin, které mohou být škodlivé pro zdraví spotřebitelů (Wąsowicz a kol., 2004). Přídavek lišejníku do sušenkového těsta na úkor mouky způsobil pokles v obsahu lipidů. Vzhledem k poměrně vysokému obsahu lipidů v sušenkách je potřeba dbát zvýšené opatrnosti při výběru obalu a následném skladování. Analyzované vzorky byly skladovány ve tmavých nádobách, bez přístupu vzduchu i světla, při laboratorní teplotě 23 °C po dobu max. 2 měsíců. Proto se u analyzovaných vzorků předpokládají minimální oxidační změny v průběhu analýz.

Tabulka č. 11: Výsledky stanovení obsahu lipidů v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	Lipidy v sušině [%] ± SD
1. špaldové	26,9 ± 0,1 ^a
2. ovesné	28,2 ± 0,1 ^b
3. rýžové	25,4 ± 0,1 ^c
4. tmavý teff a rýžové	25,4 ± 0,1 ^c
5. špaldové + LI	25,9 ± 0,1 ^d
6. ovesné + LI	27,3 ± 0,1 ^e
7. rýžové + LI	26,2 ± 0,1 ^f
8. tmavý teff a rýžové + LI	26,7 ± 0,2 ^{d,e}

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský.

6.1.5 Výsledky stanovení obsahu škrobu

Stanovení obsahu škrobu v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.8 a následně vypočteno dle vzorců č. 10 a 11. Výsledky stanovení obsahu škrobu v sušině jsou prezentovány v tabulce č. 12. Obsah škrobu ve vzorcích je jednoznačně ovlivněn použitou surovinou (především druhem mouky), ale také jejím hmotnostním zastoupením v receptuře. Obsah škrobu se pohyboval v širokém rozmezí, a to od 49,2 do 72,7 %. Široký rozptyl je dán použitím různých obilovin a mouk, kde je koncentrace škrobu různá. U rýžového zrna se obsah škrobů pohybuje mezi 60 – 75 % (Walter a kol., 2005), u ovesné mouky je obsah škrobů obvykle 67 – 74 % (Autio a Eliasson, 2009). U mouky z pšenice špaldy je obsah škrobu nižší, a to 55 – 66 % (Bojňanská a Francáková, 2002). Při nahrazení části mouky lišejníkem je možné pozorovat snížení obsahu škrobů u všech vzorků. Škrob má vliv na glykemický index potraviny, a tím i na uvolňování glukózy do krevního řečiště. Nízký glykemický index znamená, že z dané potraviny, která je přijata do trávicího traktu, se konkrétně glukóza uvolňuje do krve pomaleji, což má za následek menší kolísání glykémie. Snížení obsahu škrobu pomocí přídatku lišejníku má jistě pozitivní vliv na celkovou výživovou hodnotu potraviny.

Tabulka č. 12: Výsledky stanovení obsahu škrobu v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	Škrob v sušině [%] ± SD
1. špaldové	53,3 ± 0,1 ^a
2. ovesné	55,0 ± 0,2 ^b
3. rýžové	72,7 ± 0,2 ^c
4. tmavý teff a rýžové	70,0 ± 0,1 ^d
5. špaldové + LI	49,2 ± 0,2 ^e
6. ovesné + LI	50,3 ± 0,1 ^f
7. rýžové + LI	68,4 ± 0,4 ^g
8. tmavý teff a rýžové + LI	64,0 ± 0,5 ^h

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský.

6.1.6 Výsledky stanovení obsahu vlákniny

Vláknina je jedna z důležitých složek, které by tělo mělo v potravě přijímat. Pozitivní vlastnosti vlákniny zahrnují správné fungování střev, vazbu toxických látek a podporu jejich vylučování z těla. Obecně působí preventivně proti řadě civilizačních chorob. Mezi bohaté zdroje vlákniny řadíme ovoce, zeleninu, ovesné vločky, luštěniny a olejny.

Stanovení obsahu hrubé vlákniny v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.9 a následně byl její obsah vypočten dle vzorců č. 12 až 14. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny v sušině u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 13. Obsah hrubé vlákniny je dán obsahem nerozpustných polymerů, především celulózy a ligninu. Obsah hrubé vlákniny ve vzorcích se pohybuje od 0,35 až po 3,87 %. Široké rozpětí obsahu hrubé vlákniny je dané na základě použité suroviny, v našem případě hlavně na druhu použité mouky, která je hlavním zdrojem vlákniny. Ovesné vločky jsou výborným zdrojem vlákniny, která je zde obsažena v množství až 12 % (Manthey a kol., 1999). Lišejník obsahuje také nemalý podíl celulózy, v literatuře se uvádí její obsah až 3,9 % (Akbulut a Yildiz, 2010). Z výsledné analýzy obsahu hrubé vlákniny lze u všech vzorků s přidavkem lišejníku pozorovat snížení tohoto nutričního parametru. Tento jev je nejspíš způsoben tím, že ačkoliv lišejník obsahuje značné množství celulózy, toto množství nepostačí jako náhrada látek celulózového typu, které jsou obsaženy především v mouce.

Tabulka č. 13: Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	CF v sušině [%] ± SD
1. špaldové	1,79 ± 0,1 ^a
2. ovesné	2,18 ± 0,02 ^b
3. rýžové	2,59 ± 0,01 ^c
4. tmavý teff a rýžové	0,41 ± 0,01 ^d
5. špaldové + LI	0,35 ± 0,06 ^d
6. ovesné + LI	1,87 ± 0,12 ^e
7. rýžové + LI	1,15 ± 0,02 ^f
8. tmavý teff a rýžové + LI	0,59 ± 0,03 ^g

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský, CF – Crude fibre, hrubá vláknina.

Stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny v sušině u vzorků sušenek bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.10 a následně její množství vypočteno dle vzorce č. 15 až 17. Výsledky stanovení obsahu NDF v sušině u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 14. Oproti hrubé vláknině obsahuje komplex NDF kromě ligninu a celulózy i nerozpustné hemicelulózy. Dle Akbulut a Yildiz (2010), *Cetraria islandica* obsahuje hemicelulózy v množství až 25 %. Výsledky stanovení koncentrací NDF se pohybují v rozmezí 4,14 až 10,5 %. U většiny hodnot můžeme pozorovat zvýšení obsahu NDF spolu s přidavkem lišejníku. Z tohoto trendu vybočuje vzorek, u kterého byla použita ovesná mouka, kde došlo spolu s přidavkem lišejníku ke snížení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny. Nejnižší hodnota patří vzorku č. 4, což je sušenka vyrobená z mouky z tmavého teffu spolu s rýžovou moukou. U vzorku č. 8, což je verze vzorku č. 4 obohacena o lišejník, se obsah neutrálně-detergentní vlákniny zvýšil až na hodnotu 5,53 %. Množství hemicelulózy obsažené v lišejníku má tedy vliv na obohacení vzorku vlákninou.

Tabulka č. 14: Výsledky stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny v sušině u vzorků sušenek

Vzorek	NDF v sušině [%] ± SD
1. špaldové	9,38 ± 0,20 ^a
2. ovesné	10,5 ± 0,3 ^b
3. rýžové	4,36 ± 0,06 ^c
4. tmavý teff a rýžové	4,14 ± 0,16 ^c
5. špaldové + LI	9,46 ± 0,31 ^a
6. ovesné + LI	8,43 ± 0,23 ^d
7. rýžové + LI	6,08 ± 0,14 ^e
8. tmavý teff a rýžové + LI	5,53 ± 0,11 ^f

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písmennými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský, NDF – Neutral-detergent fibre, neutrálně-detergentní

6.1.7 Výsledky stanovení stravitelnosti

Stanovení stravitelnosti *in vitro* technikou u vzorků sušenek bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.11 a vyhodnoceno bylo dle vzorců č. 18 až 25. Výsledky stanovení OMD a DMD u sušenek jsou prezentovány v tabulce č. 15. Výsledky stravitelnosti sušiny (DMD)

nabývaly hodnot od 94,5 do 99,4 %. Vyšší hodnoty DMD byly změřeny pro základní receptury vzorků, s přidavkem lišejníku se DMD snížila. Hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD) se od hodnot stravitelnosti v sušině (DMD) lišily jen nepatrně. Stravitelnost je dána surovinou skladbou vzorků. Obecně na stravitelnost má vliv obsah vlákniny, škrobu a proteinů. Vyšší obsah vlákniny povětšinou hodnoty stravitelnosti snižuje, naopak čím více vzorek obsahuje škrobu a bílkovin tím se její hodnota zvyšuje. Na stravitelnost bude mít jistě vliv další řada faktorů jako zdravotní stav jedince, schopnost resorpce živin v přítomnosti látek snižující stravitelnost (př. taniny, kyselina fytoová, antinutrienty apod.) (Bohn a kol., 2017).

Tabulka č. 15: Výsledky stanovení OMD a DMD u vzorků sušenek

Vzorek	OMD [%] ± SD	DMD [%] ± SD
1. špaldové	97,8 ± 0,4 ^a	97,9 ± 0,4 ^a
2. ovesné	98,5 ± 0,2 ^a	98,4 ± 0,3 ^{a, b}
3. rýžové	99,4 ± 0,2 ^b	99,4 ± 0,2 ^c
4. tmavý teff a rýžové	98,2 ± 0,1 ^a	98,3 ± 0,1 ^{a, b}
5. špaldové + LI	94,5 ± 0,1 ^c	94,7 ± 0,1 ^d
6. ovesné + LI	94,9 ± 0,3 ^c	95,1 ± 0,3 ^{d, e}
7. rýžové + LI	97,8 ± 0,1 ^a	97,2 ± 0,5 ^{a, f}
8. tmavý teff a rýžové + LI	95,9 ± 0,3 ^d	96,1 ± 0,6 ^{e, f}

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$). LI – lišejník islandský, OMD – Organic matter digestibility, stravitelnost organické hmoty vzorku, DMD – Dry matter digestibility, stravitelnost sušiny vzorku.

6.2 Výsledky stanovení vybraných jakostních parametrů u finálních müsli směsí

6.2.1 Výsledky stanovení vlhkosti

Stanovení vlhkosti u müsli bylo provedeno dle postupu popsaného v kapitole 5.4 a pro následný výpočet vlhkosti vzorků byly použity vzorce č. 1 a 2. Výsledky stanovení vlhkosti u müsli směsí jsou prezentovány v tabulce č. 16. Obsah vlhkosti všech müsli směsí však nepřesáhl kritickou hodnotu 15 %, která je dána Vyhláškou Ministerstva zemědělství

č. 18/2020 Sb. v platném znění. Hodnoty vlhkosti müsli směsí se pohybují od 9,9 do 12,5 %. Výsledný obsah vlhkosti je dán surovinou skladbou každého vzorku, největší podíl na vlhkosti budou mít asi obilné vločky, které jsou zastoupeny v poměru 70 % v každé směsi. Druhou surovinou, která bude mít jistě vliv na obsah vlhkosti vzorků, bude ovoce převážně v lyofilizované podobě, které má vysokou schopnost vázat vzdušnou vlhkost, a které je ve směsích zastoupeno až z 19 %. V absolventské práci, která se zabývala analýzou bezpečkových müsli směsí s jedlými květy, bylo naměřeno rozmezí vlhkosti dost podobné, a to 9,4 až 12,8 % (Kostková, 2017). Zde samozřejmě nebyla u müsli směsí použita stejná surovinová skladba a její zastoupení. Jak již bylo zmíněno v diskuzi u sušenek, vlhkost je významným parametrem spojeným s procesy, které mohou probíhat například v průběhu skladování.

Tabulka č. 16: Výsledky stanovení obsahu vlhkosti u vzorků müsli směsí

Vzorek	Vlhkost [%] ± SD
1. müsli 2	12,5 ± 0,1 ^a
2. müsli 3	9,91 ± 0,10 ^b
3. müsli 6	11,4 ± 0,1 ^c
4. müsli 8	10,1 ± 0,2 ^b

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.2 Výsledky stanovení obsahu popela

Samotné výsledky stanovení jsou špatně porovnatelné, protože neexistuje podobná studie, která by se zabývala analýzou podobných netradičních müsli směsí. Proto zde bude diskuze zaměřena spíše na konkrétní komponenty směsí. Stanovení popela v sušině u müsli směsí bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.5 a obsah popela byl vypočten dle vzorců č. 3 a 4. Výsledky stanovení popela jsou prezentovány v tabulce č. 17. Množství popela, vypočítané o obsahu minerálních látek, je opět závislý na surovinové skladbě vzorku. Lze se domnívat, že největší zastoupení minerální látek bude pocházet především od použitých druhů vloček, které ve směsi tvoří 70% podíl. Nicméně, významnými zdroji budou i zástupci ovoce, oříšků a semínek. Obsah popela se u vzorků pohyboval v rozmezí od 1,28 do 2,43 % vztaženo na sušinu. Obsah popela je u bezpečkových müsli směsí nepatrně vyšší (jedná se o směsi 6 a 8), než u směsí s obsahem lepku. Quinoa, která je bohatá na minerální prvky, by

mohla mít signifikantní vliv na obsah popela u tohoto vzorku (Ruales a Nair, 1993). Toto tvrzení by ale bylo nezbytné podpořit přímo analýzou obsahu popele v rámci surovinové skladby.

Tabulka č. 17: Výsledky stanovení obsahu popela u vzorků müsli směsí

Vzorek	Popel v sušině [%] ± SD
1. müsli 2	2,01 ± 0,03 ^a
2. müsli 3	1,28 ± 0,01 ^b
3. müsli 6	2,39 ± 0,03 ^c
4. müsli 8	2,43 ± 0,04 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.3 Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny

Stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině vzorků müsli směsí bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.6 a bylo vypočteno dle vzorců 5 až 7. Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině jsou prezentovány v tabulce č. 18. Obsah hrubé bílkoviny se u analyzovaných vzorků pohyboval od 9,04 do 13,5 %. Müsli směs č. 3 vykazuje nejnižší koncentraci hrubé bílkoviny. Může to být dáno tím, že byl použit jenom jeden druh obilných vloček, konkrétně byly použity ječné vločky. Dle literatury se obsah bílkovin u ječmene pohybuje okolo 11 % vztaženo na sušinu (Oscarsson a kol., 1996), zatímco obsah bílkovin u quinoi (použita jako majoritní surovina u vzorků č. 6 a 8), se uvádí až 16,5 % (Kozioł, 1992). Z použitých obilných surovin lze právě quinou vyzvednout pro její vysoký obsah bílkovin. Obsah bílkovin v zrnech je možné ovlivnit hnojením plodin dusíkatými hnojivy.

Tabulka č. 18: Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny u vzorků müsli směsí

Vzorek	Bílkoviny v sušině [%] ± SD
1. müsli 2	9,87 ± 0,11 ^a
2. müsli 3	9,04 ± 0,10 ^b
3. müsli 6	12,0 ± 0,3 ^c
4. müsli 8	13,5 ± 0,2 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.4 Výsledek stanovení obsahu lipidů

Stanovení obsahu lipidů v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.7 a následně byl vypočten dle vzorců č. 8 a 9. Výsledky stanovení obsahu lipidů v sušině jsou prezentovány v tabulce č. 19. Obsah lipidů byl naměřen v rozmezí 3,13 až 8,83 %. Nejnižšího obsahu lipidů bylo dosaženo u vzorku müsli směsi č. 2, kde byly použity žitné a kamutové vločky, které nejsou bohaté na lipidické látky. Na druhé straně nejvyššího obsahu lipidů bylo dosaženo u vzorků, kde byla opět použita quinoa (vzorek č. 8), u které se uvádí obsah lipidů až 6,3 % (Kozioł, 1992). U vzorku č. 6, kde byla použita quinoa v kombinaci s teffovými vločkami lze pozorovat pokles v obsahu lipidů. U vzorků s vyšším obsahem lipidů je důležité dbát na správné skladování, aby nedocházelo k oxidaci lipidických látek a následně k znehodnocení potraviny, jak bylo uvedeno v případě sušenek, a to i přes jejich nižší obsah u směsí.

Tabulka č. 19: Výsledky stanovení obsahu lipidů u vzorků müsli směsí

Vzorek	Lipidy v sušině [%] \pm SD
1. müsli 2	3,13 \pm 0,06 ^a
2. müsli 3	6,17 \pm 0,06 ^b
3. müsli 6	6,24 \pm 0,05 ^c
4. müsli 8	8,83 \pm 0,07 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.5 Výsledky stanovení obsahu škrobu

Stanovení obsahu škrobu v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.8 a následně byly pro jeho výpočet použity vzorce č. 10 a 11. Výsledky stanovení obsahu škrobu v sušině u müsli směsí jsou prezentovány v tabulce č. 20. Obsah škrobu ve vzorcích je jednoznačně ovlivněn použitou surovinou, především druhem použitých vloček, které jsou ve směsích zastoupeny v podílu 70 %. Naměřené hodnoty pro obsah škrobu se u müsli pohybovaly od

72,7 do 86,1 %. Obsah škrobu u bezlepkových müsli směsí se může dle použitých surovin pohybovat i v rozmezí od 43,1 do 48,8 % (Kostková, 2017).

Tabulka č. 20: Výsledky stanovení obsahu škrobu u vzorků müsli směsí

Vzorek	Škrob v sušině [%] ± SD
1. müsli 2	75,6 ± 0,1 ^a
2. müsli 3	85,0 ± 0,2 ^b
3. müsli 6	86,1 ± 0,2 ^c
4. müsli 8	72,7 ± 0,2 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.6 Stanovení vlákniny

Stanovení obsahu hrubé vlákniny (CF) v sušině u vzorků müsli směsí bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.9 a využity byly k výpočtu vzorce č. 12 až 14. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny v sušině u müsli směsí jsou prezentovány v tabulce č. 21. Obsah hrubé vlákniny je dán obsahem nerozpustných polymerů ve vzorku, především celulózy a ligninu. Obsah hrubé vlákniny se u vzorků müsli směsí s pohyboval v rozpětí od 3,21 do 5,47 %. Opět můžeme pozorovat nejvyšší hodnotu obsahu hrubé vlákniny u vzorků č. 8 a 6, kde byla použita quinoa jako hlavní komponenta müsli směsi. U absolventské práce z UTB, která analyzovala netradiční bezlepkové müsli směsi, byl rozptýl hodnot obsahu hrubé vlákniny obdobný, a to 3,9 – 5,1 % (Kostková, 2017).

Tabulka č. 21: Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny u vzorků müsli směsí

Vzorek	CF v sušině [%] ± SD
1. müsli 2	3,34 ± 0,40 ^{a, b}
2. müsli 3	3,21 ± 0,01 ^a
3. müsli 6	3,60 ± 0,04 ^b
4. müsli 8	5,47 ± 0,06 ^c

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

Stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny (NDF) v sušině bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.10, k výpočtu byly použity vzorce č. 15 až 17. Výsledky stanovení obsahu NDF v sušině u müsli směsí jsou prezentovány v tabulce č. 22. Oproti hrubé vláknině obsahuje NDF, kromě ligninu a celulózy, i nerozpustné frakce hemicelulóz. Obsah NDF se ve vzorcích müsli pohybuje od 8,48 do 13,5 %. Nejvyšší hodnotu obsahu NDF má vzorek č. 2, který obsahoval žitné a kamutové vločky. Obsah NDF v kamutových vločkách byl stanoven na hodnotu 11,9 % (Havranová, 2010). Je možné, že i samotný lišejník islandský se na obsahu NDF podílel nemalou měrou. Obsah NDF v samotném lišejníku byl 31,5 % (kapitola 6.3). Všechny vzorky vykazovaly co do obsahu vlákniny statisticky významné rozdíly v jejich koncentracích.

Tabulka č. 22: Výsledky stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny u vzorků müsli směsí

Vzorek	NDF v sušině [%] ± SD
1. müsli 2	13,5 ± 0,2 ^a
2. müsli 3	8,82 ± 0,01 ^b
3. müsli 6	8,48 ± 0,05 ^c
4. müsli 8	9,93 ± 0,10 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.2.7 Stanovení stravitelnosti

Stanovení stravitelnosti bylo provedeno podle postupu v kapitole 5.11 a výsledek byl vypočten dle vzorců č. 18 až 25. Výsledky stanovení OMD a DMD u müsli směsí jsou prezentovány v tabulce č. 23. Výsledky stravitelnosti sušiny (DMD) nabývaly hodnot od 89,5 do 93,9 %. Hodnoty stravitelnosti DMD jsou v porovnání s netradičními bezlepkovými müsli směsmi nižší (Kostsková, 2017). Snížení stravitelnosti DMD může být způsobeno přidavkem lišejníku, u kterého je hodnota DMD 60,7 % (kapitola 6.3). Opět všechny vzorky v hodnotách stravitelnosti vykazují statisticky významné rozdíly.

Tabulka č. 23: Výsledky stanovení OMD a DMD u analyzovaných vzorků müsli směsí

Vzorek	OMD [%] ± SD	DMD [%] ± SD
1. müsli 2	87,9 ± 0,5 ^a	89,5 ± 0,5 ^a
2. müsli 3	93,2 ± 0,1 ^b	93,9 ± 0,1 ^b
3. müsli 6	91,1 ± 0,1 ^c	92,2 ± 0,2 ^c
4. müsli 8	90,1 ± 0,5 ^d	91,1 ± 0,5 ^d

Výsledky mající ve sloupci stejné písemné indexy, se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$). Výsledky lišící se mezi sebou písemnými indexy jsou statisticky odlišné ($P < 0,05$).

6.3 Stanovení vybraných parametrů u lišejníku islandského

Při nutriční analýze sušenek a müsli směsí s přidavkem lišejníku, byl analyzován i samotný lišejník islandský. Získané hodnoty analýz jsou uvedeny v tabulce č. 24.

Obsah popela u lišejníku byl stanoven 1,04 %. Ve starší literatuře se uvádí obsah popela až 2,2 % (Brown, 1898). Jeho obsah může být závislý také na oblasti, ze které lišejník pochází, což u naší suroviny uvedeno nebylo. Nízký obsah lipidů v lišejníku indikuje, že lišejník jako surovina by mohl být na vzduchu stálý, a nemusel by podléhat oxidativní reakci spojené se žluknutím. Lišejník obsahoval 0,76 % dusíkatých látek. Následný přepočítání na obsah hrubé bílkoviny nebylo možné provést z důvodu absence konkrétního přepočítávacího faktoru na obsah hrubé bílkoviny. Z aminokyselinového složení lze získat údaj o bílkovinném dusíku, který je nutno eliminovat od dusíku celkového, který byl stanoven dle Kjeldahla.

U analýzy obsahu hrubé vlákniny byla stanovena jeho hodnota koncentrace 3,37 %. V porovnání s literaturou, kde se uvádí obsah celulózy 3,9 %, je tato hodnota nepatrně nižší (Akbulut a Yildiz, 2010). Rozdíl mezi získaným výsledkem a literaturou může být způsoben použitím jiné metodiky na izolaci a stanovení hrubé vlákniny ve vzorku lišejníku a také rozdílností původu vzorku. Stanovení neutrálně-detergentní vlákniny v sobě zahrnuje kromě ligninu a celulózy i nerozpustné hemicelulózy. Obsah NDF v lišejníku byl stanoven na 31,5 %. V literatuře je uveden obsah samotných hemicelulóz 25,8 % (Akbulut a Yildiz, 2010), což by dle našeho měření odpovídalo koncentraci hemicelulóz 28,1 %. Nízká hodnota stravitelnosti sušiny (DMD) i organické hmoty (OMD) by mohla souviset hlavně s vysokým obsahem NDF v lišejníku.

Tabulka č. 24: Výsledky stanovení vybraných parametrů u lišejníku islandského

Parametr	[%]
sušina	91,8 ± 0,1
popel	1,04 ± 0,04
lipidy	1,31 ± 0,05
N-látky	0,76 ± 0,01
vláknina CF	3,37 ± 0,15
vláknina NDF	31,5 ± 0,1
OMD	57,5 ± 0,6
DMD	60,7 ± 0,5

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá potencionálním využitím lišejníku islandského jako netradiční suroviny potravin v oblasti cereálních technologií. V teoretické části byl popsán lišejník, včetně jeho složení i biologicky aktivních látek, které produkuje. V literatuře byly taktéž nalezeny informace, že lišejník islandský je již dlouhou dobu používán v lékařství.

V praktické části pak byly vyrobeny potraviny s přídavkem lišejníku islandského. Konkrétně byl lišejník přidán do sušenek a müsli směsí. Při tvorbě sušenek se postupovalo dle užitého vzoru. Kvůli přibývajícím lidem trpící celiakií byly dvě varianty sušenek vyrobeny z bezlepkových surovin a na zbylé dvě varianty byly použity suroviny s obsahem lepku. Při modelaci müsli směsí se vycházelo opět z užitého vzoru. Lišejník byl zde obsažen v poměru 5 % z celkové hmotnosti směsi. Müsli směsi byly provedeny opět ve dvou variantách: bezlepkové a s obsahem lepku.

Analýzou jakostních parametrů sušenek a müsli směsí s přídavkem lišejníku bylo zjištěno, že všechny vzorky splňovaly nezbytné legislativní požadavky. U sušenek je nezbytné upozornit, že vzhledem k vyššímu obsahu lipidů, je nutné dbát zvýšené opatrnosti při skladování, aby se zabránilo případnému žluknutí. Diplomová práce prozatím prokázala snížení obsahu škrobu a zvýšení podílu vlákniny, což jsou pozitivní vlivy z hlediska výživových doporučení.

Tato práce může sloužit jako podklad pro další, rozsáhlejší studie. Je taky nutno upozornit, že u sušenek s přídavkem lišejníku došlo k poklesu obsahu bílkovin. Tuto skutečnost lze napravit přídavkem proteinů. Také by se měl výzkum dále orientovat na obsah biologicky aktivních látek, na stanovení antioxidační aktivity, určitě by mohlo v budoucnu v recepturách dojít ke snížení obsahu lipidů apod. Lišejník islandský měl v minulosti široké uplatnění. Je škoda, aby se na léčivé látky pocházející z přírody zapomnělo. Snad se to podaří tuto problematiku prohloubit v dalších navazujících pracích, ať už diplomových či dizertačních.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Akbulut, G., Yildiz, A.** (2010). An Overview to Lichens: The Nutrient Composition of Some Species. *Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg*, 3(2):79–86.
- Alves, R. R., Rosa, I. M.** (2007). Biodiversity, traditional medicine and public health: where do they meet? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1), 14. doi:10.1186/1746–4269–3–14.
- Aspinall, G. O.** (1980). Chemistry of Cell Wall Polysaccharides. *Carbohydrates: Structure and Function*, 473–500. doi:10.1016/b978–0–12–675403–2.50018–1.
- Autio, K., Eliasson, A. Ch.** (2009). Oat starch. *Starch: Chemistry and Technology, Third Edition*. ISBN: 978-0-12-746275-2.
- Beautyland:** PURO zubní pasta aloe vera + islandské lišejníky [online]. Horní Suchá [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.beautyland.cz/zubni-pasty/puro-zubni-pasta-aloe-vera-islandske-lisejniky-75-ml/>.
- Bessadóttir, M., Egilsson, M., Einarsdóttir, E., Magnúsdóttir, I. H., Ógmundsdóttir, M. H., Ómarsdóttir, S., & Ógmundsdóttir, H. M.** (2012). Proton-Shuttling Lichen Compound Usnic Acid Affects Mitochondrial and Lysosomal Function in Cancer Cells. *PLoS ONE*, 7(12), e51296. doi:10.1371/journal.pone.0051296.
- Bessadóttir, M., Skúladóttir, E. Á., Gowan, S., Eccles, S., Ómarsdóttir, S., & Ógmundsdóttir, H. M.** (2014). Effects of anti-proliferative lichen metabolite, protolichesterinic acid on fatty acid synthase, cell signalling and drug response in breast cancer cells. *Phytomedicine*, 21(12), 1717–1724. doi:10.1016/j.phymed.2014.08.006
- Bielecki, R. L.** (1982). Sugar Alcohols. *Plant Carbohydrates I*, 158–192. doi:10.1007/978–3–642–68275–9_5.
- Bildagentur-online.** (2017). Iceland Moss, Cetraria Islandica [online]. FineArtAmerica. 2017 Dec 6 [cit. 5.10.2019]. Dostupné na: <https://fineartamerica.com/featured/iceland-moss-cetraria-islandica-bildagentur-online.html>.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D. Dupont, D.** (2017). Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1–23. doi:10.1080/10408398.2017.1315362.

Bojňanská, T., Frančáková, H. (2002). The use of spelt wheat (*Triticum spelta* L.) for baking applications. *ROSTLINNÁ VÝROBA*. 48, 2002 (4): 141–147.

Boustie, J., Galibet–Anne, M. D., Devehat, L., Chollet–Kluger, M., Tomasi, S. (2012) Paraconic acids as pigmentation activators. France. US 2012/0329868 A1. Uděleno 27. 12. 2012.

Brandão, L., Santos, N., Pereira, E., Silva, N., Cepa Matos, M. de F., Bogo, D., Honda, N. (2017). Effects of Fumarprotocetraric Acid, a Depsidone from the Lichen *Cladonia verticillaris*, on Tyrosinase Activity. *Orbital – The Electronic Journal of Chemistry*. 9. doi: 10.17807/orbital.v9i4.999.

Brown, E. W. (1898). Notes on *Cetraria Islandica* (Iceland moss). *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1(4), 455–460. doi:10.1152/ajplegacy.1898.1.4.455.

Bylinné kapky: Lišejník islandský – bylinné kapky (tinktura) [online]. Viničné Šumice [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.tinktura.eu/cs/pavlovy-bylinne-kapky-tinkury-z-lecivych-rostlin-bylin/2633-lisejnik-islandsky-bylinne-kapky-tinktura-50-ml-8592814051306.html>.

Campanella, L., Delfini, M., Ercole, P., Iacoangeli, A., Risuleo, G. (2002). Molecular characterization and action of usnic acid: a drug that inhibits proliferation of mouse polyomavirus *in vitro* and whose main target is RNA transcription. *Biochimie*, 84(4), 329–334. doi:10.1016/s0300–9084(02)01386–x.

Candan, M., Yılmaz, M., Tay, T., Kıvanç, M., Türk, H. (2006). Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Xanthoparmelia pokornyi* and its Gyrophoric and Stenosporic Acid Constituents. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 61(5–6), 319–323. doi:10.1515/znc–2006–5–603.

Cavallito, C. J., Fruehauf, D. M., Bailey, J. H. (1948). Lactone Aliphatic Acids as Antibacterial Agents. *Journal of the American Chemical Society*, 70(11), 3724–3726. doi:10.1021/ja01191a052.

Classification of Cetraria Ach. USDA Natural resources conservation service [online]. [cit. 2020–03–05]. Dostupné z: <https://plants.sc.egov.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=CETRA2&display=31>.

Cornell, S., Jickells, T., Cape, J., Rowland, A., Duce, R. (2003). Organic nitrogen deposition on land and coastal environments: a review of methods and data. *Atmospheric Environment*, 37(16), 2173–2191. doi:10.1016/s1352–2310(03)00133–x.

ČSN EN ISO 10520. Přírodní škrob: Stanovení obsahu škrobu – Ewersova polarimetrická metoda. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1999. Třídící znak 56 6120.

ČSN EN ISO 20483. Obiloviny a luštěniny – Stanovení obsahu dusíku a výpočet obsahu dusíkatých látek – Kjeldahlova metoda. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2014. Třídící znak 461401.

ČSN EN ISO 712. Obiloviny a výrobky z obilovin – Stanovení vlhkosti – Referenční metoda. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010. Třídící znak 461014.

ČSN ISO 2171. Obiloviny, luštěniny a výrobky z nich – Stanovení obsahu popela spalováním. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009. Třídící znak 461019.

Dahlman, L., Persson, J., Palmqvist, K., Näsholm, T. (2004). Organic and inorganic nitrogen uptake in lichens. *Planta*, 219(3). doi:10.1007/s00425–004–1247–0.

De Barros Alves, G. M., de Sousa Maia, M. B., de Souza Franco, E., Galvão, A. M., da Silva, T. G., Gomes, R. M., da Silva, N. H. (2014). Expectorant and antioxidant activities of purified fumarprotocetraric acid from *Cladonia verticillaris* lichen in mice. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 27(2), 139–143. doi:10.1016/j.pupt.2013.07.002.

Dr. Max: Dr. Weiss HerbalMed Hot Drink [online]. Brno [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.drmax.cz/herbalmed-hot-drink-dr-weiss-kasel-prudusky-180g>.

Dr. Müller Pharma: Anginal® ústní sprej s islandským lišejníkem [online]. Hradec Králové [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.muller-pharma.cz/eshop/anginal/1363351-anginal-sprej-s-islandskym-lisejnikem-p.html>.

Dr. Müller Pharma: Dr. Müller Müllerovy sirupy s islandským lišejníkem a vitamínem C [online]. Hradec Králové [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.muller-pharma.cz/eshop/mullerovy-sirupy/-99-p.html>.

Dr. Müller Pharma: Müllerovy pastilky® s islandským lišejníkem a vitamínem C [online]. Hradec Králové [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.muller-pharma.cz/eshop/mullerovy-pastilky/134-p.html>.

Dr. Popov: Průduškový čaj Islandský vánek® [online]. Planá [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.drpopov.cz/produkt/caj-islandsky-vanek-50-g-2/>.

Dudley, S. A., Lechowicz, M. J. (1987). Losses of Polyol through Leaching in Subarctic Lichens. *Plant physiology*, 83(4), 813–815. doi: 10.1104/pp.83.4.813.

ExHerbis: Lišejník islandský Ex Herbis 100 tb. [online]. Praha [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.exherbis.cz/Lisejnik-islandsky-Ex-Herbis-100-tb?tab=description#anch1>.

Giordani, P., Minganti, V., Brignole, D., Malaspina, P., Cornara, L., & Drava, G. (2017). Is there a risk of trace element contamination in herbal preparations? A test study on the lichen *Cetraria islandica*. *Chemosphere*, 181, 778–785. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.04.140.

Gorin, P. A. J., Barreto-Bergter, E. (1983). The Chemistry of Polysaccharides of Fungi and Lichens. *The Polysaccharides*, 365–409. doi:10.1016/b978-0-12-065602-8.50011-x.

Goyer, R. A. (1995). Nutrition and metal toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61 (3), 646–650. doi: 10.1093/ajcn/61.3.646S.

Hamilton, G. R., Baskett, T. F. (2000). In the arms of morpheus: the development of morphine for postoperative pain relief. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien D'anesthésie*, 47(4), 367–374. doi:10.1007/bf03020955.

Hansen, E. (2007). Lichens from Upernavik island, NW Greenland. *Willdenowia*. 37. doi: 10.3372/wi.37.37125.

Hauck, M., Huneck, S. (2007). The putative role of fumarprotocetraric acid in the manganese tolerance of the lichen *Lecanora conizaeoides*. *The Lichenologist*, 39(03), 301–304. doi:10.1017/s0024282907006664.

Havranová, M. (2010). Stanovení obsahu vlákniny ve vybraných druzích netradičních cetrarií [online]. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická.

Hawksworth, L., D., Hill, J., D. (1984). The Lichen-forming Fungi [online]. Glasgow & London: Blackie. 1984 Oct [cit. 5.10.2019]. Obrázek dostupný na: <http://premabotany.blogspot.com/2018/12/lichen-introduction-composition.html>.

Herbofit: HERBOFITKY s islandským lišejníkem a vitamínem C [online]. Brandýsek [cit. 2020-03-02]. Dostupné z: <https://www.herbofit.cz/produkty/usta-a-krk/herbofitky-s-islandskym-lisejnikem-a-vitaminem-c-36-ks.html>.

Honegger, R. (1991). Functional Aspects of the Lichen Symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42(1), 553–578. doi:10.1146/annurev.pp.42.060191.003005.

Honegger, R. (1993). Tansley Review No. 60. Developmental Biology of Lichens. *The New Phytologist*, 125(4), 659–677.

Huneck, S., Feige, G. B., Lumbsch, H. T. (1994). High performance liquid chromatographic analysis of aliphatic lichen acids. *Phytochemical Analysis*, 5(2), 57–60. doi:10.1002/pca.2800050203.

Chanda, N. B., Hirst, E. L., Manners, D. J. (1957). 375. A comparison of isolichenin and lichenin from Iceland moss (*Cetraria islandica*). *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1951. doi:10.1039/jr9570001951.

ChemSpider [online]. [cit. 2020-03-06]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/>.

Igoli, J., Gray, A., Clements, C., Kantheti, P., Singla, R. K. (2014). Antitrypanosomal Activity & Docking Studies Of Isolated Constituents From The Lichen *Cetraria Islandica*: Possibly Multifunctional Scaffolds. *Current topics in medicinal chemistry*. 14. doi: 10.2174/1568026614666140324122323.

Ingólfssdóttir, K. (2000). Bioactive compounds from Iceland moss. *Bioactive Carbohydrate Polymers*, 25–36. doi:10.1007/978-94-015-9572-8_3.

Ingólfssdóttir, K. (2002). Usnic acid. *Phytochemistry*, 61(7), 729–736. doi:10.1016/s0031-9422(02)00383-7.

Ingólfssdóttir, K., Hjalmarsdóttir, M. A., Sigurdsson, A., Gudjonsdóttir, G. A., Brynjólfssdóttir, A., Steingrímsson, O. (1997). *In vitro* susceptibility of *Helicobacter pylori* to protolichesterinic acid from the lichen *Cetraria islandica*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(1), 215–217. doi:10.1128/aac.41.1.215.

Ingólfssdóttir, K., Chung, G. A. C., Skúlason, V. G., Gissurarson, S. R., Vilhelmsdóttir, M. (1998). Antimycobacterial activity of lichen metabolites *in vitro*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 141–144. doi:10.1016/s0928-0987(97)00078-x.

Jirásek, S. (2014). *Cetraria islandica* (L.) Ach. - puklěčka islandská [online]. BioLib: Biological Library. 2014 04 21 [cit. 5.10.2019]. Dostupné na: <https://www.biolib.cz/cz/image/id260638/>.

Karunaratne, V., Bombuwela, K., Kathirgamanathar, S., Thadhani, V. M. (2005). Lichens: A Chemically Important Biota. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 33(3), 169–186. doi: 10.4038/jnsfsr.v33i3.2323.

Koparal, A. T., Ayaz T., B, Türk, H. (2006). *In vitro* cytotoxic activities of (+)–usnic acid and (–)–usnic acid on V79, A549, and human lymphocyte cells and their non–genotoxicity on human lymphocytes. *Natural Product Research*, 20(14), 1300–1307. doi:10.1080/14786410601101910.

Kosanić, M., Ranković, B., Stanojković, T., Rančić, A., Manojlović, N. (2014). *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anti-cancer agents. *LWT – Food Science and Technology*, 59(1), 518–525. doi:10.1016/j.lwt.2014.04.047.

Kostková, L. (2017). Příprava bezlepkových müsli směsí s jedlými květy a jejich nutriční analýza [online]. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická.

Kozioł, M. J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 5(1), 35–68. doi:10.1016/0889-1575(92)90006-6.

Kumar, S., Müller, K. (1999a). Lichen Metabolites. 1. Inhibitory Action Against Leukotriene B₄ Biosynthesis by a Non–Redox Mechanism. *Journal of Natural Products*, 62(6), 817–820. doi:10.1021/np9803777.

Kumar, S., Müller, K. (1999b). Lichen Metabolites. 2. Antiproliferative and Cytotoxic Activity of Gyrophoric, Usnic, and Diffractaic Acid on Human Keratinocyte Growth. *Journal of Natural Products*, 62(6), 821–823. doi:10.1021/np980378z.

Lasztity, R., Hidvégi, M. (1983). Amino acid composition and biological value of cereal proteins. doi: 10.1007/978-94-009-5307-9.

Lewis, D. H., Smith, D. C. (1967). Sugar Alcohols (polyols) in fungi and green plants. II. Methods of detection and quantitative estimation in plant extracts. *New Phytologist*, 66(2), 185–204. doi:10.1111/j.1469-8137.1967.tb05998.x.

Lichenin. (2019). In: Wikipedia, The free encyclopedia [online]. 2019 [cit. 2020-03-06]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lichenin>.

Lin, E. C. C. (1977). Glycerol Utilization and its Regulation in Mammals. *Annual Review of Biochemistry*, 46(1), 765–795. doi:10.1146/annurev.bi.46.070177.004001.

Lohézic–Le Dévéhat, F., Tomasi, S., Elix, J. A., Bernard, A., Rouaud, I., Uriac, P., Boustie, J. (2007). Stictic Acid Derivatives from the Lichen *Usnea articulata* and Their Antioxidant Activities. *Journal of Natural Products*, 70(7), 1218–1220. doi:10.1021/np070145k.

Luo, H., Yamamoto, Y., A Kim, J., Jung, J. S., Koh, Y. J., Hur, J.–S. (2009). Lecanoric acid, a secondary lichen substance with antioxidant properties from *Umbilicaria antarctica* in maritime Antarctica (King George Island). *Polar Biology*, 32(7), 1033–1040. doi:10.1007/s00300–009–0602–9.

Manthey, F. A., Hareland, G. A., Huseby, D. J. (1999). Soluble and Insoluble Dietary Fiber Content and Composition in Oat. *Cereal Chemistry Journal*. 76(3), 417–420. doi:10.1094/cchem.1999.76.3.417.

Marante, F. J. T., Castellano, A. G., Rosas, F. E., Aguiar, J. Q., Barrera, J. B. (2003). Identification and quantitation of allelochemicals from the lichen *Lethariella canariensis*: Phytotoxicity and antioxidative activity. *Journal of Chemical Ecology*, 29(9), 2049–2071. doi:10.1023/a:1025682318001.

Marconi, E., Carcea, M., Schiavone, M., Cubadda, R. (2002). Spelt (*Triticum spelta* L.) Pasta Quality: Combined Effect of Flour Properties and Drying Conditions. *Cereal Chemistry - CEREAL CHEM.* 79. doi: 10.1094/CCHEM.2002.79.5.634.

Mayne, S. T. (1996). Beta–carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal*, 10(7), 690–701. doi:10.1096/fasebj.10.7.8635686.

Meli, M. A., Desideri, D., Cantaluppi, C., Ceccotto, F., Feduzi, L., Roselli, C. (2018). Elemental and radiological characterization of commercial *Cetraria islandica* (L.) Acharius pharmaceutical and food supplementation products. *Science of The Total Environment*, 613–614, 1566–1572. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.08.320.

Melo, M. G. D. de, Araújo, A. A. de S., Serafini, M. R., Carvalho, L. F., Bezerra, M. S., Ramos, C. S., Quintans–Júnior, L. J. (2011). Anti–inflammatory and toxicity studies of

atranorin extracted from *Cladonia kalbii* Ahti in rodents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 861–872. doi:10.1590/s1984–82502011000400024.

Minganti, V., Drava, G., De Pellegrini, R., Modenesi, P., Malaspina, P., Giordani, P. (2014). Temporal trends (1981–2007) of trace and rare earth elements in the lichen *Cetraria islandica* (L.) Ach. from Italian herbaria. *Chemosphere*, 99, 180–185. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.067.

Mišić, M., Ranković, B., Sukdolak, S. (2008). Antimicrobial activity of fumarprotocetraric acid, lecanoric acid, protocetraric acid and stictic acid isolated from different species of lichen. *Planta Med.* 74. doi: 10.1055/s–0028–1084226.

Molnár, K., Farkas, E. (2010). Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 65(3–4), 157–173. doi:10.1515/znc–2010–3–401.

Moore, D., Alexopoulos C. J. Fungus. Encyclopædia Britannica. Encyclopædia Britannica, 2019 [cit. 2019–10–05]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fungus>.

Nash, T. H. (1996). Lichen Biology. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. ISBN 0521453682.

Neeraj, V., Behera, B., Parizadeh, H., Sharma, B. (2011). Bactericidal Activity of Some Lichen Secondary Compounds of *Cladonia ochrochlora*, *Parmotrema nilgherrensis* & *Parmotrema sancti–angelii*. *International Journal of Drug Development and Research*. 3. 222–232.

Nishanth, K. S., Sreerag, R. S., Deepa, I., Mohandas, C., Nambisan, B. (2014). Protocetraric acid: an excellent broad spectrum compound from the lichen *Usnea albopunctata* against medically important microbes. *Natural Product Research*, 29(6), 574–577. doi:10.1080/14786419.2014.953500.

Olafsdottir, E. S., Ingólfssdóttir, K. (2001). Polysaccharides from Lichens: Structural Characteristics and Biological Activity. *Planta Medica*, 67(3), 199–208. doi:10.1055/s–2001–12012.

Olafsdottir, E. S., Ingólfssdóttir, K., Barsett, H., Smestad Paulsen, B., Jurcic, K., Wagner, H. (1999). Immunologically active (1→3)–(1→4)– α -D-Glucan from *Cetraria islandica*. *Phytomedicine*, 6(1), 33–39. doi:10.1016/s0944–7113(99)80032–4.

- Oscarsson, M., Andersson, R., Salomonsson, A. C., Åman, P. (1996). Chemical Composition of Barley Samples Focusing on Dietary Fibre Components. *Journal of Cereal Science*, 24(2), 161–170. doi:10.1006/jcrs.1996.0049.
- Peat, S., Whelan, W. J., Roberts, J. G. (1957). 778. The structure of lichenin. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 3916. doi:10.1039/jr9570003916.
- Peat, S., Whelan, W. J., Turvey, J. R., Morgan, K. (1961). 125. The structure of isolichenin. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 623. doi:10.1039/jr9610000623.
- Plsíková, J., Stepankova, J., Kasparkova, J., Brabec, V., Backor, M., Kozurkova, M. (2014). Lichen secondary metabolites as DNA–interacting agents. *Toxicology in Vitro*, 28(2), 182–186. doi:10.1016/j.tiv.2013.11.003.
- Podterob, A. P. (2008). Chemical composition of lichens and their medical applications. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42(10), 582–588. doi:10.1007/s11094–009–0183–5.
- Pro zdraví: HerbalMed pastilky Dr. Weiss pro odkašlávání [online]. Chrudim [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.prozdravi.cz/herbalmed–pastilky–dr–weiss–pro–odkaslavani–24–pastilek–6–pastilek–zdarma.html>.
- Příhoda, J., Hrušková, M., Skřivan, P. (2003). Cereální chemie a technologie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-7080-530-7.
- Rabelo, T. K., Zeidán–Chuliá, F., Vasques, L. M., dos Santos, J. P. A., da Rocha, R. F., Pasquali, M. A. de B., Gelain, D. P. (2012). Redox characterization of usnic acid and its cytotoxic effect on human neuron–like cells (SH–SY5Y). *Toxicology in Vitro*, 26(2), 304–314. doi:10.1016/j.tiv.2011.12.003.
- Randlane, T., Saag, A. (2003). Taxonomic notes on some cetrarioid lichens. *Mycotaxon*, 87, 479–487.
- Ranković, B., Mišić, M., Sukdolak, S. (2007). The antimicrobial activity of substances derived from the lichens *Physcia aipolia*, *Umbilicaria polyphylla*, *Parmelia caperata* and *Hypogymnia physodes*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1239–1242. doi:10.1007/s11274–007–9580–7.
- Rao, D. N., Le–Blanc, F. (1965). A Possible Role of Atranorin in the Lichen Thallus. *The Bryologist*, 68(3), 284. doi:10.2307/3240598.

Ribitol. In: ChemSpider [online]. [cit. 2020-03-06]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10254628.html?rid=620542c3-0639-42be-8bc1-2e939e2a3909>.

Rice, T., Zannini, E., K. Arendt, E., Coffey, A. (2019). A review of polyols – biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–18. doi:10.1080/10408398.2019.1625859.

Richtmyer, N. K. (1970). The isolation of volemitol and other polyhydric alcohols from avocado seeds. *Carbohydrate Research*, 12(1), 135–138. doi:10.1016/s0008-6215(00)80234-7.

Robergs, R. A., Griffin, S. E. (1998). Glycerol. *Sports Medicine*, 26(3), 145–167. doi:10.2165/00007256-199826030-00002.

Ruales, J., Nair, B. M. (1993). Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Food Chemistry*. 48(2), 131–136. doi:10.1016/0308-8146(93)90047-j.

Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 279–291. doi:10.1007/s10295-003-0049-x.

Song, K., & Lee, J. K., Song, J. Y., Hong, S. G., Baek, H., Kim, S. Y., Hyun, H. H. (2002). Production of mannitol by a novel strain of *Candida magnoliae*. *Biotechnology Letters*. 24. 9–12. doi: 10.1023/A:1013824309263.

Stahl, W., Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351. doi:10.1016/s0098-2997(03)00030-x.

Studzińska-Sroka, E., Galanty, A., Bylka, W. (2017). Atranorin – An Interesting Lichen Secondary Metabolite. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 17. 1–1. doi: 10.2174/1389557517666170425105727.

Sumczynski, D., Bubelová, Z., Fišera, M. (2015). Determination of chemical, insoluble dietary fibre, neutral-detergent fibre and in vitro digestibility in rice types commercialized in Czech markets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 8–13. doi:10.1016/j.jfca.2014.12.007.

Svoboda, Z., Mikulíková, R., Běláková, S., Benešová, K., Nesvadba, Z. (2009). Stanovení obsahu lipidů a zastoupení mastných kyselin v obilkách ječmene a ve sladu: Stanovení obsahu lipidů. *Kvasný průmysl* [online]. Praha, 2009, 55(11-12), 315-320. ISSN 0023-5830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/pdfs/kpr/2009/11/03.pdf>.

Tay, T., Türk, A. Ö., Yilmaz, M., Türk, H., Kıvanç, M. (2004). Evaluation of the Anti-microbial Activity of the Acetone Extract of the Lichen *Ramalina farinacea* and its (+)-Usnic Acid, Norstictic Acid, and Protocetraric Acid Constituents. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 59(5–6), 384–388. doi:10.1515/znc-2004-5-617.

Tehler, A., Wedin, M. (2008). Systematics of lichenized fungi. *Lichen Biology 2nd ed.*, 336–352. doi: 10.1017/CBO9780511790478.018.

Thune, P. O., Solberg, Y. J. (1980). Photosensitivity and allergy to aromatic lichen acids, Compositae oleoresins and other plant substances. *Contact Dermatitis*, 6(1), 64–71. doi:10.1111/j.1600-0536.1980.tb03907.x.

Tomovic, J., Kosanić, M., Ranković, B., Vasiljević, P., Najman, S., Manojlovic, N. (2019). Phytochemical analysis and biological activity of extracts of lichen *Phyiscia semi-pinnata*: as a new source of pharmacologically active compounds. *Farmacia*, 67 (2). doi: 10.31925/farmacia.2019.2.21.

Türk, H., Yilmaz, M., Tay, T., Türk, A. Ö., Kıvanç, M. (2006). Antimicrobial Activity of Extracts of Chemical Races of the Lichen *Pseudevernia furfuracea* and their Physodic Acid, Chloroatranorin, Atranorin, and Olivetoric Acid Constituents. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 61(7–8), 499–507. doi:10.1515/znc-2006-7-806.

Umezawa, K., Matsushima, T., Sawa, T., Takeuchi, T., Hirono, I. (1984). Inhibition of tumor promotion by a lecanoric acid analogue. *Experientia*, 40(1), 100–101. doi:10.1007/bf01959125.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. (2017). Nutraceutická potravinářská směs. Vynálezci: Mlček J. a Sumczynski D. Česká republika. Patentový spis CZ 306520B6. 11. 1. 2017. Dostupné z: <http://spisy.upv.cz/Patents/FullDocuments/306/306520.pdf>.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. (2019). Směs na výrobu sušenek a trvanlivého pečiva s přísadkou nutraceutických surovin. Vynálezci: Sumczynski D., Šťastná K., Burešová I. A Kolářková T. Česká republika. Užité vzor 33013. 09. 04. 2019. Dostupné z: <https://isdv.upv.cz/webapp/lresdb.pta.frm>.

Valdemar Grešík – Natura s.r.o. [online]. Děčín [cit. 2020–02–26]. Dostupné z: <https://www.gresik.cz/byliny/byliny-sypane/361-lisejnik-islandsky/>.

Valdemar Grešík – Natura s.r.o. [online]. Děčín [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.gresik.cz/bonbony/bylinne-a-ovocne-bonbony-100-g/1856-lisejnik-islandsky/>.

Vitar: MaxiVita SeptAngin – lišejník islandský [online]. Zlín [cit. 2020–03–02]. Dostupné z: <https://www.vitar.cz/maxivita-septangin-lisejnik-islandsky/>.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 18/2020 Sb. - Vyhláška o požadavcích na mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta.

Walter, M., da Silva, L. P., Denardin, C. C. (2005). Rice and resistant starch: different content depending on chosen methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18(4), 279–285. doi:10.1016/j.jfca.2004.09.007.

Wąsowicz, E., Gramza, A., Hêœ, M., Jeleñ, H. H., Korczak, J., Malecka, M., Mildner-Szkodlarz, S., Rudziñska, M., Samotyja, U., Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* Vol. 13/54, SI 1, pp. 87–100.

Xu, M., Heidmarsson, S., Olafsdottir, E. S., Buonfiglio, R., Kogej, T., Omarsdottir, S. (2016). Secondary metabolites from cetrarioid lichens: Chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential. *Phytomedicine*, 23(5), 441–459. doi:10.1016/j.phy-med.2016.02.012.

Young, A. J., Lowe, G. M. (2001). Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 20–27. doi:10.1006/abbi.2000.2149.

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G. (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules*, 21(5), 559. doi:10.3390/molecules21050559.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMK	Aminokyselina/y
ČSN	Česká technická norma
CF	Crude Fiber – Hrubá vláknina
LI	Lišejník islandský (lat. <i>Cetraria islandica</i>)
DMD	Dry Matter Digestibility – Stravitelnost sušiny
NDČ	Neutrálně-detergentní činidlo
NDF	Neutral-Detergent Fiber – Neutrálně-detergentní vláknina
NDR	Neutrálně-detergentní roztok
OMD	Organic Matter Digestibility – Stravitelnost organické hmoty
SD	Směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Typy stélek u lišejníků	11
Obrázek 2 Vzhled lišejníku islandského (<i>Cetraria islandica</i>)	12
Obrázek 3 Lišejník islandský (<i>Cetraria islandica</i>)	13
Obrázek 4 Chemická struktura licheninu	16
Obrázek 5 Chemická struktura celulózy.....	17
Obrázek 6 Chemický vzorec ribitolu.....	18
Obrázek 7 Chemický vzorec glycerolu	18
Obrázek 8 Chemický vzorec mannitolu	19
Obrázek 9 Chemický vzorec volemitolu	19
Obrázek 10 Graf zastoupení AMK u vybraných druhů lišejníků.....	21
Obrázek 11 Chemický vzorec β -karotenu	22
Obrázek 12 Chemický vzorec protolichesterinové a lichesterinové kyseliny.....	23
Obrázek 13 Chemický vzorec gyroforové kyseliny	25
Obrázek 14 Chemický vzorec protocetratové kyseliny	25
Obrázek 15 Chemický vzorec fumaroprocetratové kyseliny	26
Obrázek 16 Chemický vzorec (-)-usnové a (+)-usnové kyseliny	27
Obrázek 17 Chemický vzorec atranorinu	28
Obrázek 18 Chemický vzorec kyseliny lekanorové	30
Obrázek 19 Vyrobené sušenky	41
Obrázek 20 Vzorky müsli směsí.....	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Základní rozdělení látek obsažených v lišejnících	14
Tabulka č. 2: Obsah polysacharidů u některých druhů lišejníků	15
Tabulka č. 3: Dusíkaté látky v lišejnících	20
Tabulka č. 4: Recepturní složení sušenek	40
Tabulka č. 5: Recepturní složení sušenek s přídavkem lišejníku	42
Tabulka č. 6: Složení müsli směsí s obsahem lepku	43
Tabulka č. 7: Složení müsli směsí bez obsahu lepku	43
Tabulka č. 8: Výsledky stanovení obsahu vlhkosti u vzorků sušenek	54
Tabulka č. 9: Výsledky stanovení obsahu popela v sušině u vzorků sušenek	55
Tabulka č. 10: Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny v sušině u vzorků sušenek	56
Tabulka č. 11: Výsledky stanovení obsahu lipidů v sušině u vzorků sušenek.....	57
Tabulka č. 12: Výsledky stanovení obsahu škrobu v sušině u vzorků sušenek	58
Tabulka č. 13: Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny v sušině u vzorků sušenek	59
Tabulka č. 14: Výsledky stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny v sušině u vzorků sušenek	60
Tabulka č. 15: Výsledky stanovení OMD a DMD u vzorků sušenek	61
Tabulka č. 16: Výsledky stanovení obsahu vlhkosti u vzorků müsli směsí	62
Tabulka č. 17: Výsledky stanovení obsahu popela u vzorků müsli směsí	63
Tabulka č. 18: Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny u vzorků müsli směsí	63
Tabulka č. 19: Výsledky stanovení obsahu lipidů u vzorků müsli směsí	64
Tabulka č. 20: Výsledky stanovení obsahu škrobu u vzorků müsli směsí.....	65
Tabulka č. 21: Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny u vzorků müsli směsí..	65
Tabulka č. 22: Výsledky stanovení obsahu neutrálně-detergentní vlákniny u vzorků müsli směsí.....	66
Tabulka č. 23: Výsledky stanovení OMD a DMD u analyzovaných vzorků müsli směsí.....	67
Tabulka č. 24: Výsledky stanovení vybraných parametrů u lišejníku islandského ..	68

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: PRODUKTY S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM

PŘÍLOHA P II: SUŠENKY S LIŠEJNÍKEM

PŘÍLOHA P III: MÜSLI SMĚSI S LIŠEJNÍKEM

PŘÍLOHA P I: PRODUKTY S LIŠEJNÍKEM ISLANDSKÝM



Obr. č. 1: Sušený lišejník islandský (Valdemar Grešik, [2020])



Obr. č. 2: Tabletky s lišejníkem islandským (ExHerbis, [2020])



Obr. č. 3: Horký nápoj s lišejníkem islandským (Dr. Max, [2020])



Obr. č. 4: Čaj s lišejníkem islandským (Dr. Popov, [2020])



Obr. č. 5: Lišejníkové pastilky od firmy Dr. Müller PHARMA (Dr. Müller Pharma, [2020])



Obr. č. 6: Lišejníkové pastilky od firmy Vitar (Vitar, [2020])



Obr. č. 7: Lišejníkové pastilky od firmy HERBOFIT (Herbofit, [2020])



Obr. č. 8: Lišejníkové pastilky od firmy Dr. Weiss (Pro zdraví, [2020])



Obr. č. 9: Ústní sprej s lišejníkem islandským (Dr. Müller Pharma, [2020])



Obr. č. 10: Bylinné kapky s lišejníkem islandským (Bylinné kapky, [2020])



Obr. č. 11: Dropsy s lišejníkem islandským (Valdemar Grešík, [2020])



Obr. č. 12: Zubní pasta s aloe vera a lišejníkem islandským (Beautyland, [2020])

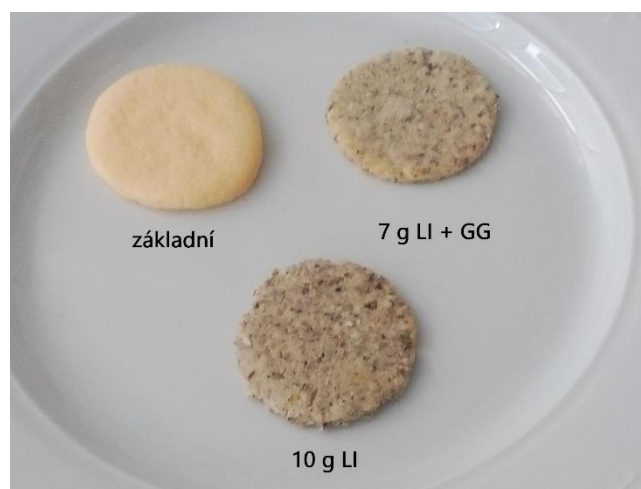
PŘÍLOHA P II: SUŠENKY S LIŠEJNÍKEM



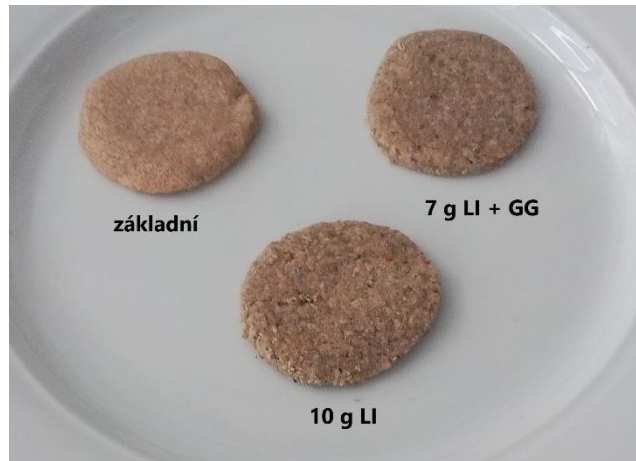
Obr. č. 1: Špaldové sušenky



Obr. č. 2: Ovesné sušenky



Obr. č. 3: Rýžové sušenky



Obr. č. 4: Sušenky z rýžové mouky a
z mouky z tmavého teffu

PŘÍLOHA P III: MÜSLI SMĚSI S LIŠEJNÍKEM

Surovinová skladba müsli směsi č. 1:

- ovesné vločky a vločky červené quino
- sušené maliny, černý rybíz a jablko
- květ slézu
- lněné semínko
- mandle
- lišejník islandský



Obr. č. 1: Müsli směs č. 1

Surovinová skladba müsli směsi č. 4:

- pšeničné vločky a ovesné vločky
- sušený dřívěš, jablko a jahoda
- květ chrpy
- dýňové semínko
- piniové oříšky
- lišejník islandský



Obr. č. 2: Müsli směs č. 4

Surovinová skladba müsli směsi č. 5:

- rýžové vločky a vločky černé quinoj
- sušená borůvka, višně a jablko
- květ měsíčku
- chia semínko
- mandle
- lišejník islandský



Obr. č. 3: Müsli směs č. 5

Surovinová skladba müsli směsi č. 7:

- jáhlové a pohankové vločky
- sušený dřívěš, brusinky a švestka
- květ chrpy červené
- chia semínko
- pistácie
- lišejník islandský



Obr. č. 4: Müsli směs č. 7