



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Dizertační práce

**BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY MOŘSKÝCH
A SLADKOVODNÍCH ŘAS**

**BIOACTIVE COMPOUNDS OF MARINE AND
FRESHWATER ALGAE**

Autor: **Ing. Mgr. Jarmila Vávra Ambrožová**

Studijní program: P2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: 2901V013 Technologie potravin

Školitel: doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

Konzultant: Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Zlín, 2016

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis**.

Publikace byla vydána v roce 2016.

Klíčová slova: *Řasy, sinice, lipidy, vitaminy, barviva, antioxidační aktivita, chemické prvky.*

Key words: *Algae, cyanobacterium, lipids, vitamins, pigments, antioxidant activity, chemical elements.*

Plná verze dizertační práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

Motto:

„Ostatní se dívali na věci, které jsou, a ptali se proč. Já viděl věci, které by mohly být, a ptal se proč ne.“

Pablo Picasso

Poděkování

Ráda bych poděkovala především svému školiteli doc. Ing. Miroslavu Fišerovi, CSc. a konzultantce Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D., za jejich odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi poskytovali po celou dobu doktorského studia.

Za poskytnutí vzorku mikrořasy *Chlorella* sp. patří poděkování Akademii věd České republiky, Ústav mikrobiologie, Sekce fototrofních mikroorganismů, Třeboň, Česká republika a Akademickému a Univerzitnímu Centru Nové Hrady, Ústav fyzikální biologie, Nové Hrady, Česká republika.

Zvláštní poděkování patří mé rodině, která mě podporovala a v neposlední řadě bych chtěla poděkovat všem dalším akademickým pracovníkům, kolegům, spolužákům a přátelům, kteří se přímo nebo nepřímo podíleli na tvorbě této práce.

Tato dizertační práce byla spolufinancována z projektů Interní grantové agentury Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně číslo IGA/14/FT/10/D, IGA/38/FT/12/D, IGA/FT/2013/017, IGA/FT/2014/011 a IGA/FT/2015/010.

ABSTRAKT

V současnosti jsou hledány alternativní zdroje výživy jak pro lidskou populaci, tak i pro hospodářská zvířata a velmi perspektivně se jeví řasy. Řasy jsou v dnešní době označovány za funkční potraviny. To znamená, že vyjma výživové hodnoty vykazují vybrané látky i zdraví prospěšné účinky. Je ale nutné zjistit, zda i komerčně dostupné produkty z řas a sinic obsahují dostatečné množství vybraných biologicky aktivních látek jako je tomu u řas čerstvých.

Doktorská práce sleduje stanovení vybraných biologicky aktivních látek sladkovodních a mořských řas s cílem zjistit jejich chemické složení. Po provedení veškerých analýz budou vybrány vhodné druhy sladkovodních a mořských řas dle jejich možného použití pro potravinářské účely.

ABSTRACT

Searching for alternative sources of nourishment for the human population as well as for livestock is a topical issue and algae appear to be a very promising one. Nowadays, algae are referred to as functional foods. This means that not only did they perform nutritional value of selected substances, but also have beneficial health effects. However, it is necessary to determine whether commercially available products made from algae contain a sufficient quantity of selected biologically active agents compared with fresh algae.

Ph.D. thesis deals with determination of selected biologically active substances of freshwater and marine algae to clarify their chemical composition. After analyzes being performed, appropriate species of freshwater and marine algae will be selected according to their potential use in the food industry.

OBSAH

1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY.....	14
1.1 Úvod.....	14
1.2 Obecná charakteristika sinic a řas.....	15
1.2.1 <i>Sinice</i>	15
1.2.2 <i>Řasy</i>	16
1.3 Chemické složení řas.....	17
1.3.1 <i>Polysacharidy, vláknina</i>	18
1.3.2 <i>Proteiny, aminokyseliny</i>	20
1.3.3 <i>Lipidy, mastné kyseliny</i>	20
1.3.4 <i>Minerální prvky</i>	21
1.3.5 <i>Vitaminy</i>	22
1.3.6 <i>Polyfenoly</i>	23
1.3.7 <i>Barviva</i>	24
1.4 Biologicky aktivní látky.....	25
1.5 Ostatní významné metabolity řas.....	26
1.5.1 <i>Lektiny</i>	26
1.5.2 <i>Mykosporinové deriváty aminokyselin</i>	27
1.5.3 <i>Halogenované sloučeniny</i>	27
1.6 Antioxidační aktivita.....	27
2. CÍLE PRÁCE	29
2.1 Dílčí cíle.....	29
3. ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ.....	30
3.1 Materiál a chemikálie.....	30
3.2 Vlastní metody stanovení.....	31
3.2.1 <i>Mikroskopické pozorování</i>	31
3.2.2 <i>Stanovení obsahu sušiny</i>	31
3.2.3 <i>Stanovení obsahu popela</i>	31

3.2.4	<i>Elementární analýza</i>	32
3.2.5	<i>Stanovení vybraných chemických prvků</i>	32
3.2.6	<i>Stanovení obsahu lipidů</i>	34
3.2.7	<i>Stanovení profilů mastných kyselin</i>	34
3.2.8	<i>Stanovení vybraných vitaminů</i>	35
3.2.9	<i>Stanovení celkového obsahu chlorofylu</i>	39
3.2.10	<i>Stanovení luteinu a fukoxantinu</i>	41
3.2.11	<i>Stanovení celkových flavonoidů</i>	41
3.2.12	<i>Stanovení škrobu</i>	42
3.2.13	<i>Stanovení antioxidační aktivity</i>	43
3.3	Statistické vyhodnocení získaných dat	45
4.	HLAVNÍ VÝSLEDKY PRÁCE	46
4.1	Mikroskopické pozorování	46
4.2	Stanovení sušiny, popela a elementárního složení	47
4.3	Stanovení vybraných chemických prvků	49
4.3.1	<i>Majoritní chemické prvky</i>	50
4.3.2	<i>Minoritní a stopové prvky</i>	54
4.3.3	<i>Toxické prvky</i>	55
4.4	Stanovení obsahu lipidů	57
4.5	Stanovení profilů mastných kyselin	59
4.5.1	<i>Nasyčené mastné kyseliny</i>	61
4.5.2	<i>Mononenasycené mastné kyseliny</i>	62
4.5.3	<i>Polynenasycené mastné kyseliny</i>	63
4.6	Stanovení vybraných vitaminů	70
4.6.1	<i>Stanovení β-karotenu</i>	71
4.6.2	<i>Stanovení vitaminů D₂ a E</i>	72
4.6.3	<i>Stanovení vitamínu C</i>	74
4.6.4	<i>Stanovení vitaminů skupiny B</i>	75
4.7	Stanovení celkového obsahu chlorofylu	77

4.8	Stanovení luteinu a fukoxantinu	79
4.9	Stanovení celkových flavonoidů.....	81
4.10	Stanovení škrobu.....	82
4.11	Stanovení antioxidační aktivity	84
4.11.1	<i>Stanovení antioxidační aktivity fotochemiluminiscenční metodou</i> .	85
4.11.2	<i>Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS a DPPH</i>	89
5.	PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI	93
6.	ZÁVĚR.....	95
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	98
	SEZNAM PUBLIKACÍ	116
	CURRICULUM VITAE	119

SEZNAM ILUSTRACÍ

<i>Obr. 4.1.1:</i>	<i>Spirulina platensis (S)</i>	46
<i>Obr. 4.1.2:</i>	<i>Chlorella pyrenoidosa (C)</i>	46
<i>Obr. 4.1.3:</i>	<i>Porphyra tenera (N)</i>	46
<i>Obr. 4.1.4:</i>	<i>Palmaria palmata (D)</i>	46
<i>Obr. 4.1.5:</i>	<i>Laminaria japonica (K)</i>	46
<i>Obr. 4.1.6:</i>	<i>Eisenia bicyclis (A)</i>	46
<i>Obr. 4.1.7:</i>	<i>Undaria pinnatifida (W)</i>	46
<i>Obr. 4.1.8:</i>	<i>Undaria pinnatifida (WI)</i>	46
<i>Obr. 4.1.9:</i>	<i>Hizikia fusiformis (H)</i>	47
<i>Obr. 4.5.1:</i>	<i>Procentuální zastoupení jednotlivých skupin FAs při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)</i>	60
<i>Obr. 4.5.2:</i>	<i>Procentuální zastoupení jednotlivých skupin FAs při extrakci hexanem</i>	60
<i>Obr. 4.5.3.1:</i>	<i>Zastoupení ω-3 a ω-6 FAs ve vzorcích řas při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)</i>	70
<i>Obr. 4.9.1:</i>	<i>Obsah celkových flavonoidů ve vzorcích řas v mg RE/100 g sušiny</i>	82
<i>Obr. 4.11.1.1:</i>	<i>Korelace mezi ACW^2 a obsahem vitamínu C, $P < 0,05$</i>	87
<i>Obr. 4.11.1.2:</i>	<i>Korelace mezi ACL^1 a obsahem vitamínu E, $P < 0,05$</i>	89
<i>Obr. 4.11.1.3:</i>	<i>Korelace mezi ACL^1 a obsahem β-karotenu, $P < 0,05$</i>	89
<i>Obr. 4.11.1.4:</i>	<i>Korelace mezi ACL^1 a obsahem celkových lipidů, $P < 0,05$</i>	89
<i>Obr. 4.11.2.1:</i>	<i>Korelace mezi AOA stanovenou metodou ABTS a DPPH, $P < 0,05$</i>	91

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1.3.1:</i>	<i>Výživové charakteristiky vybraných druhů jedlých řas v [%] sušiny</i>	<i>18</i>
<i>Tab. 3.1.1:</i>	<i>Použité vzorky řas a sinice a jejich charakteristika</i>	<i>30</i>
<i>Tab. 4.2.1:</i>	<i>Obsah sušiny a popela ve vzorcích řas [%]</i>	<i>48</i>
<i>Tab. 4.2.2:</i>	<i>Elementární složení vzorků řas v g/100 g popelu prosté sušiny</i>	<i>49</i>
<i>Tab. 4.3.1:</i>	<i>Obsahy majoritních chemických prvků v µg/100 g sušiny vzorku</i>	<i>51</i>
<i>Tab. 4.3.2:</i>	<i>Obsahy minoritních a stopových prvků v µg/100 g sušiny vzorku</i>	<i>51-52</i>
<i>Tab. 4.3.3:</i>	<i>Obsahy toxických prvků v µg/100 g sušiny vzorku</i>	<i>53</i>
<i>Tab. 4.4.1:</i>	<i>Obsah lipidů ve vzorcích řas v [%]</i>	<i>58</i>
<i>Tab. 4.5.1:</i>	<i>Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1) (rozpouštědlo I)</i>	<i>64-65</i>
<i>Tab. 4.5.2:</i>	<i>Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci hexanem (rozpouštědlo II)</i>	<i>66-67</i>
<i>Tab. 4.6.1:</i>	<i>Obsah β-karotenu, vitamínu D₂, E a C ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny</i>	<i>71</i>
<i>Tab. 4.6.4.1:</i>	<i>Obsah vitamínů skupiny B ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny</i>	<i>76</i>
<i>Tab. 4.7.1:</i>	<i>Obsahy celkových chlorofylů ve vzorcích řas stanovené rozdílnými metodami v mg/100 g sušiny</i>	<i>78</i>
<i>Tab. 4.8.1:</i>	<i>Obsah luteinu a fukoxantinu ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny</i>	<i>79</i>
<i>Tab. 4.10.1:</i>	<i>Obsah škrobu v produktech z řas v [%]</i>	<i>84</i>

<i>Tab. 4.11.1.1: Antioxidační aktivita ve vodě rozpustných látek po extrakci za použití vodní lázně s třepačkou a ultrazvukové lázně, vyjádřené jako $\mu\text{mol AAE/g}$ vzorku</i>	86
<i>Tab. 4.11.1.2: Antioxidační aktivita v tucích rozpustných látek po extrakci za použití vodní lázně s třepačkou a ultrazvukové lázně, vyjádřené jako $\mu\text{mol TE/g}$ vzorku</i>	88
<i>Tab. 4.11.2.1: Antioxidační aktivita stanovená metodou ABTS a DPPH v $\mu\text{mol TE/g}$ vzorku</i>	90

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AA	Askorbová kyselina
AAE	Ekvivalent kyseliny askorbové
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonát)
ACL	Antioxidační aktivita látek rozpustných v tucích
ACW	Antioxidační aktivita látek rozpustných ve vodě
ALA	Kyselina α -linolenová
AOA	Antioxidační aktivita
AV ČR	Akademie věd České republiky
ČSN	Česká technická norma
DAD	Detektor diodového pole
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EFA _s	Esenciální mastné kyseliny
FAME _s	Metylestery mastných kyselin
FAs	Mastné kyseliny
FID	Plamenově ionizační detektor
LA	Kyselina linolová
MAAs	Mykosporinové deriváty aminokyselin
MF	Mobilní fáze
MUFA _s	Mononenasyčené mastné kyseliny
PCL	Fotochemiluminiscenční metoda
PUFA _s	Polynenasycené mastné kyseliny
RE	Ekvivalent rutinu
r-H ₂ O	Redestilovaná voda
ROS	Reaktivní formy kyslíku
RP-HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzními fázemi

RPM	Otáčky za minutu
SFAs	Nasycené mastné kyseliny
TAA	Celková antioxidační aktivita
TE	Ekvivalent Troloxu
UV	Ultrafialové

1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

1.1 Úvod

V dnešní době jsou sladkovodní a mořské řasy z důvodu obsahu širokého spektra nutričních složek jako jsou proteiny, minerální prvky, polynenasycené mastné kyseliny, vitaminy a polysacharidy celosvětově využívány jako složka potravy, doplněk stravy a v neposlední řadě také jako zdroj mnoha biologicky aktivních látek ve farmacii [1-3]. Řasy jsou také obecně považovány za funkční potraviny. To znamená, že vyjma své výživové hodnoty vykazují i zdraví prospěšné účinky [4].

V současnosti jsou hledány alternativní zdroje výživy jak pro lidskou populaci, tak i pro hospodářská zvířata a velmi perspektivně se jeví řasy. Při zachování vhodných kultivačních podmínek dochází k rychlému nárůstu řasové biomasy, která obsahuje široké spektrum nutričních složek i biologicky aktivních látek [4]. Vysoký obsah různorodých biologicky aktivních látek byl dokumentován hlavně v čerstvých řasách, které jsou dostupné ve větší míře pouze v přímořských státech. Jejich obliba však stoupá i v zemích, kde je sortiment řas omezen na převážně sušené produkty z řas, jejichž chemické složení je analyzováno nedostatečně [5, 6]. V současné době se průmyslově využívá přibližně 221 druhů mořských řas, přičemž se jedná o 125 druhů řas červených, 64 druhů řas hnědých a 32 druhů řas zelených. Pro přímou přípravu potravin se z tohoto počtu používá 145 druhů, na výrobu hydrokoloidů je to 101 druhů a zbylé druhy jsou využívány v tradiční medicíně, kosmetice, zemědělství a v energetice [7].

Je nutné konstatovat, že studie zaměřující se na možnosti stanovení biologicky aktivních látek ve sladkovodních a mořských řasách již existují. Jen nepatrné procento z nich, se však zaměřuje na stanovení biologicky aktivních látek i v komerčně dostupných produktech z řas, a pokud se takové studie objeví, jsou pouze dílčí, neúplné a zaměřené na produkty, které jsou v rámci

českého trhu nedostupné [5, 8, 9]. Je známo, že čerstvé řasy jsou bohatým zdrojem polyfenolů [10-15], polynenasycených mastných kyselin [9, 16-18], esenciálních aminokyselin [9, 19, 20], minerálních látek [21-23] a jiných biologicky aktivních látek. Otázkou zůstává, zda je tomu tak i po sušení, zpracování, skladování a transportu řas, případně po jejich aplikaci do potravinářských produktů. Z hlediska výživy obyvatel států, kteří nemají přístup k moři, a tudíž i k čerstvým řasám, a kteří pravidelně konzumují produkty z řas v domnění, že se jedná o plnohodnotný ekvivalent řas čerstvých, je nutné zjistit, zda i komerčně dostupné produkty z řas a sinic obsahují srovnatelná množství a zastoupení vybraných biologicky aktivních látek.

1.2 Obecná charakteristika sinic a řas

Sinice i řasy jsou velmi heterogenní, převážně fotoautotrofní skupina rostlinných organismů s prokaryotní stavbou buňky u sinic a s eukaryotní stavbou buňky u řas. Jejich tělo není členěno na kořen, stonek a list, ale je tvořeno stélkou [24]. Řasy a sinice jsou z obecného hlediska děleny na makrořasy zahrnující červené, hnědé a zelené řasy a mikrořasy zahrnující sinice [25]. Celkový počet sinic a řas na Zemi je odhadován na přibližně 50 000 druhů, což tvoří asi 10 % veškerých druhů rostlin [25, 26].

1.2.1 Sinice

Cyanobakterie mají jednobuněčnou či vláknitou stélku, většinou mikroskopických rozměrů a nevyskytují se zde bičíkatá stádia [24, 27, 28]. Sinice se mohou vyskytovat jednotlivě nebo tvořit kolonie. Z vývojového hlediska nemají sinice přímou morfologickou návaznost na řasy, vyskytují se kosmopolitně a pro své zbarvení způsobené fykobiliny bývají často označovány jako modrozelené řasy. V nynější době je známo přes 2 700 druhů sinic, ale tato čísla nejsou konečná, protože jsou stále objevovány a popisovány

další druhy [24, 27]. Nejdůležitějším fotosyntetickým barvivem je chlorofyl *a* a přídatná barviva fykobiliny. Dále se zde nachází α i β -karoten a xantofyly. Zásobní látkou je sinicový škrob [24].

1.2.2 Řasy

Řasy jsou nejjednodušší rostlinné organizmy s eukaryotickou stavbou buňky. Jedná se o velmi pestrou a nejednotnou skupinu rostlin. Tělo řas je tvořeno jednobuněčnou nebo i mnohobuněčnou stélkou. Velikost jednotlivých řas se pohybuje od mikroskopických rozměrů u jednobuněčných řas (3 μm – 10 μm), neviditelných pouhým okem až po několik metrů dlouhé chaluhy (70 m) žijící v mořích [26]. Zástupci se liší kombinací fotosyntetických barviv, chemickým složením zásobních látek i buněčných stěn a submikroskopickou stavbou některých organel [27, 28]. Řasy tvoří tři vývojové větve, červenou, hnědou a zelenou, jejichž někteří zástupci jsou využíváni jako zdroj lidské potravy.

Hnědé řasy

Hnědé řasy se vyskytují většinou v mořích a brakických vodách a to v oblasti litorálu a sublitorálu do hloubky asi 50 m. Jejich rozměry se pohybují od několika centimetrů až po několik metrů dlouhé pletivné stélky. Buněčná stěna hnědých řas je tvořena fibrilární celulózní složkou a amorfni složkou (tj. alginové kyseliny a algináty). Tyto řasy obsahují fotosyntetická barviva především chlorofyl *a*, *c*, β -karoten, violaxantin a většinou fukoxantin, který je zodpovědný za hnědé zbarvení. Zásobní látkou je chrysolaminaran (β -1,3-glukan), mannitol a olej [24, 27].

Červené řasy

Ruduchy se vyskytují převážně v mořích v oblasti litorálu a sublitorálu a v menší míře ve sladkých vodách (přibližně 200 druhů). Ruduchy jsou

organizmy s jednobuněčnou, častěji mnohobuněčnou pletivnou a vláknitou stélkou bez bičíkatých forem. Buněčná stěna je tvořena submikroskopickými mikrofibrilami celulózy. Fotosyntetická barviva jsou uložena v tylakoidech a jsou to chlorofyl *a* a v menší míře chlorofyl *d*, α i β -karoten, zeaxantin a lutein. Fykokyanin a fykoeritrin jsou zodpovědní za červené zbarvení řas, barva ruduch se pohybuje od modrozelené až po červenou, dle poměrného zastoupení jednotlivých barviv. Zásobní látkou je florideový škrob (α -1,4-glukan) uložený ve formě zrn v cytoplazmě [24, 27, 29].

Zelené řasy

Zelené řasy patří mezi jedny z druhově nejbohatších a také nejrozšířenějších řas s vývojovými znaky vyšších rostlin. Buněčná stěna je složena z celulózních mikrofibril. Fotosyntetickými barvivy jsou chlorofyly *a*, *b*, α i β -karoten, lutein, zeaxantin, violaxantin aj. Zásobní látkou zelených řas je škrob a někdy například polyfosfátová zrna, mannan, xylan [24, 27].

1.3 Chemické složení řas

V dnešní době se sklizeň řas z volné přírody pomalu posouvá ke kontrolované kultivaci a produkci nových produktů s širokým uplatněním [25]. Největšími producenty řas jsou Čína, Francie a Velká Británie [7]. V roce 2002 dosáhla produkce řas 11,6 milionů tun s nejvyšším zastoupením druhů *Laminaria* sp. a *Porphyra tenera* [25].

Chemické složení řas je velmi variabilní a to i v rámci stejného druhu. Chemické složení řas je ovlivněno mnoha faktory, jako jsou druh řasy, jejich geografický výskyt, okolní klimatické podmínky [30], intenzita světla, roční období [31], chemizmus vody [30, 32], analyzovaná část rostliny [2, 33], doba sklizně [34] a jiné [2, 33]. V tabulce 1.3.1 je uvedeno nutriční složení vybraných druhů jedlých řas.

Tab. 1.3.1: Výživové charakteristiky vybraných druhů jedlých řas v [%] sušiny

	Popel	Vláknina	Proteiny	Lipidy	Reference
Sinice					
<i>Spirulina</i> sp.	7,3 – 14	3,7 – 9,5	57 – 69	6,4 – 14	[5, 35, 36]
Zelené řasy					
<i>Chlorella</i> sp.	1,5 – 20	13	56	2 – 22	[5, 35, 37, 38]
Hnědé řasy					
<i>Laminaria</i> sp.	15 – 45	36 – 37	3 – 21	0,3 – 2,9	[2, 9, 39]
<i>Undaria pinnatifida</i>	26 – 40	16 – 51	11 – 24	1,0 – 4,5	[2, 7, 9, 40]
<i>Eisenia</i> sp.	9,7 – 29	4,3 – 75	5,5 – 12	0,1 – 0,7	[7, 34]
<i>Hizikia fusiformis</i>	20 – 26	49 – 62	10	0,7 – 1,4	[5, 9, 35, 41]
Červené řasy					
<i>Porphyra</i> sp.	7 – 21	12 – 49	24 – 50	0,7 – 2,8	[2, 7, 9, 40]
<i>Palmaria palmata</i>	12 – 37	29 – 46	8 – 35	0,2 – 3,8	[2, 7]

1.3.1 Polysacharidy, vláknina

Základní funkcí polysacharidů je jejich stavební úloha jako složka buněčné stěny a dále zásobní jako zdroj energie. Strukturní polysacharidy řas lze považovat za dobrý zdroj vlákniny a také se hojně využívají jako hydrokoloidy (algináty hnědých řas, karagenany a agar červených řas), kdy více jak 1 milion tun mořských řas je ročně extrahován za tímto účelem [25, 42]. Méně zastoupené polysacharidy se nacházejí v buněčné stěně a jsou to fukoidany hnědých řas, xylany červených a zelených řas a ulvany řas zelených. Řasy obsahují také zásobní polysacharidy, především laminaran (β -1,3-glukan) v hnědých mořských řasách a florideový škrob v červených mořských řasách.

Mořské řasy obsahují velké množství polysacharidů (např. agary, karagenany, fukoidany a ulvany), k jejichž trávení neprodukuje lidské tělo potřebné enzymy, a proto mohou být označeny za vlákninu [43]. Vláknina může tvořit

25 % až 75 % sušiny mořských řas [41]. Pro porovnání čočka obsahuje asi 8,9 g celkové vlákniny/100 g vzorku. Při předpokládaném příjmu 8 g řasy denně jsou řasy schopny pokrýt až 12,5 % denní potřeby vlákniny. Právě množství 8 g sušené řasy je průměrnou denní porcí konzumovanou v asijských zemích [6]. Významný je zejména obsah rozpustné vlákniny, která tvoří 50 % až 80 % z celkového obsahu vlákniny, kdy u červených řas je složena především ze sulfátovaných galaktanů jako agar a karagenany. V hnědých řasách jsou rozpustnou vlákninou algináty, fukany a laminarany [43]. Mezi nerozpustnou frakci řasové vlákniny je řazena celulóza, mannan, xylan a další. Vláknina ve vodě rozpustná a nerozpustná má odlišné fyziologické účinky. Mnoho rozpustných polysacharidů vykazuje vliv na snižování cholesterolu, hladiny krevního cukru, výskytu rakoviny tlustého střeva, kardiovaskulárních onemocnění a obezity [3]. Naopak nerozpustná vláknina snižuje dobu průchodu tráveniny zažívacím traktem [39].

Polysacharidy řas vykazují antioxidační, protivirovou a protisrážlivou aktivitu a také protinádorové účinky při testech *in vitro*, ale i při aplikacích na nádory u myši [4]. Bylo dokázáno, že se vzrůstajícím počtem sulfátových skupin v molekule fukoidanu roste protinádorová i protiangiogenní aktivita. Fukoidany navíc vykazují protisrážlivé, protirakovinné a protizánětlivé účinky [39]. A dále také protivirovou aktivitu proti herpes viru I [4]. Obecně polysacharidy s antivirovou aktivitou vykazují velmi nízkou cytotoxicitu vůči savčím buňkám [29, 39, 41].

I přes zdraví prospěšné účinky polysacharidů řas, jejich hlavní využití stále spočívá jako zdroj hydrokoloidů využívaných v potravinářském a kosmetickém průmyslu a v medicíně jako kultivační médium agar [25, 29].

1.3.2 Proteiny, aminokyseliny

Zastoupení proteinů v mořských řasách je značně závislé na druhu. Obecně je nejnižší u hnědých řas (3 % – 15 % sušiny) v porovnání se zelenými a červenými řasami, které obsahují 10 % – 30 % proteinů v sušině. Například u červených řas *Palmaria palmata* a *Porphyra tenera* mohou proteiny tvořit až 35 % – 47 % sušiny, což je srovnatelný obsah proteinů jako v sójových bobech [2, 20, 39].

Řasy obsahují esenciální aminokyseliny, jejichž koncentrace se ale v průběhu celého roku mění. Kromě toho, obsah esenciálních aminokyselin je u některých druhů červených řas srovnatelný s obsahem esenciálních aminokyselin u vajec či sójových bobů [2, 9]. Řasy jsou také bohatým zdrojem kyselých aminokyselin, jako kyselina glutamová a asparagová. Ale podle některých výzkumů je tento obsah kyselých aminokyselin nižší u vývojové větve červených řas než u ostatních vývojových větví řas [2, 44]. Limitujícími aminokyselinami v řasách jsou treonin, lyzin, tryptofan, cystein, metionin a histidin. Aminokyselinové skóre u proteinů mořských řas, které slouží pro hodnocení jejich výživové hodnoty, se pohybuje v rozmezí 60 – 100 [2, 20].

Stravitelnost řasových proteinů se liší v závislosti na druhu řasy, ale také na použité metodě. Např. *in vitro* metodou byla stanovena stravitelnost u řasy *Porphyra tenera* 78 % a u druhu *Undaria pinnatifida* až 87 % [2, 45].

1.3.3 Lipidy, mastné kyseliny

Obsah lipidů v řasách je zastoupen obvykle v rozmezí od 1 % do 6 % [9, 46]. Na druhou stranu obsah lipidů, například u sladkovodní zelené řasy *Chlorella* sp., se může pohybovat od 2 % až do 22 % [38]. Navzdory relativně nízkému obsahu lipidů řasy vykazují pozoruhodné zastoupení polynenasycených mastných kyselin ω -3 a ω -6 [9, 40, 46]. Lidský organizmus je schopen si syntetizovat nasycené a mononenasycené mastné kyseliny, ale kyseliny

polynenasycené s první dvojnou vazbou na třetím nebo šestém atomu uhlíku počítáno od metylového konce jsou esenciální, protože nemohou být člověkem syntetizovány. Polynenasycené mastné kyseliny mohou tvořit až 50 % z celkových lipidů a slouží jako prevence kardiovaskulárních onemocnění, osteoartritidy a diabetu [47, 48]. Zelené řasy obsahují nejvíce kyseliny α -linolenové, hnědé a červené řasy jsou bohaté na kyselinu eikosapentaenovou a arachidonovou. Sinice obsahují až 25 % kyseliny γ -linolenové z celkových lipidů [39, 48].

Řasy jsou považovány za primární producenty ω -3 polynenasycených mastných kyselin a jediné rostlinné producenty kyseliny eikosapentaenové [25]. Přeměna ω -3 mastných kyselin v organismu začíná přeměnou kyseliny α -linolenové na kyselinu eikosapentaenovou a dokosahexaenovou. V organismu je ale míra přeměny kyseliny α -linolenové v kyselinu eikosapentaenovou malá a dosahuje asi jen 20% účinnosti. Eikosanoidy vzniklé z ω -6 mastných kyselin mají prozánětlivé a protrombické účinky, naopak eikosanoidy vzniklé z ω -3 mastných kyselin působí opačným účinkem. Nepříliš účinná přeměna ω -3 mastných kyselin je navíc ovlivňována estrogy, věkem a nadměrnou konzumací ω -6 mastných kyselin, proto je vhodné přijímat kyselinu eikosapentaenovou především z potravy, konzumací ryb či řas. Ty jsou bohatým zdrojem této kyseliny, i když u ryb nedochází k syntéze kyseliny eikosapentaenové *de novo*, ale získávají ji z konzumace mořských mikroorganismů (např. fytoplanktonu) [1, 48].

1.3.4 Minerální prvky

Řasy mají velkou schopnost akumulovat z životního prostředí minerální prvky a jsou významným zdrojem těchto látek, které mohou tvořit až 36 % sušiny. Pro vysoký obsah jodu jsou hnědé řasy tradičně používány na léčbu onemocnění štítné žlázy, především rody *Fucus* a *Laminaria* [39].

Řasy jsou také důležitým rostlinným zdrojem vápníku, jehož obsah může tvořit 7 % – 34 % sušiny. V závislosti na vyšším obsahu vápníku jsou řasy vhodné ke konzumaci pro děti, těhotné ženy, adolescenty a starší lidi, kteří jsou nejčastěji vystaveni riziku nedostatku vápníku. I když řasy obsahují vysoké koncentrace minerálních látek, vazbou některých minerálních prvků na aniontové polysacharidy, například algináty, může docházet ke snížení jejich využitelnosti [39].

Železo a měď mohou být v řasách přítomny v mnohem vyšších koncentracích, než například ve špenátu nebo mase. Pro ilustraci 8 g sušené řasy *Palmaria palmata* obsahuje více železa (6,4 mg) než 100 g syrový steak (1,6 mg) z falešné svíčkové [6].

Vzhledem k vysoké absorpční kapacitě mohou řasy obsahovat i rizikové prvky (např. olovo, rtuť, kadmium, arzen) v toxických koncentracích. Tento fakt je nutné vzít v úvahu při používání řas jako krmiv a potravy a provádět na tyto minerální prvky testy. Vzhledem k tomu, že přítomnost těžkých kovů v řasách je dána jejich výskytem v okolí, může být obsah toxických kovů v řasách pouze lokální záležitostí. Koncentrace arzenu jsou podstatně vyšší u hnědých řas v důsledku obsahu sulfátovaných polysacharidů v buněčné stěně sloužících jako vazebná místa kovů, než u červených a zelených řas [2, 6]. Řasy však musí splňovat určité parametry v obsahu těžkých kovů, toxických látek, ale i mikrobiální kontaminace, aby bylo chráněno zdraví spotřebitele. První legislativní předpisy pro obsahy těžkých kovů a toxických látek v jedlých mořských řasách byly stanoveny ve Francii [2].

1.3.5 Vitaminy

Vitaminy jsou organické esenciální látky, které lidské tělo potřebuje v malých množstvích k zajištění různých chemických a fyziologických procesů [49].

Řasy jsou bohatým zdrojem především vitaminů C, E a vybraných vitaminů B-komplexu.

Čerstvé řasy jsou hodnotným zdrojem vitaminu C, jehož obsah se pohybuje v rozmezí od 500 mg/kg do 3 000 mg/kg v sušině zelených a hnědých řas. Tento obsah vitaminu C je srovnatelný s petrželkou, černým rybízem či paprikou. Červené řasy obsahují méně vitaminu C – 100 mg/kg až 800 mg/kg v sušině. Tento vitamin je důležitý pro posilování obranyschopnosti organismu, aktivuje absorpci železa ve střevě, vylučuje volné radikály a podílí se na regeneraci vitaminu E [39].

Vitamin E zabraňuje svou antioxidační aktivitou oxidaci lipoproteinů nízké hustoty. Hnědé řasy obsahují α , β a γ -tokoferoly, zelené a červené řasy pouze α -tokoferoly [39]. Hnědé řasy vykazují vyšší koncentrace tohoto vitaminu než řasy zelené a červené. Z hnědých řas se nejvyšší obsah vyskytuje u *Fucaceae* a to 200 mg/kg – 600 mg/kg sušiny. Vitamin E se může například vyskytovat v 8 g hnědé řasy *Undaria pinnatifida* až v množství 1,16 mg a pro srovnání stejné množství arašídů poskytuje pouze 0,8 mg tohoto vitaminu [6].

Řasy jsou bohatým zdrojem vitaminů skupiny B a některé mořské řasy jsou i dobrým zdrojem vitaminu B₁₂. Ten je doporučován při léčbě známek stárnutí, proti chronickému únavovému syndromu a anemii [39].

1.3.6 Polyfenoly

Polyfenoly jsou považovány za jedny z nejvýznamnějších přírodních antioxidantů. Polyfenoly řas jsou deriváty floroglucinolových jednotek (1,3,5-trihydroxybenzen) a jsou označovány jako florotaniny. Polyfenoly řas se liší od polyfenolů vyšších rostlin, které jsou tvořeny deriváty kyseliny galové a elagové [39].

Florotaniny jsou velmi heterogenní skupina poskytující potenciální biologickou aktivitu. Nejvyšší obsah polyfenolů se vyskytuje v hnědých řasách,

kde tvoří 5 %– 15 % sušiny. Antioxidační aktivita polyfenolů hnědých a červených řas již byla prokázána testy *in vitro* a v dnešní době je stále intenzivně zkoumána [14, 39]. Jsou také studovány protirakovinné, antibakteriální, protialergické, protizánětlivé a protivirové účinky polyfenolů řas [15].

1.3.7 Barviva

Karotenoidy jsou přírodní barviva odvozená od 5 uhlíkatých izoprenových jednotek, které jsou enzymaticky polymerizovány do 40 uhlíkatých struktur. Živočichové ztratili schopnost endogenně syntetizovat tyto látky a proto je nutné je přijímat potravou. Je známo přes 600 karotenoidů a asi 50 z nich jsou prekurzory vitamínu A [25]. Současné studie prokázaly korelaci mezi příjmem stravy bohaté na karotenoidy a snížením kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny (β -karoten, lykopen), oftalmologických nemocí (lutein, zeaxantin) [1].

Hnědé mořské řasy jsou obzvláště bohaté na β -karoten, fukoxantin a violaxantin. Hlavními karotenoidy u červených řas jsou α -karoten, β -karoten a jejich dihydroxylované deriváty lutein a zeaxantin. Zastoupení karotenoidů u zelených řas je obdobné jako u vyšších rostlin. Karotenoidy jsou považovány za silné antioxidanty a i u karotenoidů z řas byla tato vlastnost prokázána [39].

Ketokarotenoid astaxantin hraje důležitou roli při prevenci patologických procesů, jako jsou záněty, nádory prostaty, mléčné žlázy a vředů. Fukoxantin je barvivem hnědých řas s antioxidačními, protinádorovými, protizánětlivými, antiangiogenními a neuroprotektivními vlastnostmi [1, 39, 50].

Chlorofyly jsou zelená v tučích rozpustná barviva vyskytující se ve všech řasách a sinicích. Chlorofyl nachází využití ve farmaceutickém průmyslu díky chelatační aktivitě, mimo to zvyšuje množství hemoglobinu v krvi a podporuje růst buněk. V potravinářském průmyslu je chlorofyl také používán jako barvivo [51]. Z prokázaných výsledků například chlorofyl *a* vykazuje antioxidační

vlastnosti u řas *Fucus vesiculosus* a *Enteromorpha prolifera* a antimutagenní vlastnosti u červené řasy *Porphyra tenera* [2, 50].

A konečně fykobiliproteiny jsou barviva rozpustná ve vodě a jsou využívány k barvení v kosmetickém a potravinářském průmyslu. Dále také vykazují antioxidační, protizánětlivé a protinádorové aktivity [2].

1.4 Biologicky aktivní látky

Jak již bylo zmíněno dříve, řasy jsou hodnoceny jako funkční potraviny, tzn., že kromě nutričních hodnot látek v nich obsažených vykazují tyto látky i zdraví prospěšné účinky [25]. Nejnovější trendy v oblasti výzkumu léků z přírodních zdrojů ukazují, že řasy jsou perspektivní skupinou pro poskytování nových biologicky aktivních látek, ale také esenciálních sloučenin pro lidskou výživu [1, 25].

Biologicky aktivní látky jsou látky rozdílné chemické struktury a fyziologické funkce, které i při nízkých koncentracích mohou specificky ovlivňovat životní pochody organismů a to pozitivně i negativně [52, 53]. Na rozdíl od vyšších rostlin nejsou ani v současné době sinice a řasy z pohledu obsahu biologicky aktivních látek dostatečně prozkoumány. Sinice i řasy produkují kromě primárních metabolitů, které následně využívají především na svůj růst, vývoj a reprodukci, také metabolity sekundární. Sekundární metabolity produkují nejčastěji za účelem komunikace nebo při výskytu stresových podmínek a tyto látky se nepodílejí přímo na růstu, vývoji a reprodukci. Mezi nejčastěji zkoumané biologicky aktivní látky sinic a řas patří právě sekundární metabolity [25, 26, 52].

Rozsáhlejší výzkum biologicky aktivních látek mořských organismů začal teprve před čtyřiceti lety a za krátkou dobu se ukázalo, že aby sinice a řasy přežily ve vysoce konkurenčních podmínkách, vyvinuly se u nich obranné

strategie, jejichž výsledkem je produkce specifických látek, tvořených odlišnými metabolickými drahami, které nemají ekvivalenty u suchozemských rostlin [25].

U řas a sinic bylo popsáno již více než 3 300 sekundárních metabolitů a přes 15 000 nově objevených chemických sloučenin, ale i přes to, sinice a řasy stále zůstávají nevyčerpatelným zdrojem biologicky aktivních látek dosud necharakterizovaných [1, 25, 54].

Neustále jsou objevovány nové biologicky aktivní látky a stále jsou zkoumány možnosti jejich využití především ve farmacii. Nejběžněji jsou identifikovány bioaktivní látky s cytotoxickou [55, 56] a antibiotickou aktivitou [57-59]. V posledním desetiletí byly bioaktivní látky nejčastěji zjištěny v červených řasách, v 90. letech to bylo v řasách hnědých [25, 26]. Sekundární metabolity, nejčastěji dusíkaté sloučeniny a cyklické polyétery a obecně biologicky aktivní látky, vykazují například i protinádorové, antibakteriální, fungicidní, imunosupresivní a protizánětlivé účinky [26, 60-63].

Při zjišťování konkrétních biologických účinků látek jsou dané řasové extrakty nejprve testovány *in vitro* a následně je prováděna jejich frakcionace za účelem izolace bioaktivních sloučenin [1].

1.5 Ostatní významné metabolity řas

V následujícím přehledu jsou uvedeny pouze některé skupiny látek s biologickou aktivitou, které nebyly zmíněny v předešlé kapitole.

1.5.1 Lektiny

Lektiny jsou proteiny schopné rozpoznat a vázat sacharidy a vyskytují se v řadě organismů. Tato jejich vlastnost je specifická, dají se proto využít při imunologických nebo histochemických studiích. V medicíně jsou lektiny využívány k detekci chorob souvisejících se změnami syntézy glykanů, k určování krevních skupin, k detekci nádorových buněk a nacházejí využití

jako buněčné markery pro diagnostické účely. Mimo to se lektiny váží ke slizničním povrchům a mohou předávat vakcínu přes jejich povrch. Studie prokázaly, že řasy jsou dobrým zdrojem lektinů (tzv. fytolektinů). Zatím je ale velmi málo studií o možnostech izolace a identifikace lektinů z řas [1].

1.5.2 Mykosporinové deriváty aminokyselin

Mykosporinové deriváty aminokyselin (MAAs) jsou nízkomolekulární, ve vodě rozpustné sloučeniny, chránící vodní organizmy proti slunečnímu záření. Tyto sekundární metabolity absorbují UV záření ve vlnových délkách od 310 nm do 365 nm a také vykazují antioxidační aktivitu poskytující ochranu proti fotooxidativnímu stresu indukovanému reaktivními formami kyslíku. Dále je možné MAAs použít jako součást opalovacích krémů a také plastů, kde slouží jako fotostabilizující složka. Využití velkého množství derivátů MAAs bylo zkoumáno v pleťové kosmetice a produkt Helioguard 365, z červené řasy *Porphyra umbilicalis*, byl již komercializován [1, 64].

1.5.3 Halogenované sloučeniny

Halogenované sloučeniny jsou produkovány především hnědými a červenými řasami. Mezi halogenované sloučeniny patří jak primární, tak i sekundární metabolity. Jedná se o indoly, terpeny, fenoly a těkavé halogenované uhlovodíky. V mnoha případech vykazují antibakteriální i protinádorové účinky [1].

1.6 Antioxidační aktivita

Reaktivní formy kyslíku (ROS) jsou chemické reaktivní molekuly obsahující kyslík. ROS vznikají především při oxidaci v mitochondriích, ale i při dalších biochemických procesech v organismu. Z daných radikálů je hydroxylový radikál nejvíce reaktivní. Za normálních okolností je množství ROS

v organismu přirozeně regulováno. Při nadměrném množství ROS, kdy již organismus není schopen sám tyto látky eliminovat, může dojít ke vzniku oxidačního stresu. Oxidační stres může vzniknout také v důsledku exogenních příčin, např. kouření, ionizačního záření, či požití určitých léků. ROS mohou indukovat apoptózu a způsobit poškození zejména proteinů, polynenasycených mastných kyselin a DNA. Navíc oxidační stres je spojován se vznikem více než 200 chorob, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, rakovina, ateroskleróza, cukrovka a neurodegenerativní onemocnění (Alzheimerova a Parkinsonova choroba) a také proces stárnutí. Nicméně oxidační stres nemusí vždy být primární příčinou těchto nemocí [15, 65].

Antioxidanty umožňují eliminovat reaktivní oxidační procesy v organismu. Mezi endogenní antioxidanty se řadí například glutathionin, kyselina močová, koenzym Q. Jako antioxidanty exogenní, přijímané potravou, lze zmínit vitamin C, vitamin E, karotenoidy a polyfenolické látky [65, 66]. Antioxidační vlastnosti vykazují i látky syntetické povahy, například butylhydroxyanizol nebo butylhydroxytoluen, ale u těchto sloučenin je stále zkoumána možná spojitost mezi poškozením jater nebo vznikem rakoviny při dlouhodobějším nadměrném příjmu. Proto je v dnešní době pozornost zaměřována spíše na hledání antioxidantů přírodního původu [67]. Pro vzájemné porovnávání antioxidačních účinků byl zaveden pojem celková antioxidační aktivita (TAA). Ta kvantifikuje kapacitu vzorku eliminovat radikály [66].

Mezi základní metody ke stanovení antioxidační aktivity (AOA) patří metody založené na eliminaci syntetických radikálů, metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů, metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace a metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek (cyklická voltametrie, metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí) a jiné [66].

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této dizertační práce je vytvoření uceleného souboru metodik optimalizovaných pro efektivní stanovení nejvýznamněji zastoupených biologicky aktivních látek ve vzorcích komerčně dostupných produktů z řas a sinice, a zároveň i získání korespondujících výsledků umožňujících jejich srovnání jak s čerstvými řasami, tak i s jinými všeobecně známými zdroji těchto biologicky aktivních látek.

2.1 Dílčí cíle

- Mikroskopické pozorování analyzovaných vzorků řas a sinice, seznámení s jejich morfológickou stavbou.
- Stanovení základních nutričních charakteristik vyšetřovaných vzorků – obsah sušiny, popela, elementárního složení – potřebných pro následné analýzy.
- Stanovení vybraných chemických prvků ve vzorcích řas pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
- Stanovení obsahu lipidů a jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích řas.
- Stanovení obsahu vybraných vitaminů ve vzorcích řas.
- Stanovení celkového obsahu chlorofylu ve vzorcích řas.
- Stanovení luteinu a fukoxantinu ve vzorcích řas.
- Stanovení celkového obsahu flavonoidů ve vzorcích řas.
- Stanovení obsahu škrobu ve vzorcích řas.
- Stanovení antioxidační aktivity vzorků řas různými metodami.

3. ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ

3.1 Materiál a chemikálie

Pro analýzu byly vybrány reprezentativní druhy sladkovodních i mořských řas, které pokrývají spektrum běžně konzumovaných mořských hnědých a červených řas a sladkovodních zelených řas. Dále byl také analyzován vzorek sinice a u vybraných analýz byl pro porovnání výsledků proměřen i vzorek sušené autotrofně kultivované řasy *Chlorella* sp., kultivované v Nových Hradech. Ostatní řasy a sinice byly zakoupeny ve formě sušených produktů nebo tablet. Názvy vzorků a jejich charakteristiky jsou uvedeny v tabulce 3.1.1.

Jednotlivé vzorky řas byly upraveny před dalšími analýzami dle ČSN 46 7092-2 Metody zkoušení krmiv: Část 2: Příprava vzorků ke zkoušení [68] pro získání homogenní směsi o velikosti částic do 1 mm (Thermomix TM 31, Vorwerk, Německo).

Tab. 3.1.1: Použité vzorky řas a sinice a jejich charakteristika

Řasy	Druh	Produkt	Vzorek	Původ
Modrozelené	<i>Spirulina platensis</i>	Spirulina Bio	S	Indie
Zelené	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Chlorella Tabs	C	Taiwan
	<i>Chlorella</i> sp.	---	CT	ČR
Červené	<i>Porphyra tenera</i>	Nori vločky	N	Japonsko
	<i>Palmaria palmata</i>	Dulse vločky Bio	D	USA
Hnědé	<i>Laminaria japonica</i>	Kombu	K	Japonsko
	<i>Eisenia bicyclis</i>	Arame	A	Japonsko
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame	W	Japonsko
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame-instant	WI	Japonsko
	<i>Hizikia fusiformis</i>	Hiziki	H	Japonsko

Výrobce a specifikace veškerých použitých chemikálií je uvedena v popisu jednotlivých metodik stanovení. Chemikálie byly použity v kvalitě p.a., není-li uvedeno jinak. Pro stanovení vybraných látek pomocí plynové chromatografie, kapalinové chromatografie a antioxidační aktivity byly zakoupeny příslušné standardy. Rozpouštědla používaná pro kapalinovou chromatografii byla k tomu účelu speciálně určena. Stejně tak chemikálie používané pro stanovení vybraných chemických prvků metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

3.2 Vlastní metody stanovení

3.2.1 Mikroskopické pozorování

Vybrané vzorky řas byly pozorovány mikroskopem Olympus Invermicroscope CKX41 (Olympus, PA, USA). Fotografie byly pořízeny aparátem Nikon Coolpix 4500 (Nikon Corporation, Tokio, Japonsko) při zvětšení 400x.

3.2.2 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny bylo provedeno dle normy ČSN 46 7092-3 Metody zkoušení krmiv: Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti [69]. Obsah sušiny byl ve vybraných vzorcích řas stanoven sušením (1 g) při teplotě 103 ± 2 °C do konstantního úbytku hmotnosti (Venticell 111 Comfort, BMT, ČR). Následně byl gravimetricky zjištěn rozdíl hmotností před a po sušení a z rozdílu byl vypočítán obsah sušiny v procentech.

3.2.3 Stanovení obsahu popela

Stanovení obsahu popela bylo provedeno dle normy ČSN 46 7092-9 Metody zkoušení krmiv: Část 9: Stanovení obsahu popela [70]. Obsah popela byl ve vybraných vzorcích řas stanoven po spálení vzorků (1 g) v muflové peci (MLW

LM112, VEB Elektro Bad Frankenhausen, Německo) při teplotě 550 °C po dobu 5 hodin. Obsah popela bych zjištěn gravimetricky z rozdílu hmotností před a po spálení vzorku v procentech.

3.2.4 Elementární analýza

Oblast elementární analýzy pokrývá široké spektrum metod pro stanovení prvků C, H, N, S, O v anorganických i organických materiálech, které jsou založeny na spálení, respektive žhání, vzorku ve vhodné atmosféře s následující analýzou uvolněných plynů. Do malé cínové kapsličky byly naváženy 2 mg látky, kapslička byla zabalena pomocí pinzety a vhozena do zkalibrovaného analyzátoru, kde se vzorek spaloval při teplotě 950 °C. Délka analýzy pro prvky C, H a N byla 470 sekund, pro stanovení síry byla délka analýzy 700 sekund. Kalibrace přístroje Flash EA 1112 Series v konfiguraci CHNS/O (Thermo Scientific, MA, USA) byla provedena dle stanovovaného prvku, pro C, H, N byl použit acetanilid (Sigma Aldrich, MO, USA) a pro stanovení síry 2,5-bis(5-terc-butyl-2-benzoxazolyl)thiofen (Sigma Aldrich, MO, USA) a sulfanilamid (Sigma Aldrich, MO, USA).

3.2.5 Stanovení vybraných chemických prvků

Stanovení vybraných chemických prvků (Li, Be, Na, Mg, Al, P, S, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Sr, Y, Zr, Mo, Rh, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, Ce, Tb, Ho, Ta, Hg, Tl, Pb, Bi, U) ve vzorcích řas bylo provedeno následovně.

Před samotnou analýzou byly vzorky podrobeny mikrovlnnému rozkladu Ethos One (Milestone, Sorisole, Itálie). Pro mikrovlnný rozklad bylo naváženo 0,5 g vzorku do teflonové rozkladné nádobky a poté bylo přidáno 6 ml 67% HNO₃ (Analytika, Praha, ČR) a 2 ml H₂O₂ (Analytika, Praha, ČR), určených pro ultrastopovou analýzu. Nádobka byla těsně uzavřena a rozklad

probíhal 30 minut při teplotě 200 °C a následném chlazení dle předdefinovaného rozkladného programu výrobcem, určeného pro řasy. Zmineralizované vzorky byly po ochlazení přelity do 10 ml odměrných baněk a doplněny ultračistou vodou Purelab Classic Elga (Labwater/VWS Ltd., VB) po rysku.

Pro stanovení obsahu chemických prvků byly použity dvě sady standardů ICP-MS STD 25 obsahující prvky Be, Zn, Cu, Ni, Al, Ga, Mg, Co, Li, Sc, Ag, Mn, Sr, Ba, Tl, Bi, Ce, Cs, Ho, In, Rh, Ta, Tb, U a Y v koncentraci 3 – 35 µg/l a ICP-MS STD 12 obsahující prvky As, Ca, Cd, Cr, Fe, Hg, K, Na, Pb, Se, Sn a Ti v koncentraci 0,5 – 1,0 µg/l (Analytika, Praha, ČR). A dále byly použity samostatné standardy prvků P, S, V, Ge, Zr, Mo a Sb o koncentraci $1 \pm 0,002$ g/l (Analytika, Praha, ČR). Zakoupené standardy se vyskytovaly v následujících koncentracích (µg/l): Be ($35 \pm 1,75$); Zn ($20 \pm 1,00$); Cu, Ni ($15 \pm 0,75$); Al, Ga, Mg ($10 \pm 0,50$); Co, Li, Sc ($8 \pm 0,40$); Ag, Mn ($6 \pm 0,30$); Sr ($5 \pm 0,25$); Ba, Tl ($4 \pm 0,20$); Bi, Ce, Cs, Ho, In, Rh, Ta, Tb, U and Y ($3 \pm 0,15$). Kalibrační roztoky o koncentraci 1,5 – 17,5 µg/l byly připraveny s 2% HNO₃ ze standardů v původní koncentraci 3 – 35 µg/l pro prvky Be, Zn, Cu, Ni, Al, Ga, Mg, Co, Li, Sc, Ag, Mn, Sr, Ba, Tl, Bi, Ce, Cs, Ho, In, Rh, Ta, Tb, U a Y.

Vzorky byly proměřeny na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS (Thermo Scientific, MA, USA). Tento přístroj je vybaven vzorkovacími kónusy ze slitiny niklu, Peltierovými články k chlazení, nízkoobjemovu mlžnou komorou pro zlepšení výkonu přístroje, kolizní celou QCell s heliem k odstranění nežádoucích molekulových iontů, peristaltickou pumpou a autosamplerem Cetac 520 (Thermo Scientific, MA, USA). Stanovené obsahy vybraných chemických prvků jsou uvedeny v µg na 100 g sušiny vzorku.

3.2.6 Stanovení obsahu lipidů

Celkové lipidy byly stanoveny pomocí modifikované metody dle Folch, Lees a Sloane-Stanley (1957) Soxhletovou extrakcí probíhající 4 hodiny v příslušných rozpouštědlech [71]. U první analýzy byl jako rozpouštědlo použit *n*-hexan (Lukeš, Uherský Brod, ČR) Ve druhém případě byla použita rozpouštědlová směs metanol/chloroform/voda (Lukeš, Uherský Brod, ČR) v poměru 1:2:1. Obsah celkových lipidů byl stanoven gravimetricky a vypočítán jako rozdíl mezi hmotností baňky s obsahem lipidů po extrakci, kdy bylo dané rozpouštědlo oddestilováno na vakuové rotační odparce (Laborota Digital, Heidolph, Německo) a odparek byl dosušen do konstantního úbytku hmotnosti v sušárně (Venticell Komfort, BMT, ČR) a hmotností baňky před extrakcí.

3.2.7 Stanovení profilů mastných kyselin

Po Soxhletově extrakci byly vyextrahované lipidy převedeny na metylestery mastných kyselin (FAMES) za použití 4 ml 0,5M metanolického roztoku NaOH (Lukeš, Uherský Brod, ČR; Penta, Praha, ČR) za neustálého zahřívání a občasného míchání na topném hnízdě (LTHS 250, Brněnská Drutěva, ČR) pod zpětným chladičem. Zmýdelňování probíhalo pod inertní atmosférou tvořenou dusíkem po dobu 30 minut. Poté bylo přidáno přes chladič do baňky 5 ml 15% metanolického roztoku BF₃ (Sigma Aldrich, MO, USA), který sloužil jako kyselý katalyzátor. Po 2 minutách varu bylo přidáno přes zpětný chladič 5 ml *n*-heptanu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) a dále byl var udržován po dobu 1 minuty. Po částečném ochlazení a odejmutí chladiče byly přidány 2 ml nasyceného vodného roztoku NaCl (čistý, Lukeš, Uherský Brod, ČR). Obsah baňky byl převeden do 100 ml dělicí nálevky. Baňka byla promyta 15 ml *n*-heptanu, které byly následně přidány k prvnímu podílu. Dále bylo do dělicí nálevky přidáno 40 ml nasyceného vodného roztoku NaCl a obsah byl protřepán. Heptanová fáze byla oddělena a vodná fáze byla promyta 15 ml

n-heptanu. Heptanová fáze byla opět odseparována a spojena s předchozí heptanovou fází. Spojené heptanové fáze byly promyty 20 ml nasyceného vodného roztoku NaCl. Heptanová fáze byla oddělena a vysušena bezvodým síranem sodným (Lukeš, Uherský Brod, ČR). Vzorke byly následně zakoncentrovány na vakuové rotační odparce (Laborota Digital, Heidolph, Německo) a kvantitativně převedeny do 10 ml odměrných baněk [72].

Metylestery mastných kyselin ve vyšetřovaných vzorcích byly stanoveny plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem (FID) na přístroji GC-2010 (Shimadzu, Japonsko) za použití vysoce polární chromatografické kolony HP-88 (100 m x 0,25 mm, 0,2 µm) – (Agilent Technologies, CO, USA), která je určena pro identifikaci *cis/trans* metylesterů mastných kyselin. Chromatografické podmínky byly následující: objem nástřiku 1 µl, teplota nástřiku 250 °C, splitovací poměr 1:100, nosný plyn dusík, teplotní program 80 °C/ 5 min, 200 °C/30 min, 250 °C/15 min [73].

Kvantitativní vyhodnocení obsahů FAMES ve vzorcích bylo provedeno metodou vnitřní normalizace na obsah vnitřního standardu – metylester kyseliny undekanové (Sigma Aldrich, MO, USA) za použití standardu FAME Mixture C₄-C₂₄ (Supelco, PA, USA), který obsahoval 37 vybraných mastných kyselin. Zastoupení jednotlivých mastných kyselin (FAs) bylo přepočteno na procenta z celkového obsahu přítomných metylesterů.

3.2.8 Stanovení vybraných vitaminů

Stanovení β-karotenu

Pro stanovení obsahu β-karotenu byl k naváženému vzorku (0,3 g) ve skleněné centrifugační zkumavce přidán 1 ml destilované vody a bylo provedeno vortexování (LT2, Kavalier, Votice, ČR) po dobu tří minut. Následně byl ke vzorku přidán 1 ml skleněných kuliček balotina B7 o průměru 570 µm – 700 µm (Preciosa Ornela a.s., ČR) spolu s 3 ml acetonu (Lukeš, Uherský Brod,

ČR) a proběhlo opět vortexování po dobu tří minut. Obsah centrifugační zkumavky byl centrifugován (3 500 otáček za minutu (RPM), 2 minuty) za použití centrifugy EBA 20 (Hettich, MA, USA) a supernatant byl opatrně odlit do 10 ml odměrné baňky a doplněn do daného objemu 80% roztokem acetonu.

Při přípravě metanolového extraktu ze sinice byl zvolen obdobný postup jako při přípravě acetonového extraktu, kdy k naváženému vzorku ve skleněné centrifugační zkumavce byly přidány 2 ml metanolu (LabScan, Sowińskiego, Polsko) spolu s malým množstvím $MgCO_3$ (Dorapis, Praha, ČR). Tato směs byla zahřívána ve vodní lázni při 65 °C po dobu čtyř minut. Ke vzorku byl přidán 1 ml balotiny, následně proběhlo vortexování po dobu tří minut, poté byl přidán 1 ml metanolu a opět byla provedena vortexace. Dále bylo postupováno stejným způsobem jako u přípravy acetonového extraktu. Před samotným stanovením byly vzorky zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 μm .

Stanovení obsahu β -karotenu bylo realizováno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzními fázemi (RP-HPLC). Kvantitativní stanovení obsahu β -karotenu bylo provedeno v produktech ze sladkovodních a mořských řas na přístroji UltiMate 3 000 (Dionex, MA, USA) s detektorem diodového pole (DAD) za použití kolony C8 Acclaim 120 (2,1 mm x 150 mm, 5 μm) – Dionex, MA, USA. Jako mobilní fáze A (MFA) byl použit 0,028M octan amonný (Lukeš, Uherský Brod, ČR) a metanol (HPLC, LabScan, Sowińskiego, Polsko) v poměru 1:4, jako mobilní fáze B (MFB) pak čistý metanol. Průtok mobilní fáze byl 0,8 ml/min, objem nástríku 50 μl , délka analýzy 40 minut, průběh analýzy gradientový (0 – 25 minut: 100 % MFA, 25 – 27 minut: 100 % MFB, 27 – 40 minut: 100 % MFA). Odezvy detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 446 nm. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky za použití standardu β -karotenu (AccuStandard, New Haven, USA) [74, 75].

Stanovení vitaminů D₂ a E

Nejprve bylo naváženo 1,5 g vzorku a bylo přidáno 7,5 ml metanolu (HPLC, LabScan, Sowińskiego, Polsko) do plastové uzavíratelné zkumavky. Vzorek byl extrahován v ultrazvukové lázni PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR) po dobu 60 minut. Analyt byl slit do 10 ml odměrné baňky, doplněn metanolem a před samotným stanovením byly vzorky zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 µm a byly proměřeny na HPLC.

Stanovení obsahu vitaminu D₂ a E bylo realizováno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzními fázemi (RP-HPLC). Kvantitativní stanovení obsahu vitaminu D₂ a E bylo provedeno v produktech ze sladkovodních a mořských řas na přístroji UltiMate 3 000 (Dionex, MA, USA) s DAD detektorem za použití kolony C18 Kinetex (150 mm x 4,60 mm, 2,6 µm) – Phenomenex, CA, USA. Jako mobilní fáze A (MFA) byl použit metanol (HPLC, LabScan, Sowińskiego, Polsko) a mobilní fáze B (MFB) byla voda, MFA:MFB byly v poměru 95:5. Průtok mobilní fáze byl 1 ml/min, objem nástriku 20 µl, délka analýzy 20 minut, průběh analýzy izokratický. Odezvy detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 254 nm pro vitamin D₂ a 230 nm pro vitamin E. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky za použití standardu ergokalciferolu a *D-α*- tokoferol sukcinátu (AccuStandard, New Haven, USA).

Stanovení vitaminu C

Pro samotnou extrakci bylo naváženo 0,5 g vzorku a bylo přidáno 2,5 ml mobilní fáze (směs metanol/H₃PO₄/r-H₂O v poměru 99:0,5:0,5) do plastové uzavíratelné zkumavky. Vzorek byl extrahován na třepačce LT 2 (Kavalier, ČR) po dobu 10 minut bez přístupu světla. Analyt byl slit do 10 ml odměrné baňky, doplněn mobilní fází a před samotným stanovením byly vzorky zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 µm a proměřeny na HPLC.

Stanovení obsahu vitamínu C bylo realizováno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzními fázemi (RP-HPLC). Kvantitativní stanovení obsahu vitamínu C bylo provedeno v produktech ze sladkovodních a mořských řas na přístroji UltiMate 3 000 (Dionex, MA, USA) s DAD detektorem za použití kolony C8 Acclaim 120 (2,1 mm x 150 mm, 5 µm) – Dionex, MA, USA. Jako mobilní fáze byla použita směs metanol/H₃PO₄/r-H₂O v poměru 99:0,5:0,5 (HPLC, LabScan, Sowińskiego, Polsko; 85%, Lukeš, Uherský Brod, ČR). Průtok mobilní fáze byl 0,8 ml/min, objem nástřiku 20 µl, délka analýzy 10 minut, průběh analýzy izokratický. Odezvy detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 275 nm. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky za použití standardu kyseliny askorbové (AccuStandard, New Haven, USA).

Stanovení vitaminů skupiny B

Pro stanovení vitaminů skupiny B (B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂) byl navážen 1 g vzorku a bylo přidáno 8 ml 0,1M HCl (Lukeš, Uherský Brod, ČR) do plastové uzavíratelné zkuševky. Vzorek byl extrahován v ultrazvukové lázni PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR) po dobu 60 minut, odstředěn (5 000 RPM, 5 minut) a analyt byl slit do 10 ml odměrné baňky, doplněn destilovanou vodou a před samotným stanovením byly vzorky zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 µm a proměřeny na HPLC.

Stanovení obsahu vitaminů skupiny B bylo provedeno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzními fázemi (RP-HPLC). Kvantitativní stanovení obsahů vitaminů B bylo provedeno v produktech ze sladkovodních a mořských řas na přístroji UltiMate 3 000 (Dionex, MA, USA) s DAD detektorem za použití kolony C18 Zorbax Eclipse XDB (4,6 mm x 150 mm, 3,5 µm) – Agilent Technologies, CO, USA. Jako mobilní fáze A byla použita 0,025% kyselina trifluoroctová (Penta, Praha, ČR) a jako mobilní fáze B

acetonitril (HPLC, LabScan, Sowińskiego, Polsko). Průtok mobilní fáze byl 0,8 ml/min, objem nástřiku 50 µl, délka analýzy 25 minut, průběh analýzy gradientový (0 – 5 minut: 100 % MFA, 5 – 11 minut: 25 % MFB, 11 – 20 minut: 40 % MFB, 20 – 25 minut: 100 % MFA). Odezvy detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 210 nm, 236 nm, 270 nm a 290 nm. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky za použití standardů tiamin hydrochloridu, riboflavinu, kyseliny nikotinové, pyridoxin hydrochloridu a kyanokobalaminu (AccuStandard, New Haven, USA).

3.2.9 Stanovení celkového obsahu chlorofylu

Pro stanovení celkového obsahu chlorofylu byly použity tři metodiky.

Spektrofotometrické stanovení chlorofylu dle AV ČR

Příprava extraktu probíhala dle metodiky používané pro spektrofotometrické stanovení barviv v Nových Hradech, AV ČR, a je popsána v sekci 3.2.8 – Stanovení β -karotenu. Hodnoty absorbancí vzorků byly změřeny při vlnových délkách 646 nm, 663 nm, 666 nm a 730 nm a pro výpočet byly použity tyto rovnice:

Pro extrakty v acetonu:

$$\text{Chl } a = 12,21 \cdot (\text{Abs}_{663} - \text{Abs}_{730}) - 2,81 \cdot (\text{Abs}_{646} - \text{Abs}_{730}) [\mu\text{g/ml}] \quad (1)$$

$$\text{Chl } b = 20,13 \cdot (\text{Abs}_{646} - \text{Abs}_{730}) - 5,03 \cdot (\text{Abs}_{663} - \text{Abs}_{730}) [\mu\text{g/ml}] \quad (2)$$

Pro extrakty v metanolu:

$$\text{Chl } a = 15,65 \cdot (\text{Abs}_{666} - \text{Abs}_{730}) [\mu\text{g/ml}] \quad (3)$$

Kde

Chl a chlorofyl *a*

Chl b chlorofyl *b*

Abs absorbance při daných vlnových délkách

Spektrofotometrické stanovení chlorofylu dle ČSN

Další stanovení bylo provedeno podle normy ČSN EN ISO 10519 [76]. Kdy byly naváženy 2 g vzorku a bylo přidáno 30 ml směsi absolutního etanolu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) a *n*-heptanu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) v poměru 1:3. Ke vzorku byl přidán 1 ml skleněných kuliček balotina B7 o průměru 570 μm – 700 μm (Preciosa Ornela a.s., ČR) a vzorek byl extrahován v ultrazvukové lázni PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR) po dobu 1 hodiny. Vzorek byl následně zfiltrován a proměřen na přístroji Lambda 25 (PerkinElmer, MA, USA) při vlnových délkách 625 nm, 665 nm a 705 nm. Získané výsledky byly zjištěny za použití rovnice 4.

$$Ch = \frac{k \cdot A_{kor} \cdot V}{m \cdot l} [mg/kg] \quad (4)$$

Kde

Ch celkový chlorofyl

A_{kor} opravená absorbance rovna $A_{665} - (A_{705} + A_{625}) : 2$

k konstanta rovna 13

l tloušťka kyvety [cm]

m hmotnost vzorku [g]

V objem rozpouštědla přidaného do zkumavky [ml]

Spektrofotometrické stanovení chlorofylu dle Wellburna

Třetí metoda k stanovení celkového obsahu chlorofylu byla realizována dle Wellburna, kdy byl navážen 1 g vzorku. Vzorek byl hodinu extrahován v ultrazvukové lázni PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR) za použití 50 ml metanolu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) a po filtraci byl proměřen při vlnových

délkách 470 nm, 653 nm a 666 nm. Šířka štěrby byla 1 nm. Odpovídající rovnice byly zvoleny dle použitého rozpouštědla a šířky štěrby [77, 78].

$$\text{Chl } a = 15,65 \cdot A_{666} - 7,34 \cdot A_{653} [\mu\text{g/ml}] \quad (5)$$

$$\text{Chl } b = 27,05 \cdot A_{653} - 11,21 \cdot A_{666} [\mu\text{g/ml}] \quad (6)$$

Kde

Chl a chlorofyl *a*

Chl b chlorofyl *b*

A absorbance při daných vlnových délkách

3.2.10 Stanovení luteinu a fukoxantinu

Pro chromatografické stanovení dvou vybraných barviv, luteinu a fukoxantinu, byla použita metodika popsána v kapitole 3.2.8 – Stanovení β -karotenu. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky za použití standardu luteinu (Extrasynthèse, Genay, Francie) a standardu fukoxantinu (Sigma Aldrich, MO, USA).

3.2.11 Stanovení celkových flavonoidů

Navážka vzorku (1 g) byla extrahována v 10 ml metanolu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) v uzavíratelné plastové zkumavce po dobu 1 hodiny v ultrazvukové lázni PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR). Pro vlastní stanovení bylo odebráno 0,85 ml extraktu vzorku a bylo přidáno 8,5 ml 20% etanolu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) a 0,375 ml 0,5 mol/l NaNO₂ (čistý, Lukeš, Uherský Brod, ČR). Po 5 minutách bylo přidáno 0,375 ml 0,3 mol/l AlCl₃·6H₂O (čistý, Penta, Praha, ČR) a za dalších 5 minut 2,5 ml 1 mol/l NaOH (Lukeš, Uherský Brod, ČR). Po uplynutí dalších 10 minut byl vzorek zfiltrován přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 μm a proměřen při vlnové délce 506 nm. Pro vyhodnocení

byla použita metoda kalibrační křivky na standard rutin (Sigma Aldrich, MO, USA). Výsledek je vyjádřen v mg ekvivalentu rutinu (RE)/100 g vzorku.

3.2.12 Stanovení škrobu

Stanovení obsahu škrobu ve sladkovodním komerčně dostupném produktu z řasy a sladkovodní autotrofně kultivované mikrořase bylo provedeno metodou podle Ewarse. Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 5 g vzorku a přidáno 25 ml 1,124% HCl (Lukeš, Uherský Brod, ČR). Obsah baňky byl důkladně promíchán a stěny spláchnuty dalšími 25 ml roztoku HCl. Potom byla baňka vložena do vroucí vodní lázně (Memmert, Německo) a zahřívána 15 minut. Během prvních 3 minut byl obsah baňky stále promícháván. Po 15 minutách byla baňka vyjmuta z vodní lázně a bylo přidáno dalších 20 ml roztoku HCl a vzorek byl ochlazen. Dále bylo provedeno vyčiření dle Carreze. Při čiření byl nejprve přidán 1 ml roztoku Carrez I a po důkladném promíchání byl přidán 1 ml roztoku Carrez II. Po 5 minutách působení byla baňka doplněna po rysku destilovanou vodou a roztok byl zfiltrován. U čirého filtrátu byl změřen úhel otočení α při teplotě 20 °C pomocí polarimetru Pol-1 (Helago, ČR) a dle rovnice 7 byl vypočítán obsah škrobu v % [79-81].

$$X = \frac{100 \cdot \alpha}{[\alpha]_{\lambda}^t \cdot l \cdot n} [\%] \quad (7)$$

Kde

X obsah škrobu [%]

l tloušťka vrstvy (délka polarimetrické trubice) [dm]

n navážka vzorku [g]

$[\alpha]_{\lambda}^t$ specifická otáčivost při teplotě t a vlnové délce $[\lambda]$ [°]

3.2.13 Stanovení antioxidační aktivity

Stanovení antioxidační aktivity fotochemiluminiscenční metodou

Antioxidační aktivita vybraných vzorků sinic a řas byla stanovena fotochemiluminiscenční metodou (PCL) na přístroji Photochem (Analytik Jena AG, Jena, Německo) za použití setů reakčních roztoků (Analytik Jena AG, Jena, Německo) pro stanovení antioxidační aktivity ve vodě (ACW) a v tučích rozpustných látek (ACL).

Pro extrakci látek rozpustných ve vodě byla jako extrakční činidlo použita destilovaná voda, pro látky rozpustné v tučích byl použit metanol (Lukeš, Uherský Brod, ČR). Bylo naváženo 0,2 g vzorku a vzorky byly extrahovány dvěma způsoby. V prvním případě byla použita vodní lázeň s třepačkou (Memmert, Německo) při teplotě 80 °C po dobu 10 minut [82]. Ve druhém případě byla k přípravě vzorku použita ultrazvuková lázeň PS 04000 A (Notus-Powersonic, SR) po dobu 3 hodin. Následně byl vzorek doplněn do 10 ml odměrné baňky, přefiltrován za použití nylonového mikrofiltru o velikosti pórů 0,45 μm a k vlastní analýze bylo pipetováno 5 μl – 700 μl vzorku, v závislosti na druhu řasy, do reakční směsi. Reakční směs byla připravována dle pokynů výrobce a následně byla společně se vzorkem proměřena na přístroji Photochem. Vyhodnocení výsledků proběhlo metodou kalibrační křivky, kdy pro ACW byla použita kyselina askorbová (AA) a pro ACL Trolox. Výsledky jsou vyjádřeny v μmol ekvivalentu AA/g vzorku, respektive μmol ekvivalentu Troloxu/g vzorku.

Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Antioxidační aktivita byla dále stanovena metodou ABTS. Tato metoda je založena na schopnosti vzorku zhaset kation-radikál ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonát)).

Do centrifugační zkumavky bylo naváženo 0,2 g vzorku a vzorek byl doplněn do 10 ml směsí H₂O a metanol (Lukeš, Uherský Brod, ČR) v poměru 7:3. Vzorek byl třepán ve vodní lázni při 70 °C po dobu 50 minut. Následně byl odstředěn. Šestnáct hodin před samotnou analýzou byl připraven 3,5 mmol/l roztok ABTS a byl vygenerován radikál ABTS•+ přidáním K₂S₂O₈ v poměru 50:1. Následně byl roztok ponechán ve tmě. Před samotnou analýzou byl připraven octanový pufr o hodnotě pH 4,3. Pufr a roztok ABTS byl smíchán v poměru 39:1 pro přípravu reakční směsi. Každý vzorek byl pak připravován smícháním 4 ml reakční směsi a 50 µl vzorku. Po 30 minutách ve tmě byl vzorek proměřen na přístroji Lambda 25 (PerkinElmer, MA, USA) při vlnové délce 734 nm. Vyhodnocení výsledků proběhlo metodou kalibrační křivky na standard Trolox (Sigma Aldrich, MO, USA), výsledky jsou vyjádřeny v µmol ekvivalentu Troloxu/g vzorku, kdy je výsledná antiradikálová aktivita vzorku srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Trolox.

Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla také hodnocena metodou DPPH. Tato metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem DPPH – (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) – Sigma Aldrich, MO, USA. Při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazinu).

Do centrifugační zkumavky bylo naváženo 0,5 g vzorku a vzorek byl doplněn do 10 ml směsí H₂O a metanolu (Lukeš, Uherský Brod, ČR) v poměru 7:3. Vzorek byl třepán na vodní lázni při 70 °C po dobu 50 minut. Po odstředění byly vzorky zfiltrány přes nylonové filtry o velikosti pórů 0,45 µm a 315 µl vzorku bylo smícháno s 5,99 ml pracovního roztoku DPPH. Pracovní roztok DPPH byl připraven smícháním 10 ml DPPH a 45 ml metanolu. Vzorek byl umístěn na 30 minut do tmy. Reakce byla sledována spektrofotometricky na přístroji Lambda 25 (PerkinElmer, MA, USA) při vlnové délce 515 nm.

Pro vyhodnocení byla použita metoda kalibrační křivky na standard Trolox (Sigma Aldrich, MO, USA). Výsledek je vyjádřen v μmol ekvivalentu Troloxu/g vzorku, kdy je výsledná antiradikálová aktivita vzorku srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Trolox.

3.3 Statistické vyhodnocení získaných dat

Získaná data jsou vyjádřena jako aritmetický průměr včetně směrodatné odchylky. K výpočtu aritmetického průměru a směrodatné odchylky byl použit program Microsoft Office Excel (Redmond, WA, USA). Pro stanovení elementárního složení, profilů mastných kyselin, vitaminů, barviv, antioxidační aktivity, flavonoidů a škrobu byla u každého vzorku analýza provedena třikrát ve dvou opakováních. Pro stanovení obsahu sušiny, popela, lipidů a vybraných chemických prvků byla u každého vzorku analýza provedena třikrát.

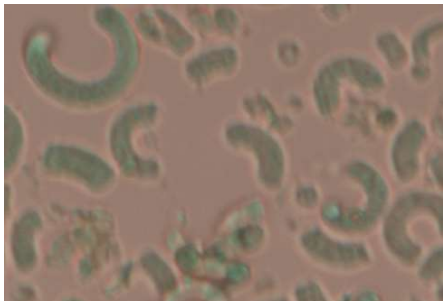
Nepárový *t*-test na hladině významnosti $P < 0,05$ byl použit pro zjištění statisticky významného rozdílu v obsahu celkových lipidů, ACW a ACL látek za použití různých extrakčních metod a antioxidační aktivity vzorků za použití metody ABTS a DPPH. Statistické vyhodnocení bylo provedeno za použití programu StatPlus:mac LE Version 2009 (AnalystSoft Inc., Atlanta, GA, USA). U obsahů celkových chlorofylů při použití různých metodik stanovení byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s párovým porovnáváním Schéffeho metodou na hladině významnosti $P < 0,05$ za použití statistického programu QC Expert 3.3 (TriloByte Statistical Software, Pardubice, ČR).

Hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu mezi ACL a obsahem celkových lipidů, β -karotenu a vitaminu E, hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu mezi ACW a obsahem vitaminu C a dále hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu mezi antioxidační aktivitou vzorků zjištěnou metodou ABTS a DPPH byly získány statistickým programem QC Expert 3.3 (TriloByte Statistical Software, Pardubice, ČR) na stejné hladině významnosti.

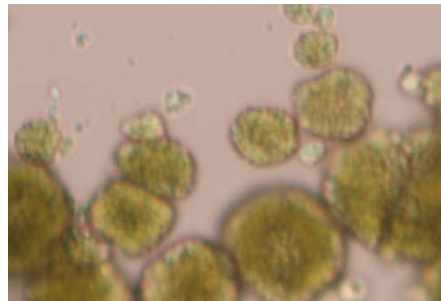
4. HLAVNÍ VÝSLEDKY PRÁCE

4.1 Mikroskopické pozorování

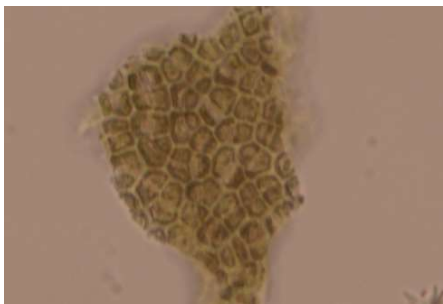
Všechny preparáty byly pozorovány a foceny při zvětšení 400x.



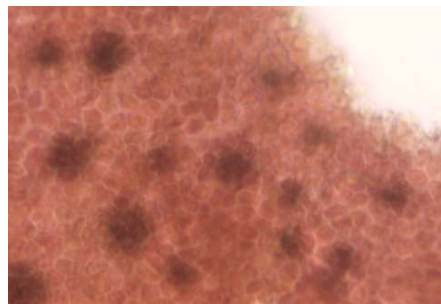
Obr. 4.1.1: *Spirulina platensis* (S)



Obr. 4.1.2: *Chlorella pyrenoidosa* (C)



Obr. 4.1.3: *Porphyra tenera* (N)



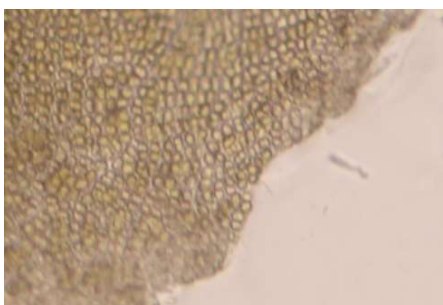
Obr. 4.1.4: *Palmaria palmata* (D)



Obr. 4.1.5: *Laminaria japonica* (K)



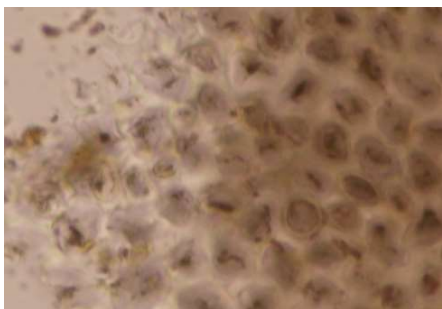
Obr. 4.1.6: *Eisenia bicyclis* (A)



Obr. 4.1.7: *Undaria pinnatifida* (W)



Obr. 4.1.8: *Undaria pinnatifida* (WI)



Obr. 4.1.9: *Hizikia fusiformis* (H)

S. platensis, S (Obr. 4.1.1) je vláknitá nevětvená sinice s cylindrickými buňkami. Namodralé zbarvení je způsobeno přítomností fykobilinů. *C. pyrenoidosa*, C (Obr. 4.1.2) je jednobuněčná zelená kokální řasa s kulovitým tvarem buněk o velikosti 1 – 10 μm . Má vrstevnatou hladkou buněčnou stěnu, nástěnný chloroplast a miskovitý pyrenoid.

Červená řasa *P. tenera*, N (Obr. 4.1.3) je vláknitá řasa s ploše listovitou stélkou. Zelené zbarvení se vyskytuje u mladších stélek, později se zbarvují do hnědavě či červeně purpurové. *P. palmata*, D (Obr. 4.1.4) má kožovitou stélku a její barva se pohybuje od růžové až po purpurovou. Obecně se na červeném zbarvení řas podílí fykokyanin a fykoerytrin.

Pletivná stélka hnědých řas (Obr. 4.1.5-9) dorůstá větších rozměrů a hnědé zbarvení je způsobeno přítomností fukoxantinu.

4.2 Stanovení sušiny, popela a elementárního složení

Procentuální zastoupení obsahu sušiny a popela ve vzorcích řas je uvedeno v tabulce 4.2.1. Elementární složení (uhlík, vodík, dusík a síra) vzorků řas v g/100 g popelu prosté sušiny je uvedeno v tabulce 4.2.2.

Obsah sušiny se pohyboval v rozmezí od 89,1 % (*P. tenera*, N) do 93,7 % (*C. pyrenoidosa*, C). Vzhledem k tomu, že se jedná o již sušené produkty z řas, jsou zjištěné hodnoty pro tyto produkty charakteristické [7].

Hodnota obsahu popela byla ve vzorcích více proměnlivá, pohybovala se od 7,4 % až do 38,6 %. Nejnižší hodnota popela byla stanovena u sinice *S. platensis*, S a naopak nejvíce popela bylo obsaženo v hnědé řase *U. pinnatifida*, W. Ve srovnání s výsledky analyzovaných komerčně dostupných řasových produktů ve Španělsku, byl obsah popela u sinice *S. platensis* vyšší (14 %) a naopak u hnědé mořské řasy *U. pinnatifida* nižší (30,2 %) [5].

Tab. 4.2.1: Obsah sušiny a popela ve vzorcích řas [%]

Vzorek	Sušina [%]	Popel [%]
S	93,4 ± 0,1	7,4 ± 0,1
C	93,7 ± 0,2	10,6 ± 0,4
N	89,1 ± 0,3	20,6 ± 0,4
D	92,9 ± 0,1	18,3 ± 0,1
K	92,0 ± 0,2	25,6 ± 0,4
A	91,2 ± 0,1	10,7 ± 0,1
W	92,0 ± 0,1	38,6 ± 0,1
WI	90,1 ± 0,2	21,9 ± 0,1
H	91,1 ± 0,1	20,9 ± 0,1

Z hlediska obsahu uhlíku a dusíku byla na tyto prvky nejbohatší zelená řasa *C. pyrenoidosa*, C – 58,6 g/100 g a 12,9 g/100 g popelu prosté sušiny. Nejvyšší obsah síry byl potom stanoven v červené řase *P. tenera*, N – 1,7 g/100 g popelu prosté sušiny. Elementární složení komerčně dostupného produktu ze sinice *S. platensis*, S vykazovalo obdobné zastoupení prvků, jako tomu bylo u jiného komerčně dostupného produktu z této sinice [5]. Ve shodě s publikovanými údaji byl u zkoumaných vzorků stanoven nižší obsah síry nebo tento prvek nebyl stanoven vůbec [5]. Naproti tomu při stanovení síry metodou hmotnostní spektrometrie (kapitola 4.3 – Stanovení vybraných chemických prvků), byla síra

u všech vzorků zaznamenána. Z těchto výsledků lze usuzovat, že v případě prvků s nižší koncentrací ve vzorku je metoda hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem pro dané stanovení efektivnější.

Tab. 4.2.2: Elementární složení vzorků řas v g/100 g popelu prosté sušiny

Vzorek	Uhlík	Vodík	Dusík	Síra
S	56,6 ± 1,6	8,5 ± 0,2	11,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1
C	58,6 ± 2,6	8,5 ± 0,4	12,9 ± 0,6	nd
N	48,6 ± 1,9	8,2 ± 0,3	4,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1
D	50,4 ± 1,5	8,0 ± 0,2	4,2 ± 0,2	nd
K	50,5 ± 1,4	8,4 ± 0,2	2,5 ± 0,1	0,1 ± 0,1
A	51,6 ± 1,8	7,6 ± 0,3	2,3 ± 0,1	nd
W	52,5 ± 1,1	8,4 ± 0,2	4,5 ± 0,2	nd
WI	54,7 ± 2,0	8,5 ± 0,3	5,5 ± 0,3	nd
H	55,2 ± 1,6	7,7 ± 0,2	2,4 ± 0,1	nd

nd – pod mezí detekce metody

4.3 Stanovení vybraných chemických prvků

Stanovení izotopů vybraných 44 chemických prvků (tabulka 4.3.1, 4.3.2 a 4.3.3) ve vzorcích řas bylo provedeno hmotnostním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS, po předchozím mikrovlnném rozkladu vzorků za použití kyseliny dusičné a peroxidu vodíku určených pro ultrastopovou analýzu. Uvedené výsledky jsou uvedeny v µg/100 g sušiny vzorku.

Z obecného hlediska lze minerální prvky rozčlenit na majoritní minerální prvky, které se vyskytují v potravinách ve vyšším podílu zastoupení a mezi ně patří například Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S. Přejichod mezi majoritními minerálními prvky a prvky stopovými tvoří minerální prvky minoritní, např. Fe a Zn. Mezi

stopové prvky, vyskytující se obvykle v nízkých koncentracích, lze zařadit například Al, S, B, Cd, Co, Cr, Cu, F, Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se a Sn. Samotné rozdělení minerálních látek na majoritní, minoritní a stopové převážně odpovídá i zastoupení těchto prvků v lidském těle, nicméně tato klasifikace nemusí být dle různé matrice vždy výlučná [83].

Minerální prvky mohou být také klasifikovány jako esenciální (organizmus je musí přijímat potravou k zajištění důležitých biologických funkcí), toxické (prvky vykazující samy o sobě či ve formě svých sloučenin toxicitu a toxicita často spočívá v inhibici důležitých enzymů) a neesenciální [83].

4.3.1 Majoritní chemické prvky

Zjištěné obsahy chemických prvků byly proměnlivé v závislosti na daném druhu. Z majoritních chemických prvků (tabulka 4.3.1) převažovaly v analyzovaných vzorcích zejména hořčík a fosfor, vyjma vzorků tří hnědých řas *E. bicyclis*, A, *U. pinnatifida*, W a *H. fusiformis*, H, kde byl kromě hořčíku a fosforu převažující také obsah sodíku. U hnědé řasy *U. pinnatifida*, W se ve vysoké míře vyskytovala také síra.

Hořčík byl stanoven v rozmezí od 76 629 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny (*P. palmata*, D) až po 152 916 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny (*P. tenera*, N). Fosfor se vyskytoval ve velké míře především v produktech ze sinice *S. platensis*, S (286 238 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (581 901 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a autotrofně kultivované mikrořase *Chlorella* sp., CT (389 967 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Koncentrace sodíku se ve vzorcích pohybovala od 20 141 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*C. pyrenoidosa*, C) do 34 621 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*P. tenera*, N). Obsah draslíku byl u všech vyšetřovaných vzorků relativně vyrovnaný a to od 4 517 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*Chlorella* sp., CT) až do 4 991 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*P. tenera*, N) a z hlediska obsahu vápníku byl tento prvek nejvíce zastoupen u hnědých řas *E. bicyclis*, A (18 381 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a *H. fusiformis*, H (11 431 $\mu\text{g}/100\text{ g}$).

Tab. 4.3.1: Obsahy majoritních chemických prvků v $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny vzorku

Chemické prvky	S	C	N	D	K	A	W	H	CT
^{23}Na	33 389 \pm 108	20 141 \pm 161	34 621 \pm 154	32 085 \pm 112	32 665 \pm 142	33 515 \pm 201	33 131 \pm 248	33 465 \pm 154	29 408 \pm 147
^{24}Mg	146 103 \pm 592	142 186 \pm 405	152 916 \pm 624	76 629 \pm 609	144 275 \pm 758	148 029 \pm 1 241	146 335 \pm 1 074	147 808 \pm 564	138 396 \pm 246
^{31}P	286 238 \pm 4 294	581 901 \pm 4 073	39 063 \pm 664	57 265 \pm 744	94 337 \pm 2 924	17 831 \pm 160	29 381 \pm 676	16 950 \pm 525	389 967 \pm 9 749
^{32}S	22,63 \pm 0,38	16,89 \pm 0,15	45,77 \pm 0,47	9,26 \pm 0,23	14,47 \pm 0,35	14,44 \pm 0,35	8 954 \pm 197	19,51 \pm 0,76	22,34 \pm 0,54
^{39}K	4 814 \pm 87	4 641 \pm 73	4 991 \pm 81	4 626 \pm 80	4 709 \pm 63	4 832 \pm 58	4 776 \pm 49	4 825 \pm 67	4 517 \pm 201
^{44}Ca	1 417 \pm 24	9 992 \pm 150	4 501 \pm 104	1 532 \pm 38	5 456 \pm 136	18 381 \pm 257	6 705 \pm 127	11 431 \pm 240	8 623 \pm 164

Tab. 4.3.2: Obsahy minoritních a stopových prvků v $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny vzorku

Chemické prvky	S	C	N	D	K	A	W	H	CT
^7Li	6,36 \pm 0,10	5,29 \pm 0,17	69,66 \pm 1,46	30,70 \pm 0,58	31,05 \pm 0,25	12,81 \pm 0,23	276,00 \pm 4,14	25,91 \pm 0,26	8,84 \pm 0,27
^9Be	0,03 \pm 0,01	0,16 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,46 \pm 0,04	0,02 \pm 0,01	0,07 \pm 0,02	0,43 \pm 0,05	0,09 \pm 0,02	0,25 \pm 0,04
^{27}Al	1 957 \pm 25	3 152 \pm 88	23 934 \pm 263	11 452 \pm 160	1 108 \pm 31	2 624 \pm 66	146 352 \pm 3 658	1 585 \pm 52	5 316 \pm 69
^{45}Sc	13,82 \pm 1,27	23,37 \pm 1,38	12,98 \pm 0,08	35,05 \pm 0,77	4,10 \pm 0,13	8,08 \pm 0,14	1 292 \pm 52	10,39 \pm 0,38	8,00 \pm 0,18
^{48}Ti	619,23 \pm 50,05	5 521 \pm 28	3 292 \pm 43	1 044 \pm 64	1 792 \pm 57	5 610 \pm 79	3 589 \pm 57	3 657 \pm 69	3 064 \pm 55
^{51}V	9,35 \pm 0,15	11,55 \pm 0,46	10,70 \pm 4,80	8,93 \pm 0,18	21,35 \pm 0,11	26,69 \pm 0,59	0,89 \pm 0,52	2,85 \pm 1,79	12,54 \pm 5,68
^{52}Cr	0,41 \pm 0,04	0,41 \pm 0,04	nd	0,03 \pm 0,01	0,20 \pm 0,03	0,41 \pm 0,04	0,24 \pm 0,01	nd	5,82 \pm 2,12
^{55}Mn	2 723 \pm 16	11 984 \pm 156	30 314 \pm 667	864,69 \pm 12,97	141,70 \pm 1,42	347,41 \pm 3,13	221,24 \pm 2,65	703,62 \pm 11,96	28 534 \pm 656
^{57}Fe	48,74 \pm 0,97	29,37 \pm 0,88	14,25 \pm 5,97	16,59 \pm 2,02	12,40 \pm 0,55	46,05 \pm 3,68	89,48 \pm 4,65	8,64 \pm 0,85	1 172 \pm 26
^{59}Co	19,65 \pm 0,31	17,88 \pm 0,20	76,60 \pm 0,54	12,29 \pm 0,07	9,26 \pm 0,12	14,87 \pm 0,03	13,39 \pm 0,74	9,09 \pm 0,05	4 300 \pm 73
^{60}Ni	836,64 \pm 4,18	115,45 \pm 2,31	429,80 \pm 3,87	340,62 \pm 1,36	42,34 \pm 0,21	62,06 \pm 0,93	38,88 \pm 0,70	112,75 \pm 1,01	342,48 \pm 1,03
^{63}Cu	720,51 \pm 8,65	1 051 \pm 8	668,63 \pm 7,35	603,59 \pm 5,43	287,73 \pm 3,17	781,63 \pm 11,72	101,30 \pm 0,81	139,29 \pm 2,93	15 220 \pm 259
^{66}Zn	899,18 \pm 7,19	1 543 \pm 167	322,37 \pm 6,13	861,21 \pm 10,33	346,78 \pm 4,16	856,28 \pm 17,13	170,41 \pm 1,87	305,81 \pm 6,42	10 956 \pm 121

Tab. 4.3.2: Obsahy minoritních a stopových prvků v $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny vzorku (pokračování)

Chemické prvky	S	C	N	D	K	A	W	H	CT
⁷¹ Ga	1,88 ± 0,07	5,04 ± 0,08	6,06 ± 0,13	4,46 ± 0,01	0,82 ± 0,03	1,38 ± 0,03	15,92 ± 0,13	0,73 ± 0,03	10,99 ± 0,12
⁷³ Ge	2,00 ± 0,12	5,06 ± 0,06	2,32 ± 0,08	1,86 ± 0,08	0,67 ± 0,10	0,89 ± 0,05	10,98 ± 0,18	0,69 ± 0,10	6,03 ± 0,15
⁸² Se	31,60 ± 1,30	165,67 ± 8,12	19,26 ± 8,49	24,59 ± 0,64	26,45 ± 0,63	41,71 ± 1,63	0,24 ± 0,02	8,94 ± 1,39	18,48 ± 0,39
⁸⁸ Sr	218,06 ± 0,87	4 223 ± 21	3 474 ± 69	1 255 ± 26	18 456 ± 314	71 907 ± 791	22 388 ± 224	62 049 ± 1 241	1 362 ± 12
⁸⁹ Y	0,91 ± 0,02	2,88 ± 0,05	11,50 ± 0,16	45,02 ± 0,63	1,61 ± 0,03	15,56 ± 0,25	18,40 ± 0,04	2,60 ± 0,06	2,28 ± 0,03
⁹⁰ Zr	21,30 ± 0,04	9,14 ± 0,99	26,52 ± 1,86	86,76 ± 7,80	13,56 ± 0,08	37,31 ± 0,22	5 699 ± 68	16,38 ± 0,20	1 430 ± 146
⁹⁵ Mo	728,14 ± 13,83	595,85 ± 25,03	90,65 ± 2,90	295,77 ± 13,01	622,16 ± 6,22	97,37 ± 3,99	55,37 ± 0,50	53,70 ± 5,10	2 416 ± 36
¹⁰³ Rh	0,02 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,49 ± 0,01	1,77 ± 0,05	0,62 ± 0,01	1,33 ± 0,02	0,10 ± 0,01
¹⁰⁷ Ag	0,77 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,78 ± 0,01	4,31 ± 0,07	2,77 ± 0,03	20,58 ± 0,33	20,27 ± 0,43	1,52 ± 0,01	4,78 ± 0,34
¹¹⁵ In	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01
¹¹⁸ Sn	3,98 ± 0,06	3,21 ± 0,02	16,20 ± 0,21	1,14 ± 0,05	0,17 ± 0,04	2,68 ± 0,07	1,01 ± 0,04	1,60 ± 0,04	20,47 ± 0,41
¹²¹ Sb	2,20 ± 0,06	5,90 ± 0,06	2,43 ± 0,06	2,41 ± 0,01	1,31 ± 0,06	4,58 ± 0,07	3,56 ± 0,07	3,79 ± 0,04	8,42 ± 0,13
¹³³ Cs	2,32 ± 0,01	1,20 ± 0,01	3,16 ± 0,06	7,35 ± 0,10	2,14 ± 0,01	3,13 ± 0,07	15,08 ± 0,03	1,28 ± 0,03	1,18 ± 0,02
¹³⁷ Ba	37,83 ± 0,68	225,50 ± 7,44	9,87 ± 0,02	10,56 ± 0,30	21,45 ± 0,36	204,26 ± 32,07	87,26 ± 0,52	64,48 ± 0,39	214,60 ± 4,72
¹⁴⁰ Ce	2,56 ± 0,05	4,38 ± 0,01	38,99 ± 0,51	13,82 ± 0,26	2,66 ± 0,05	6,65 ± 0,11	27,59 ± 0,06	2,77 ± 0,02	1 628 ± 55
¹⁵⁹ Tb	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,35 ± 0,01
¹⁶⁵ Ho	0,03 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,43 ± 0,02	0,92 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01
¹⁸¹ Ta	0,15 ± 0,02	0,74 ± 0,23	0,97 ± 0,06	1,75 ± 0,13	0,08 ± 0,03	0,78 ± 0,09	10,62 ± 0,25	0,73 ± 0,04	1,05 ± 0,05
²⁰⁵ Tl	0,07 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,29 ± 0,01
²⁰⁹ Bi	0,28 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,15 ± 0,01
²³⁸ U	1,49 ± 0,07	0,68 ± 0,03	1,82 ± 0,03	1,42 ± 0,05	2,73 ± 0,05	46,25 ± 0,69	8,95 ± 0,06	17,49 ± 0,28	1,08 ± 0,08

nd – pod mezí detekce metody

Tab. 4.3.3: Obsahy toxických prvků v $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny vzorku

Chemické prvky	S	C	N	D	K	A	W	H	CT
^{75}As	$5,40 \pm 0,79$	$16,74 \pm 1,54$	$14,66 \pm 7,17$	$6,46 \pm 0,27$	$4,13 \pm 0,27$	$2,37 \pm 0,47$	$1,44 \pm 0,77$	$2,92 \pm 0,35$	$6,73 \pm 1,25$
^{111}Cd	$1,42 \pm 0,05$	$0,75 \pm 0,01$	$3,32 \pm 0,13$	$32,92 \pm 0,49$	$46,23 \pm 0,79$	$63,64 \pm 0,64$	$11,74 \pm 0,22$	$25,64 \pm 0,18$	$3,31 \pm 0,18$
^{202}Hg	nd	nd	$0,05 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$	nd	$1,22 \pm 0,07$	nd	$0,29 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,02$
^{208}Pb	$16,90 \pm 0,56$	$36,34 \pm 0,47$	$33,31 \pm 0,60$	$8,46 \pm 0,08$	$2,00 \pm 0,01$	$28,34 \pm 0,28$	$11,08 \pm 0,17$	$11,77 \pm 0,06$	$52,39 \pm 3,72$

nd – pod mezí detekce metody

Ze zjištěných výsledků je patrné, že všechny druhy vyšetřovaných řas jsou významnými zdroji chemických prvků. Například obsah majoritně zastoupeného hořčíku je srovnatelný s obsahem tohoto prvku u některých potravin bohatých právě na hořčík. Obsah fosforu u sladkovodních řas a sinice je také srovnatelný s potravinami bohatými na fosfor. Naopak obsah draslíku a síry byl významně nižší, než je udáváno v porovnání s většinou potravin [83].

4.3.2 Minoritní a stopové prvky

Z hlediska obsahu vybraných minoritních a stopových prvků lze zmínit opět velké rozdíly mezi jednotlivými analyzovanými prvky (tabulka 4.3.2).

Z majoritně zastoupených prvků byl u vyšetřovaných vzorků zjištěn titan v obsahu od 619,23 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*S. platensis*, S) do 5 610 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*E. bicyclis*, A), mangan v obsahu od 141,70 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*L. japonica*, K) do 30 314 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*P. tenera*, N) a stroncium v obsahu od 218,06 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*S. platensis*, S) do 71 907 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (*E. bicyclis*, A). Nejvyšší koncentrace stroncia byly zaznamenány u vyšetřovaných vzorků hnědých řas v porovnání s ostatními zástupci jiných skupin řas.

Nejvyšší množství hliníku bylo stanoveno u hnědé řasy *U. pinnatifida*, W (146 352 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a dále vysoké obsahy tohoto prvku se vyskytovaly ve skupině červených řas – *P. tenera*, N (23 934 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a *P. palmata*, D (11 452 $\mu\text{g}/100\text{ g}$).

Nejvyšší obsah chromu (5,82 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), železa (1 172 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), kobaltu (4 300 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), mědi (15 220 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a zinku (10 956 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) se vyskytoval v autotrofně kultivované zelené mikrořase *Chlorella sp.*, CT.

Z komerčně dostupných produktů byly na chrom nejbohatší sladkovodní sinice *S. platensis*, S (0,41 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), zelená řasa *C. pyrenoidosa*, C (0,41 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) a hnědá řasa *E. bicyclis*, A (0,41 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Nejvyšší obsah železa z produktů vykazovala hnědá řasa *U. pinnatifida*, W (89,48 $\mu\text{g}/100\text{ g}$)

a nejvyšší obsah mědi a zinku zelená řasa *C. pyrenoidosa*, C (1 051 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), respektive (1 543 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Z hlediska obsahu selenu byl z vyšetřovaných vzorků nejvyšší obsah tohoto prvku stanoven v produktu ze zelené mikrořasy *C. pyrenoidosa*, C (165,67 $\mu\text{g}/100\text{ g}$).

Při porovnání získaných výsledků koncentrací chemických prvků s hodnotami koncentrací těchto prvků v běžných potravinách je patrné, že především sladkovodní řasy a sinice jsou dobrým zdrojem chromu. U většiny vyšetřovaných vzorků se také nachází nezanedbatelné množství selenu. Autotrofně kultivovaná zelená mikrořasa *Chlorella* sp., CT obsahuje srovnatelné množství železa, jako je tomu například u vepřového masa (10 – 20 mg/kg) a zinku, jako je tomu u vepřových jater (56 – 112 mg/kg). A obecně byly vyšetřované vzorky také dobrým zdrojem kobaltu a mědi ve srovnání s vybranými zdroji potravin [83].

4.3.3 Toxické prvky

Mezi nejdůležitější toxické prvky patří Pb, Cd, Hg a As. K proniknutí těchto prvků do potravního řetězce přispívá jednak člověk sám, ale i vlivy přirozené. Z antropogenních vlivů lze zmínit spalování fosilních paliv, dopravu, použití daných prvků v průmyslu a technice atd. Mezi přírodní vlivy patří například vulkanická činnost a zvětrávání hornin [83]. Řasy mají specifickou schopnost absorbovat různé kovy a to mnohem více, než je tomu například u suchozemských rostlin. V závislosti na této vlastnosti jsou řasy zkoumány jako možné nástroje pro odstraňování těžkých kovů ze znečištěného prostředí. Hlavním endogenním faktorem, který je zodpovědný za schopnost absorbovat anorganické prvky z prostředí, je především struktura buněčných polysacharidových stěn. Obecně hnědé řasy mají vyšší schopnost vázat chemické prvky do pletiv, než řasy zelené a červené, protože obsahují velké množství látek s anorganickými skupinami v buněčných stěnách (alginové

kyseliny, proteiny, polygalakturonové kyseliny aj.). Na druhou stranu v jiné studii byla zjištěna vyšší schopnost červené řasy *P. palmata* k akumulaci Cd a Cr než u jiných vyšetřovaných vzorků hnědých řas jako *Ascophyllum nodosum* a *Fucus vesiculosus* [21, 84].

Koncentrace toxických prvků (As, Cd, Hg a Pb) se také v rámci druhů u vyšetřovaných vzorků značně lišily (tabulka 4.3.3). Nejvyšší koncentrace arzenu se vyskytovaly u zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (16,74 µg/100 g) a červené řasy *P. tenera*, N (14,66 µg/100 g). Naopak nejnižší koncentrace tohoto prvku vykazovala hnědá řasa *U. pinnatifida*, W (1,44 µg/100 g). Obsah kadmia byl nejvyšší u dvou hnědých řas, *L. japonica*, K (46,23 µg/100 g) a *E. bicyclis*, A (63,64 µg/100 g) a naopak nejnižší obsahy tohoto prvku byly zaznamenány v zelených řasách. Rtuť byla stanovena v nejvyšší koncentraci u hnědé řasy *E. bicyclis*, A (1,22 µg/100 g) a autotrofně kultivované zelené řasy *Chlorella* sp., CT (0,47 µg/100 g). A konečně olovo bylo obsaženo v nejvyšší míře u produktu ze zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (36,34 µg/100 g) a autotrofně kultivované mikrořasy *Chlorella* sp., CT (52,39 µg/100 g).

Povolené limity obsahů těžkých kovů nejsou pro produkty z řas pro Českou republiku zatím stanoveny. Ale povolené limity obsahu toxických kovů u produktů z jedlých řas, prodávaných ve Francii, udávají koncentraci anorganického arzenu nižší 3 mg/kg, olova méně než 5 mg/kg, kadmia méně než 0,5 mg/kg a rtuti méně než 0,1 mg/kg [2]. Z tohoto hlediska analyzované vzorky splňovaly povolené limity pro obsah toxických prvků vyjma hnědé řasy *E. bicyclis*, A. Zde byla koncentrace kadmia 64 µg/100 g sušiny, přičemž povolená koncentrace je 50 µg/100 g.

Obsahy zjištěných těžkých kovů udávaných v literatuře pro jedlé produkty z červených řas jsou následující: *P. tenera* – As (23,7 – 28,3 mg/kg), Pb (0,29 – 0,31 mg/kg), Cd (0,18 – 0,35 mg/kg), Hg (4 – 14 µg/kg), *P. palmata* – As (7,56 – 12,8 mg/kg), Pb – 1,1 mg/kg, Cd – 0,7 mg/kg, Hg – 10,5 µg/kg). U hnědých

řas jsou uváděné obsahy těžkých kovů následující: *L. japonica* – As (47 – 53 mg/kg), Pb – pod detekčním limitem, Cd (0,15 – 0,30 mg/kg), Hg (30 – 37 µg/kg), *E. bicyclis* – As (23,8 – 30 mg/kg), Pb (0,15 – 0,19 mg/kg), Cd (0,67 – 0,75 mg/kg), Hg (33,6 – 42 µg/kg). *U. pinnatifida* – As (32 – 42 mg/kg), Pb – pod detekčním limitem, Cd (0,13 – 1,9 mg/kg), Hg (12 – 23 µg/kg), *H. fusiformis* – As (115 – 141 mg/kg), Pb (0,53 – 0,89 mg/kg), Cd (1 – 1,46 mg/kg), Hg (25,9 – 35 µg/kg) [2].

4.4 Stanovení obsahu lipidů

Procentuální obsah lipidů ve vzorcích řas při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1) a dále hexanem je uveden v tabulce 4.4.1. Získané výsledky obsahu lipidů a profilů mastných kyselin řas byly publikovány v impaktovaném vědeckém časopise *Molecules* [18].

Extrakce za použití rozpouštědlové směsi metanol/chloroform/voda (1:2:1) vykazovala vyšší obsahy stanovených lipidů u všech analyzovaných vzorků v rozmezí od 1,32 % v červené řase *P. palmata*, D do 10,23 % v sinici *S. platensis*, S. Extrakce za použití hexanu byla méně efektivní z hlediska množství vyextrahovaných lipidů, které se pohybovalo od 0,64 % v červené řase *P. palmata*, D do 3,50 % v sinici *S. platensis*, S pro stejné analyzované vzorky jako při předešlém stanovení.

Celkový obsah lipidů může být ovlivněn i způsobem kultivace či technologickým procesem zpracování. Pro srovnání obsah lipidů v autotrofně kultivované sinici *S. platensis* byl vyšší (18,02 %), než tomu bylo u produktu ze stejné sinice *S. platensis*, S (10,23 %). Stejně tak u autotrofně kultivované zelené řasy *C. kessleri* byl obsah celkových lipidů vyšší (18,01 %) ve srovnání s 3,70 % lipidů v produktu ze zelené řasy *C. pyrenoidosa* [18].

Tab. 4.4.1: Obsah lipidů ve vzorcích řas v [%]

Vzorek	Obsah lipidů [%]	
	Extrakce ¹	Extrakce ²
S	10,23 ± 0,59 ^a	3,50 ± 0,37 ^b
C	3,70 ± 0,31 ^a	3,41 ± 0,32 ^a
N	1,61 ± 0,10 ^a	0,93 ± 0,13 ^b
D	1,32 ± 0,18 ^a	0,64 ± 0,10 ^b
K	3,11 ± 0,26 ^a	1,83 ± 0,19 ^b
A	2,02 ± 0,22 ^a	1,58 ± 0,12 ^b
W	1,66 ± 0,15 ^a	0,73 ± 0,17 ^b
WI	3,31 ± 0,34 ^a	1,11 ± 0,15 ^b
H	1,55 ± 0,16 ^a	1,17 ± 0,08 ^b

Extrakce¹ – extrakce rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)

Extrakce² – extrakce hexanem

^{a, b} Hodnoty v řádku s rozdílným indexem jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$

Srovnatelné výsledky obsahu celkových lipidů u sinice *S. platensis* (14,3 %) po extrakci rozpouštědlovou směsí chloroform/metanol (2:1) publikoval Babadzhanov *et al.* [36]. Na druhou stranu Ortega-Calvo *et al.* uvádí nižší hodnoty obsahů lipidů v produktech ze sinic *S. platensis*, *S. maxima* a *Spirulina* sp. (6,4 – 7,5 % v sušině) při použití extrakční směsi dichlormetan/chloroform (2:1) [5].

Obsah celkových lipidů stanovených v produktu *C. pyrenoidosa* byl nižší ve srovnání s výsledky udávanými Ortega-Calvo *et al.* v sušeném produktu *C. vulgaris* (8,6 % v sušině) po extrakci směsí dichlormetan/metanol (2:1) [5]. D'Oca *et al.* uvádí výsledky celkového obsahu lipidů v *C. pyrenoidosa*

v rozmezí od 1,55 % do 20,74 % v závislosti na použitém rozpouštědle a extrakční metodě [38].

Celkový obsah lipidů po extrakci rozpouštědlovou směsí byl u červených řas v rozmezí od 1,32 % (*P. palmata*) do 1,61 % (*P. tenera*). Tyto hodnoty byly v souladu s údaji v literatuře, pro *Porphyra* sp. (1,0 – 2,8 %) a *P. palmata* (0,9 – 1,8 %), ačkoliv tyto hodnoty byly stanoveny za použití jiných extrakčních rozpouštědel [5, 9, 40].

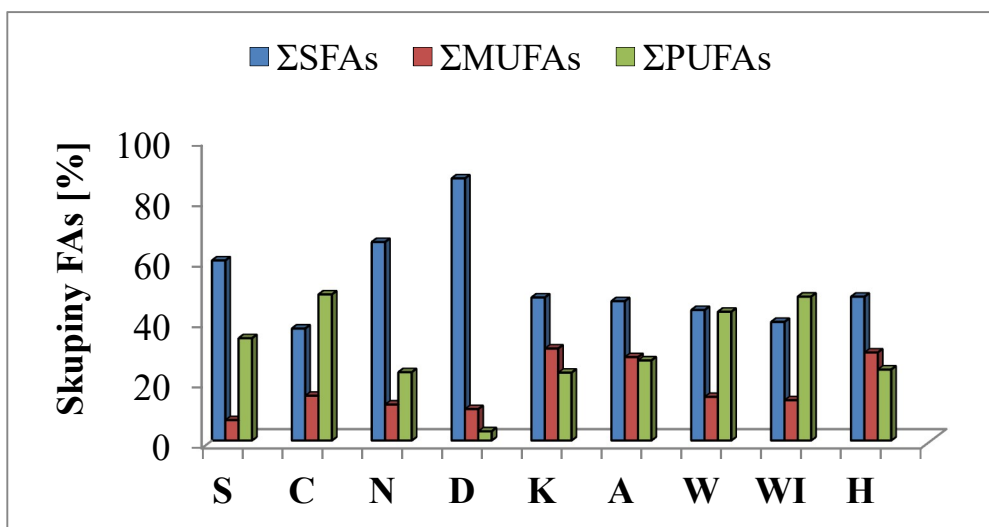
U hnědých řas se celkový obsah lipidů po extrakci rozpouštědlovou směsí pohyboval v rozmezí od 1,55 % (*H. fusiformis*, H) do 3,31 % (*U. pinnatifida*, WI). Zjištěné výsledky byly převážně v souladu s publikovanými výsledky: *L. japonica* – 1,0 % [9], *Eisenia arborea* – 0,6 % [34], *U. pinnatifida* 1,05 – 4,5 % [9, 40] a konečně u *H. fusiformis* 0,7 – 1,4 % [5, 9].

Bylo zjištěno, že sladkovodní zelené řasy a sinice obsahují obecně více lipidů než je tomu u mořských produktů z řas. To může být způsobeno specifickým metabolismem a růstovými podmínkami těchto řas. Statisticky významný rozdíl v obsahu lipidů se mezi použitými rozpouštědly neprojevil pouze u vzorku zelené řasy *C. pyrenoidosa*, *C.*

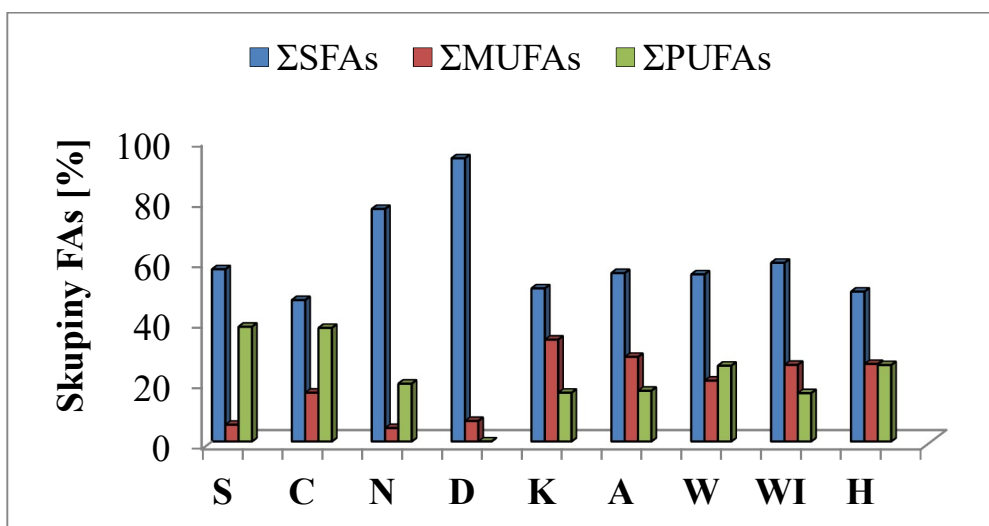
4.5 Stanovení profilů mastných kyselin

Mastné kyseliny (FAs) byly stanoveny plynovou chromatografií jejich metylesterů (% FAMES) po extrakci za použití rozpouštědlové směsi metanol/chloroform/voda (rozpouštědlo I) a hexanu (rozpouštědlo II).

Rozdílná efektivita dvou rozpouštědel, směsi metanol/chloroform/voda (1:2:1) a hexanu, na procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin, je patrná z obrázků 4.5.1 a 4.5.2. V souladu s údaji uváděnými v literatuře, mezi nejvíce zastoupené skupiny mastných kyselin patřily nasycené mastné kyseliny (SFAs) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFAs) [9, 85].



Obr. 4.5.1: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin FAs při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)



Obr. 4.5.2: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin FAs při extrakci hexanem

Vyšší obsah nasycených mastných kyselin byl zaznamenán u všech vzorků vyjma *S. platensis*, S za použití hexanu. Naopak rozpouštědlová směs metanol/chloroform/voda (1:2:1) byla efektivnější při stanovení procentuálního zastoupení polynenasycených mastných kyselin, vyjma vzorku sinice *S. platensis*, S a hnědé řasy *H. fusiformis*, H. Extrakce za použití hexanu byla také efektivnější pro stanovení mononenasycených mastných kyselin (MUFAs)

u vzorku *C. pyrenoidosa*, C a čtyř vzorků hnědých řas – *L. japonica* (K), *E. bicyclis* (A) a *U. pinnatifida* (W, WI).

Složení mastných kyselin komerčně dostupných produktů ze sinice a řas za použití rozpouštědlové směsi metanol/chloroform/voda (1:2:1) je uvedeno v tabulce 4.5.1 a za použití hexanu v tabulce 4.5.2. Výsledky jsou uváděny v procentech z celkových FAMES.

4.5.1 Nasycené mastné kyseliny

Nejvyšší obsah SFAs získaný rozpouštědlovou směsí (I) i hexanem (II) byl zaznamenán u červených řas, *P. palmata*, D (86,58 %/93,26 % z FAMES) a *P. tenera*, N (65,56 %/76,56 % z FAMES). Naopak nejnižší obsah SFAs se vyskytoval u zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (36,99 %/46,56 % z FAMES). Obecně převažující SFAs byla při extrakci rozpouštědlovou směsí (I) kyselina palmitová (C16:0) v rozmezí od 25,59 % z FAMES – *C. pyrenoidosa*, C až po 65,49 % z FAMES – *P. palmata*, D. Při extrakci hexanem se obsah kyseliny palmitové pohyboval od 27,53 % z FAMES – *C. pyrenoidosa*, C do 48,82 % z FAMES – *P. palmata*, D.

Stanovené množství kyseliny palmitové (C16:0) v sinici *S. platensis*, S (53,02 %/44,85 % z FAMES) je srovnatelné s udávanými množstvími (49,1 – 56,2 %) u *Spirulina* sp., *S. platensis* a *S. maxima* [36].

Srovnatelné množství kyseliny palmitové, jako je udáváno v literatuře (22 – 25,1 %), bylo rovněž stanoveno v zelené řase *C. pyrenoidosa*, C (25,59 – 27,53 % z FAMES) [5, 86].

Obsah kyseliny palmitové v červených řasách, *P. palmata*, D (65,49 %/48,82 % z FAMES) a *P. tenera*, N (57,61 %/46,50 % z FAMES) byl jednoznačně nejvyšší při použití obou rozpouštědel (I, II). Tyto výsledky jsou v souladu s údaji uváděnými v literatuře, pro *Porphyra* sp. (30,8 – 63,19 %) [9, 40] a *P. palmata* (23,3 – 65,8 %) [5, 87].

Obecně množství kyseliny palmitové (C16:0) v hnědých řasách, získané extrakcí hexanem (II), bylo vyšší (34,36 – 38,35 % z FAMES) než při použití rozpouštědlové směsi (I) (31,05 – 33,80 % z FAMES). Bylo zjištěno, že obsah kyseliny palmitové v *L. japonica*, K (31,21 %/34,67 % z FAMES) byl obdobný, jako množství udávané v *Laminaria* sp. – 36,0 % [9], ale rozdílný od obsahu udávaném ve stejném druhu *L. japonica* (12,3 %) [88]. Dále v řasách *H. fusiformis*, H a *U. pinnatifida*, (W, WI), bylo stanoveno vyšší množství kyseliny palmitové, než je udáváno v literatuře [5, 9, 88].

4.5.2 Mononenasyčené mastné kyseliny

Celkové množství MUFAs bylo nižší v porovnání s množstvím SFAs a pohybovalo se od 6,73 % z FAMES (*S. platensis*, S) do 30,38 % z FAMES (*L. japonica*, K) za použití rozpouštědlové směsi (I) a od 4,41 % z FAMES (*P. tenera*, N) do 33,55 % z FAMES (*L. japonica*, K) za použití hexanu (II). Obecně byly zjištěny velké rozdíly ve stanovených hodnotách MUFAs u daných vzorků. Nejvyšší obsah MUFAs byl zjištěn u hnědých řas a naopak nejnižší u sinice a červených řas.

Převažující MUFAs byla u většiny vzorků kyselina olejová C18:1(n-9), vyjma vzorků *S. platensis*, S a *P. tenera*, N, kde byla dominující MUFAs kyselina palmitoolejová C16:1(n-7), respektive eikosenová kyselina C20:1(n-9). Obsah kyseliny olejové se pohyboval od 2,79 %/2,46 % z FAMES (*S. platensis*, S) do 26,45 %/30,49 % z FAMES (*L. japonica*, K) při použití rozpouštědlové soustavy (I), respektive hexanu (II). Bohužel zjištěné výsledky obsahu kyseliny olejové nejsou u většiny vzorků v přesné shodě s údaji uváděnými v literatuře [5, 9, 36, 40, 87, 88]. Například obsah kyseliny olejové v sinici *Spirulina* sp., *S. platensis* a *S. maxima* byl ve stopových množstvích [5] oproti 10,1 % kyseliny olejové v autotrofně kultivované sinici *S. platensis* [36]. Nebo u hnědé řasy

L. japonica, K byl zjištěný obsah kyseliny olejové mnohonásobně vyšší, než je udáváno v literatuře (8,4 %) [88].

4.5.3 Polynenasycené mastné kyseliny

Stanovené množství PUFAs se pohybovalo od 3,04 % z FAMEs (*P. palmata*, D) do 48,23 % z FAMEs (*C. pyrenoidosa*, C) při použití rozpouštědlové směsi (I) a od 0,0 % z FAMEs (*P. palmata*, D) do 37,79 % z FAMEs (*S. platensis*, S) při použití hexanu (II). Extrakce za použití hexanu (II) se zdá být méně účinná pro stanovení PUFAs s vyšším počtem uhlíků než za použití rozpouštědlové směsi (I). Ve většině případů PUFAs s vyšším počtem uhlíků nebyly stanoveny, vyjma kyseliny arachidonové C20:4(n-6) stanovené v produktech z hnědých řas. Dále jsou proto uváděny výsledky stanovených PUFAs za použití účinnější rozpouštědlové směsi (I).

Převládající PUFAs byla u sinice *S. platensis*, S kyselina γ -linolenová C18:3(n-6) – 17,36 % z FAMEs a kyselina linolová C18:2(n-6) – 16,17 % z FAMEs. Obsah kyseliny linolové C18:2(n-6) byl v analyzované sinici *S. platensis*, S přibližně stejný (16,17 % z FAMEs), jako je udáváno v literatuře pro *Spirulina* sp., *S. platensis* a *S. maxima* (12,6 – 21,7 %) [5] nebo pro *S. platensis* (11,1 %) [36]. Naopak ve vyšetřovaných vzorcích nebyla ve srovnání s publikovanými údaji stanovena kyselina α -linolenová C18:3(n-3) [5, 36].

V zelené řase *C. pyrenoidosa*, C byla převládající kyselinou α -linolenová C18:3(n-3) – 21,29 % z FAMEs a také kyselina linolová C18:2(n-6) – 18,79 % z FAMEs. Dle Petkov a Garcia byl zaznamenán obsah kyseliny linolové C18:2(n-6) v zelené řase *C. vulgaris* ve vyšším množství (24 %) než u vzorku *C. pyrenoidosa*, C [86].

Tab. 4.5.1: Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)(rozpuštědlo I)

FAs	S	C	N	D	K	A	W	WI	H
C10:0	0,11 ± 0,03	0,20 ± 0,03	1,40 ± 0,23	0,57 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,16 ± 0,06
C12:0	0,21 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,29 ± 0,06	0,58 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,06	0,13 ± 0,02
C14:0	0,56 ± 0,03	0,44 ± 0,01	1,99 ± 0,18	12,32 ± 0,67	5,82 ± 0,01	8,18 ± 0,03	5,88 ± 0,04	5,16 ± 0,05	5,09 ± 0,17
C15:0	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,88 ± 0,13	1,79 ± 0,14	0,20 ± 0,01	0,59 ± 0,04	0,44 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,45 ± 0,01
C16:0	53,02 ± 0,57	25,59 ± 0,43	57,61 ± 0,63	65,49 ± 0,42	31,21 ± 0,19	31,10 ± 0,26	33,38 ± 0,28	31,05 ± 0,69	33,80 ± 1,68
C17:0	0,28 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,28 ± 0,15	0,45 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,28 ± 0,14	0,36 ± 0,04	0,34 ± 0,08	0,39 ± 0,10
C18:0	4,75 ± 0,25	9,48 ± 1,23	1,40 ± 0,12	3,45 ± 0,24	5,00 ± 0,05	0,96 ± 0,03	2,04 ± 0,15	1,43 ± 0,05	1,19 ± 0,15
C20:0	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,04	nd	nd	0,67 ± 0,03	1,36 ± 0,06	0,78 ± 0,03	0,65 ± 0,07	0,19 ± 0,02
C21:0	nd	nd	0,36 ± 0,02	nd	nd	nd	nd	nd	0,92 ± 0,08
C22:0	nd	0,16 ± 0,06	1,71 ± 0,13	nd	nd	nd	nd	nd	0,49 ± 0,01
C24:0	0,38 ± 0,05	0,47 ± 0,02	nd	1,95 ± 0,05	4,06 ± 0,13	3,42 ± 0,12	nd	nd	4,68 ± 0,68
C16:1 (n-7)	3,36 ± 0,08	1,49 ± 0,02	2,20 ± 0,01	5,01 ± 0,02	0,79 ± 0,01	10,04 ± 0,11	1,80 ± 0,09	1,04 ± 0,03	5,25 ± 0,03
C17:1 (n-7)	0,50 ± 0,01	0,15 ± 0,06	0,42 ± 0,01	nd	0,09 ± 0,01	0,57 ± 0,06	nd	0,13 ± 0,04	0,44 ± 0,10
C18:1trans (n-9)	0,08 ± 0,01	5,05 ± 0,23	1,49 ± 0,22	nd	0,20 ± 0,03	nd	nd	nd	nd
C18:1cis (n-9)	2,79 ± 0,07	8,06 ± 2,64	3,79 ± 0,72	5,29 ± 0,29	26,45 ± 0,12	13,39 ± 0,26	13,32 ± 0,13	11,91 ± 0,25	10,00 ± 0,08
C20:1 (n-9)	nd	nd	3,98 ± 1,24	nd	2,83 ± 0,06	3,54 ± 0,04	nd	nd	9,86 ± 0,02
C22:1 (n-9)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,22 ± 0,04	3,51 ± 0,14

Tab. 4.5.1: Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)(rozpuštědlo I)(pokračování)

FAs	S	C	N	D	K	A	W	WI	H
C18:2cis (n-6)	16,17 ± 0,01	18,79 ± 0,52	8,90 ± 0,05	0,71 ± 0,02	8,76 ± 0,21	9,55 ± 0,02	10,12 ± 0,21	9,85 ± 0,10	5,07 ± 0,05
C18:3 (n-3)	nd	21,29 ± 0,44	3,52 ± 0,15	0,38 ± 0,10	1,22 ± 0,22	nd	10,48 ± 0,49	17,17 ± 0,31	1,46 ± 0,02
C18:3 (n-6)	17,36 ± 0,63	7,64 ± 1,05	8,66 ± 0,03	1,96 ± 0,14	1,94 ± 0,11	3,02 ± 1,07	5,74 ± 0,81	7,52 ± 0,12	2,43 ± 0,68
C20:2 (n-6)	0,11 ± 0,03	0,26 ± 0,01	nd	nd	0,93 ± 0,22	nd	nd	nd	nd
C20:3 (n-6)	0,15 ± 0,05	0,14 ± 0,03	nd	nd	0,94 ± 0,03	0,34 ± 0,08	0,79 ± 0,04	0,61 ± 0,01	0,35 ± 0,04
C20:4 (n-6)	nd	nd	1,48 ± 0,01	nd	8,57 ± 0,14	13,54 ± 0,15	15,37 ± 0,46	12,38 ± 0,57	13,97 ± 0,39
Ostatní ^a	0,00	0,13	0,00	0,08	0,05	0,00	0,00	0,00	0,16

nd – FAs nedetekovány

Ostatní^a – zahrnuje FAs stanovené v malých množstvích jako C14:1 (n-5), C24:1 (n-9), C18:2trans (n-6)

Tab. 4.5.2: Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci hexanem (rozpouštědlo II)

FAs	S	C	N	D	K	A	W	WI	H
C10:0	0,19 ± 0,02	0,09 ± 0,03	0,58 ± 0,41	3,73 ± 0,33	0,16 ± 0,10	0,42 ± 0,01	0,71 ± 0,47	0,84 ± 0,12	0,30 ± 0,13
C12:0	0,36 ± 0,01	0,17 ± 0,08	0,96 ± 0,60	2,45 ± 0,67	nd	nd	0,29 ± 0,13	0,60 ± 0,08	0,17 ± 0,03
C14:0	0,71 ± 0,01	0,57 ± 0,06	1,97 ± 0,22	13,16 ± 2,34	6,67 ± 0,81	9,56 ± 0,01	6,64 ± 1,27	7,47 ± 1,05	5,49 ± 0,55
C15:0	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	3,24 ± 0,14	nd	0,13 ± 0,04	0,71 ± 0,05	nd	0,78 ± 0,08	0,50 ± 0,06
C16:0	44,85 ± 0,58	27,53 ± 3,58	46,50 ± 3,16	48,82 ± 2,58	34,67 ± 3,70	38,35 ± 1,44	35,49 ± 1,62	36,93 ± 2,69	34,36 ± 1,99
C17:0	0,43 ± 0,02	0,39 ± 0,02	3,81 ± 0,42	13,17 ± 1,18	0,32 ± 0,13	1,04 ± 0,10	1,85 ± 1,03	0,42 ± 0,29	0,54 ± 0,17
C18:0	9,90 ± 0,25	16,83 ± 3,44	7,58 ± 1,16	11,93 ± 0,49	5,55 ± 0,54	2,97 ± 1,08	8,61 ± 1,08	6,71 ± 0,84	1,31 ± 0,08
C20:0	0,12 ± 0,01	0,16 ± 0,08	3,23 ± 0,26	nd	0,71 ± 0,08	1,50 ± 0,34	1,42 ± 0,84	0,57 ± 0,27	0,40 ± 0,07
C21:0	nd	0,03 ± 0,01	nd	nd	nd	0,91 ± 0,04	nd	nd	0,99 ± 0,12
C22:0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,36 ± 0,18
C24:0	nd	0,65 ± 0,25	8,70 ± 0,42	nd	2,20 ± 1,06	nd	nd	4,53 ± 0,36	3,91 ± 0,60
C16:1 (n-7)	2,56 ± 0,02	1,52 ± 0,29	1,28 ± 0,28	nd	0,75 ± 0,03	9,44 ± 0,46	2,76 ± 0,63	1,10 ± 0,08	2,67 ± 0,60
C17:1 (n-7)	0,42 ± 0,01	0,10 ± 0,07	0,21 ± 0,01	nd	nd	nd	nd	nd	0,33 ± 0,07
C18:1trans (n-9)	0,08 ± 0,01	3,44 ± 0,30	0,04 ± 0,04	nd	0,20 ± 0,10	nd	nd	nd	nd
C18:1cis (n-9)	2,46 ± 0,03	11,00 ± 0,32	2,87 ± 0,17	6,74 ± 0,58	30,49 ± 0,52	16,28 ± 1,66	9,35 ± 1,02	15,30 ± 1,35	11,28 ± 0,39
C20:1 (n-9)	nd	nd	nd	nd	2,11 ± 0,57	2,11 ± 0,19	7,95 ± 1,69	8,85 ± 0,06	8,46 ± 0,73
C22:1 (n-9)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,78 ± 0,48

Tab. 4.5.2: Obsah mastných kyselin v [%] z celkových FAMES při extrakci hexanem (rozpouštědlo II) (pokračování)

FAs	S	C	N	D	K	A	W	WI	H
C18:2cis (n-6)	13,65 ± 0,36	16,12 ± 1,48	8,44 ± 0,27	nd	8,30 ± 0,91	7,94 ± 0,15	4,92 ± 0,65	9,88 ± 1,83	5,60 ± 0,23
C18:3 (n-3)	nd	13,41 ± 1,57	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,97 ± 0,19
C18:3 (n-6)	23,98 ± 0,42	7,78 ± 1,20	10,60 ± 1,38	nd	1,71 ± 0,26	2,47 ± 0,45	19,16 ± 1,30	nd	2,28 ± 0,27
C20:2 (n-6)	0,16 ± 0,01	0,08 ± 0,07	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:3 (n-6)	nd	nd	nd	nd	0,62 ± 0,21	nd	nd	nd	0,91 ± 0,32
C20:4 (n-6)	nd	nd	nd	nd	5,41 ± 0,85	6,29 ± 0,38	0,85 ± 0,59	6,03 ± 0,85	14,39 ± 0,65

nd – FAs nedetekovány

Ve vzorcích červených řas byla u řasy *P. tenera*, N stanovena nejvyšší koncentrace kyseliny linolové C18:2(n-6) – 8,90 % z FAMES a kyseliny γ -linolenové C18:3(n-6) – 8,66 % z FAMES. U druhé červené řasy *P. palmata*, D byla také nejhojněji zastoupena kyselina γ -linolenová C18:3(n-6) – 1,96 % z FAMES. Obecně se u červených řas vyskytovalo malé zastoupení PUFAs a za použití rozpouštědla hexanu nebyly PUFAs u vzorku *P. palmata*, D zaznamenány vůbec. Ve srovnání s literaturou byl stanoven mírně vyšší obsah kyseliny linolové ve vzorku *P. tenera*, N (8,90 % z FAMES), než je uváděno v literatuře pro řasu *Porphyra* sp. (1,17 – 7,06 %) [9, 40]. Mimo jiné shoda s publikovanými hodnotami obsahu kyseliny linolové u červené řasy *P. palmata* (0,3 %) byla potvrzena [87].

Ve vzorcích hnědých řas byly převažující PUFAs rozdílné. U řasy *L. japonica*, K byla převažující PUFAs kyselina linolová C18:2(n-6) – 8,76 % z FAMES, přičemž tato hodnota je v souladu s publikovanými údaji (8,4 %) [88], zatímco nižší množství této kyseliny (6,79 %) bylo stanoveno v jiném druhu *L. ochroleuca* [40]. U další hnědé řasy *E. bicyclis*, A byla nejvíce obsažena kyselina arachidonová C20:4(n-6) – 13,54 % z FAMES. U dvou produktů hnědé řasy *U. pinnatifida* (W, WI) převažovala u produktu W také kyselina arachidonová C20:4(n-6) – 15,37 % z FAMES a u produktu WI kyselina α -linolenová C18:3(n-3) – 17,17 %. V porovnání s literárními zdroji, je obsah kyseliny α -linolenové udáván pro hnědou řasu *U. pinnatifida* v rozmezí od 5,8 – 11,97 % a pro kyselinu arachidonovou od 12,7 – 17,5 % [40, 87-89]. A konečně obsah kyseliny arachidonové C20:4(n-6) v produktu z hnědé řasy *H. fusiformis*, H (13,97 % z FAMES) byl v souladu s množstvím udávaným dle Ortega-Calvo (14,1 %) [5], zatímco dle Dawczynski *et al.*, byla publikována nižší hodnota (5,30 %) obsahu této PUFAs [9].

Obecně jsou některé polynenasycené mastné kyseliny pro organismus důležité, obzvláště kyselina α -linolenová (ALA) a linolová (LA). Ty jsou

primárními prekurzory ω -3 a ω -6 esenciálních mastných kyselin (EFAs). Obě zmíněné kyseliny vznikají postupnou desaturací kyseliny olejové v endoplazmatickém retikulu a chloroplastech. Jak již bylo zmíněno, člověk si není schopen sám syntetizovat ALA z důvodu absence potřebných desaturáz nebo PUFAs s první dvojnou vazbou na 3. či 6. uhlíku od metylového konce. Proto tyto kyseliny musejí být přijímány z potravy. Rybí olej je považován za hlavní zdroj EFAs, i když ryby si také nedokážou tyto kyseliny vytvářet samy z důvodu absence příslušných enzymů. Do těl ryb se dostávají díky konzumaci mořských mikroorganismů a řas [18].

Z hlediska obsahu těchto esenciálních mastných kyselin byl nejvyšší obsah ω -3 FAs zaznamenán ve sladkovodní řase *C. pyrenoidosa*, C a to v hodnotě 21,29 % z FAMES a následně ve dvou produktech z hnědé řasy *U. pinnatifida*, (W, WI) – 10,48 %, respektive 17,17 % z FAMES při použití rozpouštědlové soustavy (I). Nejvyšší obsah ω -6 FAs byl zjištěn u sladkovodní sinice *S. platensis*, S (33,79 % z FAMES) za použití stejného rozpouštědla (I) (Obr. 4.5.3.1). Hexan nebyl pro extrakci PUFAs dostatečně účinný a proto jsou zde uváděny pouze hodnoty ω -3 a ω -6 FAs získaných extrakcí rozpouštědlovou směsí (I).

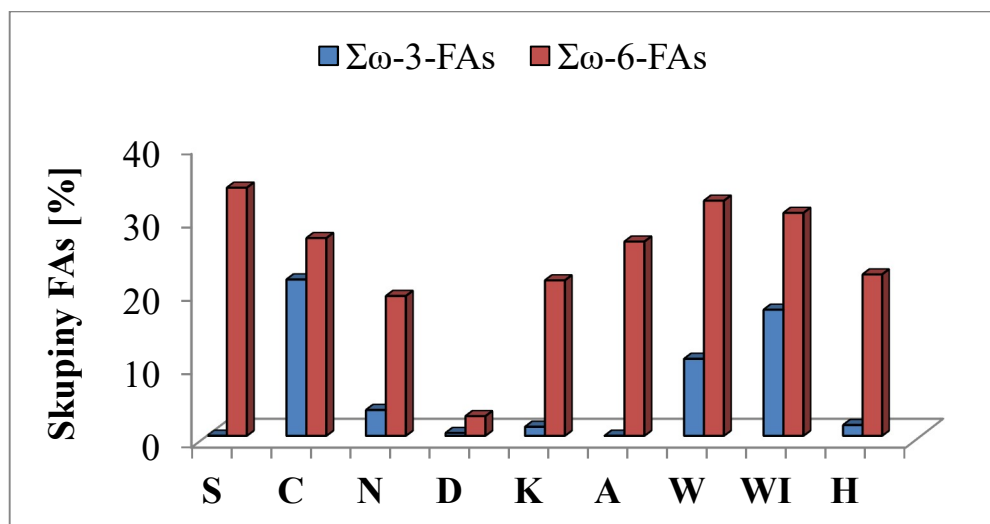
Poměr PUFAs/SFAs bývá používán jako ukazatel pro hodnocení profilů mastných kyselin u analyzovaných vzorků, kdy vyšší hodnota tohoto poměru znamená větší zdravotní benefit. Poměr u produktu sinice *S. platensis*, S (0,57 při použití rozpouštědla I a 0,66 při použití hexanu II) byly v souladu s údaji uváděnými pro *Spirulina* sp., *S. platensis* a *S. maxima* (0,25 – 0,75) [5].

Stanovený poměr (1,30/0,80) u zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C, byl mírně vyšší, než je poměr udávaný (0,71) pro produkt z *C. vulgaris* [5].

U produktů z červených řas *P. tenera*, N (0,34/0,06) a *P. palmata*, D (0,04/0,07) byl stanoven nejnižší poměr za všech analyzovaných vzorků z důvodu stanovení nejvyššího obsahu SFAs. Ostatní autoři také uvádí nižší

hodnoty poměrů PUFAs/SFAs v červených řasách, jako *Porphyra* sp. (0,25 – 1,25) [9, 40] a *P. palmata* (0,0 – 0,48) [5, 40].

Zjištěné nízké hodnoty poměrů v produktech z hnědých řas, *L. japonica*, K (0,47/0,32), *E. bicyclis*, A (0,57/0,30), *U. pinnatifida* (W, 0,99/0,45; WI, 1,21/0,27) a *H. fusiformis*, H (0,49/0,51), odpovídají vyššímu obsahu SFAs u daných vzorků, vyjma dvou produktů *U. pinnatifida* (W, WI), kde bylo stanoveno vyšší množství PUFAs za použití rozpouštědla (I). Ve srovnání s publikovanými údaji byly stanoveny vyšší poměry pro *Laminaria* sp. (0,96), *U. pinnatifida* (4,21) a *H. fusiformis* (2,02) [9] a obdobné poměry pro *U. pinnatifida* (1,10) a *H. fusiformis* (0,5) [40].



Obr. 4.5.3.1: Zastoupení ω -3 a ω -6 FAs ve vzorcích řas při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1)

4.6 Stanovení vybraných vitaminů

Vybrané vitaminy byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie a jednotlivé výsledky obsahů β -karotenu, vitaminů D₂, E a C ve vzorcích řas jsou uvedeny v tabulce 4.6.1. Obsahy, ale i vzájemné poměry různých vitaminů v řasách jsou obecně pro jednotlivé druhy velmi rozdílné [90].

Obecně je obsah vitaminů, jakožto i jiných látek, ovlivněn druhem řasy, růstovým stádiem, geografickým výskytem a salinitou, ročním obdobím a množstvím světla, teplotou. Na základě těchto faktorů je obsah vitaminů v různých druzích řas, ale i v rámci jednoho druhu řasy značně variabilní. Navíc k poklesu obsahu vitaminů může dojít následně i vlivem skladování, světla, oxidací. Dále se negativně na obsahu vitaminů podílí technologické zpracování, jako je sušení, sterilizace, ale i kuchyňská úprava potravin [49].

Tab. 4.6.1.: Obsah β -karotenu, vitaminu D₂, E a C ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny

	β -karoten	Vitamin D ₂	Vitamin E	Vitamin C
	[mg/100 g sušiny]			
S	21,58 ± 1,35	0,65 ± 0,17	0,77 ± 0,01	50,52 ± 3,09
C	2,75 ± 0,71	0,77 ± 0,01	1,15 ± 0,22	56,35 ± 1,08
N	3,15 ± 0,73	0,09 ± 0,02	0,94 ± 0,12	11,03 ± 0,39
D	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	15,17 ± 0,78
K	0,94 ± 0,07	0,12 ± 0,10	0,20 ± 0,04	5,93 ± 0,16
A	2,88 ± 0,62	0,48 ± 0,01	0,12 ± 0,01	9,29 ± 2,82
W	2,56 ± 0,23	0,45 ± 0,01	0,27 ± 0,06	5,97 ± 0,47
WI	1,74 ± 0,37	0,43 ± 0,05	0,13 ± 0,02	12,72 ± 0,84
H	2,06 ± 0,48	0,47 ± 0,01	0,04 ± 0,01	2,36 ± 0,74

4.6.1 Stanovení β -karotenu

Současné studie dokládají korelaci mezi zvýšeným příjmem potravin obsahující β -karoten a snižujícím se výskytem rakoviny a rizika kardiovaskulárních onemocnění [7].

Obsah β -karotenu se ve vzorcích pohyboval v rozmezí od 0,08 mg/100 g sušiny (*P. palmata*, D) do 21,58 mg/100 g sušiny (*S. platensis*, S). Množství

β -karotenu u stejného druhu *S. platensis* se pohybovalo v závislosti na ročním období sběru od 64 mg/100 g až do 140 mg/100 g sušiny [36].

Množství β -karotenu v červené řase *P. tenera*, N (3,15 mg/100 g sušiny) je v souladu s publikovaným údajem pro druh *Porphyra umbilicalis* (3,87 mg/100 g sušiny), naopak u vzorku *P. palmata*, D (0,08 mg/100 g sušiny) je stanovený obsah výrazně nižší, než je udáváno v literatuře (1,59 – 1,95 mg/100 g sušiny) [7, 91].

V hnědé řase *L. japonica*, K byl obsah β -karotenu 0,94 mg/100 g sušiny, tato hodnota je nižší, než uvádí Ferraces-Casais u druhu *Laminaria* spp. (2,20 mg/100 g sušiny), Kolb *et al.* u druhu *Laminaria digitata japonica* (2,99 mg/100 g sušiny) nebo druhu *Laminaria ochroleuca* (0,04 – 1 mg/100 g sušiny) [7, 91, 92]. U další hnědé řasy *U. pinnatifida*, W, WI byl zjištěný obsah β -karotenu v rozmezí od 1,74 do 2,56 mg/100 g sušiny. Udávané hodnoty v literatuře se pohybují od 0,04 – 1,30 mg/100 g sušiny [7, 92].

Významným zdrojem β -karotenu je obecně ze zeleniny kadeřavá petržel (3 – 26 mg/100 g jedlého podílu) a špenát (5 – 48 mg/100 g jedlého podílu) [93]. Stanovený obsah β -karotenu 21,58 mg/100 g sušiny u *S. platensis*, S dokládá, že tato sinice také jeho významným zdrojem.

4.6.2 Stanovení vitaminů D₂ a E

Nejvyšší množství vitaminu D₂ bylo zaznamenáno ve sladkovodní sinici *S. platensis*, S (0,65 mg/100 g) a sladkovodní zelené řase *C. pyrenoidosa*, C (0,77 mg/100 g).

Informace o hodnotách obsahů vitaminu D₂ v řasách nejsou příliš hojné. Ryby jsou známy jako dobrý zdroj vitaminu D₃, ale jeho původ v rybách není stále spolehlivě a plně objasněn. Někteří autoři se domnívají, že právě řasy jsou bohatým zdrojem vitaminu D₃, které poté ryby konzumují [94]. Například obsah vitaminu D₃ u hnědé řasy *Eisenia arborea* byl stanoven od 3,5 – 7,6 mg/100 g

sušiny v závislosti na ročním období [34]. De Roeck-Holtzhauer analyzoval obsah vitamínu D₂ u pěti planktonních řas a jedné makrořasy, kde byly obsahy tohoto vitamínu v rozmezí od 0 mg/100 g až po 3,9 mg/100 g sušiny [90].

Vitamin E se ve vzorcích řas vyskytoval v množství od 0,04 mg/100 g (*H. fusiformis*, H) do 1,15 mg/100 g (*C. pyrenoidosa*, C).

Stanovené množství vitamínu E udávané v literatuře u sinice *S. platensis* je 1,1 – 1,4 mg/100 g sušiny za použití superkritické fluidní extrakce. Při úpravě extrakčních podmínek (tlak, teplota) byl stanoven obsah vitamínu E ve stejné řase dokonce v množství od 110 mg/100 g sušiny až po 3 161 mg/100 g sušiny [95]. U uměle kultivované *S. platensis* se obsah vitamínu E pohyboval v rozmezí od 10 – 19 mg/100 g sušiny [36].

Nejvyšší množství vitamínu E bylo stanoveno u produktu ze zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (1,15 mg/100 g sušiny).

Množství vitamínu E bylo v červených řasách stanoveno od 0,06 mg/100 g sušiny (*P. palmata*, D) po 0,94 mg/100 g sušiny (*P. tenera*, N), přičemž tyto hodnoty jsou převážně v souladu s údaji udávanými v literatuře pro *P. palmata* (0,17 mg/100 g) a *Porphyra umbilicalis* 0,34 mg/100 g [91].

U hnědé řasy *L. japonica*, K byla zjištěná hodnota vitamínu E 0,20 mg/100 g sušiny. Obdobné hodnoty (0,28 mg/100 g sušiny) bylo dosaženo i u druhu *Laminaria* spp. [91]. U další hnědé řasy *Eisenia arborea* je obsah vitamínu E udáván od 0,9 – 9,6 mg/100 g sušiny v závislosti na ročním období [34]. A u hnědé řasy *U. pinnatifida* je obsah vitamínu E uváděn v rozmezí od 1,4 do 2,5 mg/100 g sušiny [7].

Vitamin E se vyskytuje především v potravinách rostlinného původu, v potravinách živočišného původu se pak vyskytuje méně. Obsah vitamínu E u ovoce a zeleniny zpravidla nepřesahuje 1 mg/100 g. Jako běžné zdroje vitamínu E lze uvést jablka (0,18 – 0,74 mg/100 g jedlého podílu). Z obilovin je

u pšenice obsah tohoto vitamínu výrazně vyšší a to až 3,5 – 5,9 mg/100 g [83]. Z řas tedy obdobné množství tohoto vitamínu, jako se nachází například v jablkách, nalezneme v zelené řase *C. pyrenoidosa*, C, sinici *S. platensis*, S anebo červené řase *P. tenera*, N.

4.6.3 Stanovení vitamínu C

Obsah vitamínu C byl v sinici *S. platensis*, S 50,52 mg/100 g sušiny. V literatuře je udáváno rozmezí hodnot od 42 do 195,3 mg/100 g [36].

U zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C se tento vitamín vyskytoval v množství 56,35 mg/100 g sušiny a tento obsah byl také nejvyšší z daných produktů.

Obsah vitamínu C byl stanoven u červené řasy *P. tenera*, N – 11,03 mg/100 g sušiny a u *P. palmata*, D (15,17 mg/100 g sušiny). Ferraces-Casais uvádí mnohem vyšší hodnoty vitamínu C u červené řasy *Porphyra umbilicalis* (33,29 mg/100 g sušiny) a naopak nižší u *P. palmata* (0,61 mg/100 g sušiny) [91]. Publikované výsledky obsahu vitamínu C jsou dost rozdílné a v dalším zdroji jsou uváděny hodnoty vitamínu C pro červenou řasu *P. palmata* (6,34 – 34,5 mg/100 g sušiny) a pro *Porphyra umbilicalis* (4 – 4,21 mg/100 g sušiny) [7].

Ve vzorku hnědé řasy *L. japonica*, K byl obsah vitamínu C 5,93 mg/100 g sušiny, v literatuře je uváděn obsah 1,34 mg/100 g sušiny u druhu *Laminaria* spp. [91] nebo u druhu *L. ochroleuca* (0,35 – 3 mg/100 g sušiny) [7]. U další hnědé řasy *Eisenia arborea* byly publikovány hodnoty vitamínu C v rozmezí od 22,8 – 41,5 mg/100 g sušiny v závislosti na ročním období [34]. Tyto publikované hodnoty jsou vyšší, než bylo stanoveno u hnědé řasy *E. bicyclis*, A (9,29 mg/100 g sušiny). U produktů z hnědé řasy *U. pinnatifida* byl obsah vitamínu C – 5,97 mg/100 g sušiny (W) a WI – 12,72 mg/100 g sušiny. V literatuře jsou udávány hodnoty 5,29 mg/100 g sušiny [7]. V posledním vzorku hnědé řasy *H. fusiformis*, H byl obsah vitamínu C 2,36 mg/100 g sušiny.

Z živočišných potravin jsou významným zdrojem vitamínu C pouze játra. Z rostlinných zdrojů jsou nejvýznamnějším šípky (250 – 1 000 mg/100 g jedlého podílu), černý rybíz (110 – 300 mg/100 g jedlého podílu), kadeřavá petržel (150 – 270 mg/100 g jedlého podílu). Tyto hodnoty obsahu vitamínu C jsou sice vysoké, ale jedná se spíše o sezónní potraviny a důležité jsou především zdroje s průměrným obsahem vitamínu C, ale konzumované pravidelně [83].

Jak je z výsledků patrné, mezi nejlepší zdroj β -karotenu lze zařadit modrozelenou sinici *S. platensis*, S, která obsahovala 21,58 mg β -karotenu/100 g sušiny. Z hlediska obsahu vitamínů D₂ a E patřily také sladkovodní řasy a sinice mezi vzorky s nejvyšším zastoupením těchto látek. Nejvyšší obsah vitamínu D₂ byl stanoven opět ve sladkovodní řase *C. pyrenoidosa*, C (0,77 mg/100 g sušiny) a sladkovodní sinici *S. platensis*, S (0,65 mg/100 g sušiny). Také z pohledu obsahu vitamínu E byla sladkovodní řasa *C. pyrenoidosa*, C nejlepším zdrojem této látky (1,15 mg/100 g sušiny). Za nejvhodnější zdroj vitamínu C lze označit zelenou řasu *C. pyrenoidosa*, C a sinici *S. platensis*, S, kde byl obsah tohoto vitamínu 56,35 mg/100 g sušiny, respektive 50,52 mg/100 g sušiny.

4.6.4 Stanovení vitamínů skupiny B

Obsahy ve vodě rozpustných vitamínů skupiny B jsou uvedeny v tabulce 4.6.4.1. Obsah jednotlivých vitamínů skupiny B byl u vyšetřovaných vzorků značně proměnlivý. Převládajícím vitamínem byl vitamín B₃. Nejvyšší celkový obsah stanovovaných vitamínů skupiny B byl zjištěn v produktu sinice *S. platensis*, S (21,86 mg/100 g sušiny) a to včetně vitamínu B₁₂, který je při absenci konzumace živočišných produktů doplňován právě z alternativních zdrojů. Naopak nejnižší obsah vitamínů skupiny B byl zjištěn v hnědé mořské řase *E. bicyclis*, A.

Tab. 4.6.4.1: Obsah vitaminů skupiny B ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny

	B ₁	B ₂	B ₃	B ₆	B ₁₂
	[mg/100 g sušiny]				
S	7,08 ± 0,45	2,45 ± 0,39	9,44 ± 0,42	2,65 ± 0,63	0,24 ± 0,06
C	2,26 ± 0,58	0,30 ± 0,06	4,78 ± 0,13	0,09 ± 0,01	0,04 ± 0,03
N	0,11 ± 0,02	0,23 ± 0,06	6,95 ± 0,09	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,01
D	0,27 ± 0,06	0,09 ± 0,04	3,41 ± 0,13	0,10 ± 0,03	0,09 ± 0,05
K	0,13 ± 0,01	0,04 ± 0,01	1,53 ± 0,06	0,05 ± 0,02	nd
A	0,11 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,43 ± 0,00	0,05 ± 0,01	nd
W	0,54 ± 0,12	0,16 ± 0,09	3,46 ± 0,25	0,07 ± 0,01	nd
H	0,60 ± 0,14	0,09 ± 0,04	2,53 ± 0,08	0,19 ± 0,01	0,01 ± 0,01

nd – pod mezí detekce metody

Pro ilustraci jsou zde uvedeny přehledy obsahů vitaminů skupiny B u vybraných řas. U sinice *S. platensis* jsou v literatuře udávány následující obsahy vitaminů skupiny B: B₁ (0,8 – 15,4 mg/100 g sušiny), B₂ (0,2 – 0,9 mg/100 g sušiny), B₃ (0,4 – 5,3 mg/100 g sušiny), B₆ (0,3 – 4 mg/100 g sušiny) a B₁₂ (0,3 – 0,8 mg/100 g sušiny) [36].

U červené řasy *Porphyra umbilicalis* je uváděné zastoupení vybraných vitaminů skupiny B toto: B₁ (0,144 mg/100 g sušiny), B₂ (0,36 mg/100 g sušiny) a B₁₂ (0,029 mg/100 g sušiny) [7]. U červené řasy *P. palmata* je uváděno následující složení vitaminů B: B₁ (0,073 – 1,56 mg/100 g sušiny), B₂ (0,51 – 1,91 mg/100 g sušiny), B₃ (1,89 mg/100 g sušiny), B₆ (8,99 mg/100 g sušiny) a B₁₂ (0,009 mg/100 g sušiny) [7].

U hnědé řasy *Laminaria digitata japonica* jsou hodnoty vitaminů B tyto: B₁ (0,24 – 1,25 mg/100 g sušiny), B₂ (0,138 – 0,85 mg/100 g sušiny), B₃ (1,58 – 61,2 mg/100 g sušiny) a B₆ (0,09 – 6,41 mg/100 g sušiny) sušiny [7, 92]. U další hnědé řasy *Eisenia arborea* byl obsah vitaminu B₁ a B₂ od 0,06 – 0,14 mg/100 g

sušiny a 0,65 – 0,92 mg/100 g sušiny v závislosti na ročním období [34]. U hnědé řasy *U. pinnatifida* je uváděno množství vitaminů B₁ (0,17 – 0,3 mg/100 g sušiny), B₂ (0,23 – 1,4 mg/100 g sušiny), B₃ (2,56 mg/100 g sušiny) a B₆ (0,18 mg/100 g), B₁₂ (0,0036 mg/100 g sušiny) [7, 92].

Pro porovnání je zde uvedeno množství vitaminů skupiny B u vepřových jater a droždí, hodnoty jsou udávány v jedlém podílu. U jater: B₁ (0,27 – 0,76 mg/100 g), B₂ (2,9 – 4,4 mg/100 g), B₃ (16,4 – 22,3 mg/100 g) a B₆ (0,17 – 0,59 mg/100 g) a v droždí: B₁ (7,1 mg/100 g), B₂ (17 – 44 mg/100 g), B₃ (112 – 200 mg/100 g) a B₆ (11 – 55 mg/100 g) [83].

Obvyklým zdrojem vitaminu B₁₂ jsou živočišné produkty (maso, mléko, vejce), ale ne produkty rostlinné. Hodnoty vitaminu B₁₂ se u masa pohybují kolem 0,5 – 2 µg/100 g a u vepřových jater 50 – 122 µg/100 g jedlého podílu [83]. Nezanedbatelné množství tohoto vitaminu se nachází i v některých jedlých řasách a doplňcích stravy z nich vyrobených. Některé zdroje uvádějí, že vitamin B₁₂ se v těchto zdrojích vyskytuje ve formě inaktivních korinoidů a proto nemůže být funkčním zdrojem pro savce. Stále není jisté, jestli se vitamin B₁₂, nacházející se v řasách, je či není pro lidský organizmus plně využitelný z důvodu nedostatku informací o chemických strukturách tohoto vitaminu v řasách. Stanovené obsahy vitaminu B₁₂ jsou také závislé na zvolené metodě analýzy [96].

4.7 Stanovení celkového obsahu chlorofylu

Celkové obsahy chlorofylů byly stanoveny spektrofotometricky za použití různých metodik (dle ČSN, Wellburna a metodikou z Nových Hradů), jejich obsahy jsou uvedeny v tabulce 4.7.1.

Tab. 4.7.1: Obsahy celkových chlorofylů ve vzorcích řas stanovené rozdílnými metodami v mg/100 g sušiny

	Chlorofyl ¹	Chlorofyl ² [mg/100 g sušiny]	Chlorofyl ³
S	857,94 ± 20,86 ^a	751,75 ± 5,95 ^b	637,22 ± 24,84 ^c
C	152,60 ± 3,52 ^a	122,62 ± 4,85 ^a	219,75 ± 3,25 ^a
N	51,15 ± 0,94 ^a	57,09 ± 3,54 ^b	61,98 ± 2,01 ^a
D	23,36 ± 0,72 ^a	21,41 ± 0,67 ^a	17,06 ± 1,06 ^a
K	20,97 ± 0,91 ^a	19,07 ± 0,50 ^b	6,24 ± 0,95 ^{a,b}
A	9,80 ± 0,09 ^a	8,70 ± 0,43 ^b	9,93 ± 0,24 ^c
W	45,15 ± 3,35 ^a	60,60 ± 2,48 ^a	28,31 ± 1,35 ^a
WI	17,41 ± 1,78 ^a	24,40 ± 0,49 ^a	17,98 ± 1,07 ^b
H	19,79 ± 2,27 ^a	17,02 ± 0,28 ^b	11,05 ± 0,47 ^a

¹ Metodika dle ČSN

² Metodika dle Wellburna

³ Metodika z Nových Hradů

a, b, c Hodnoty v řádku se stejným indexem jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$

Za nejbohatší zdroj chlorofylu lze obecně považovat sinici *S. platensis*, S, kdy zde byl zjištěn obsah celkového chlorofylu od 637,22 mg/100 g sušiny až do 857,94 mg/100 g sušiny v závislosti na použité metodě. Toto množství bylo mnohonásobně vyšší než u ostatních řas. Naopak nejnižší hodnoty chlorofylu byly stanoveny obecně v hnědých řasách, vyjma hnědé řasy *U. pinnatifida*, W, kde byl obsah chlorofylu vyšší (až 60,60 mg/100 g sušiny).

Pokud jsou řasy kultivovány za vhodných podmínek, je udáván obsah chlorofylu u mikrořas až 4 g/100 g sušiny [51]. Za běžných podmínek kultivace je výskyt chlorofylu u mikrořas v množství přibližně 0,5 – 1 g/100 g [97].

4.8 Stanovení luteinu a fukoxantinu

Obsah luteinu a fukoxantinu byl stanovován vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií a výsledky jsou uváděny v mg/100 g sušiny (Tab. 4.8.1).

Nejvyšší obsah luteinu vykazovala sinice *S. platensis*, S (112,19 mg/100 g sušiny) a u hnědých řas se lutein vyskytoval v nižších koncentracích anebo nebyl stanoven vůbec. Dle Ferraces-Casais byl například u hnědé řasy *Himantalia* stanoven obsah luteinu v množství 0,87 mg/100 g sušiny a naopak u další hnědé řasy *Laminaria* spp. nebyl lutein zaznamenán vůbec.

Tab. 4.8.1: Obsah luteinu a fukoxantinu ve vzorcích řas v mg/100 g sušiny

	Lutein	Fukoxantin
	[mg/100 g sušiny]	
S	112,19 ± 3,84	-
C	26,75 ± 1,29	-
N	4,29 ± 0,24	-
D	3,52 ± 0,17	-
K	nd	0,08 ± 0,02
A	nd	0,04 ± 0,01
W	0,12 ± 0,03	0,10 ± 0,01
WI	2,19 ± 0,07	1,13 ± 0,09
H	nd	0,06 ± 0,01

nd – pod mezí detekce metody

U červené řasy *P. tenera*, P byl obsah luteinu 4,29 mg/100 g sušiny a u *P. palmata*, D 3,52 mg/100g sušiny. Stanovené množství u červené řasy *P. tenera*, N je v souladu s literaturou (*Porphyra umbilicalis* – 4,84 mg/100 g sušiny) a u *P. palmata*, D byl stanovený obsah mírně vyšší, než je udáváno (2,41 mg/100 g sušiny) [91]. Pro porovnání, udávané množství luteinu v jeho

významnějších zdrojích je následující: listy manioku jedlého (29 – 86 mg/100 g) a z běžných zdrojů olivový olej (19,1 – 93,4 mg/100 g), čerstvý špenát (3,92 – 88,1 mg/100 g) a čerstvé brambory (0,012 – 20,96 mg/100 g) [98].

Množství luteinu může být ovlivněno mimo již dříve uvedené faktory i zahříváním při technologickém procesu, přítomností světla a oxidací při skladování. Na míru využitelnosti luteinu přijímaného člověkem potravou existují protichůdné studie. Jako jedna z možností, jak zvýšit absorpci luteinu do těla, je využití enkapsulace. Dále se využitelnost luteinu liší i v rámci zdroje. Například u mrkve a špenátu je uváděna nízká využitelnost. Naopak vazbou luteinu s proteiny se využitelnost zvyšuje. Také *cis* izomer luteinu je lépe absorbován než všechny *trans* formy. Mezi potvrzené účinky luteinu patří antioxidační schopnost (uvádí se vyšší míra antioxidačního účinku než u β -karotenu) a s jeho užíváním je spojená i nižší míra výskytu rakoviny. Dále potom nižší výskyt kardiovaskulárních chorob, ochrana žluté skvrny a mnoho dalších [98].

S ohledem na mnoho zdraví prospěšných účinků luteinu jsou v dnešní době zkoumány i možnosti produkce luteinu geneticky pozměněnými druhy řas. Například u geneticky upravené zelené mikrořasy *Chlorella sorokiniana* byl za optimalizovaných podmínek kultivace zjištěn obsah luteinu až 7 mg/g sušiny [99]. U další zelené mikrořasy *Chlorella protothecoides* byla za optimalizovaných podmínek heterotrofní kultivace zaznamenána hodnota obsahu luteinu 4,85 mg/g [100].

U skupiny hnědých řas bylo stanovováno ještě další barvivo fukoxantin, který je pro tuto skupinu řas typický. Fukoxantin se dostává do popředí zájmu z důvodu mnohých zdraví prospěšných účinků, například antioxidační, protirakovinné, protizánětlivé, neuroprotektivní a působící při prevenci osteoporózy [50]. Fukoxantin se ve skupině hnědých řas pohyboval v rozmezí

od 0,04 mg/100 g sušiny (*E. bicyclis*, A) až po 1,13 mg/100 g sušiny (*U. pinnatifida*, WI). V literatuře je udáván obsah fukoxantinu u hnědé řasy *Laminaria* spp. (27,37 mg/100 g sušiny), naopak u jiné hnědé řasy *Himantalia* je udáván obsah pouze 0,91 mg/100 g sušiny [91].

Fukoxantin je náchylný na oxidaci a při procesu sušení může docházet k jeho degradaci, která byla publikována. Pro ilustraci obsahu fukoxantinu stanoveného v hnědých řasách v čerstvém a sušeném stavu jsou následující: *L. japonica* 18,7/2,2 mg/100 g, *U. pinnatifida* 11,1/8,4 mg/100 g, *E. bicyclis* 7,7 mg/100 g čerstvé řasy a *H. fusiformis* 2,2 mg/100 g čerstvé řasy a v sušené řase nebyl identifikován vůbec. Vliv na obsah fukoxantinu u hnědé řasy *L. japonica* má i doba sklizně. Obsah se zde pohyboval v rozmezí od 5,66 mg/100 g až po 21,3 mg/100 g právě v závislosti na měsíci sklizně [101].

4.9 Stanovení celkových flavonoidů

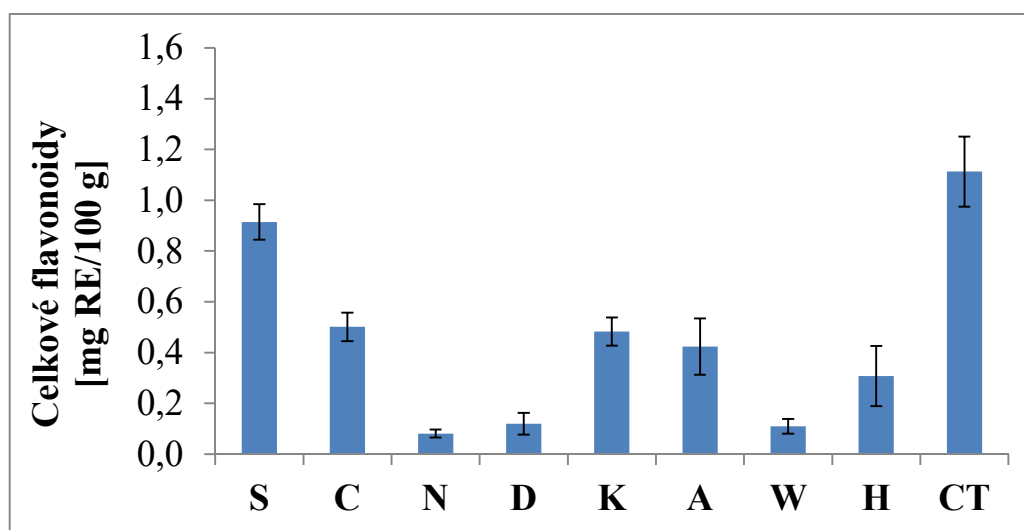
Flavonoidy jsou obsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahující v molekule 2 benzenová jádra spojená tříuhlíkovým řetězcem. Bylo popsáno již přes 4 000 flavonoidů. Dle oxidace C₃ řetězce se rozlišují základní struktury flavonoidů: katechiny, leukoantokyanidiny, flavonony, flavanonoly, flavony, flavonoly a antokyanidiny [93, 102].

Flavonoidy vykazují potenciální protialergickou, antivirovou a protirakovinnou aktivitu. Dále působí preventivně při kardiovaskulárních onemocněních a ovlivňují oxidaci lipidů a DNA [102].

Obsah celkových flavonoidů byl stanoven spektrofotometricky a výsledky jsou udávány v mg ekvivalentu rutinu (RE)/100 g (Obr. 4.9.1). Flavonoidy se v produktech z řas vyskytovaly od 0,08 mg RE/100 g (*P. tenera*, N) až do 0,91 mg RE/100 g (*S. platensis*, S). Obecně nejmenší zastoupení flavonoidů se vyskytovalo ve skupině červených řas a naopak nejvíce byly flavonoidy přítomny v sinici *S. platensis*, S a zelené řase *C. pyrenoidosa*, C. Obsah

flavonoidů v autotrofně kultivované mikrořase *Chlorella* sp., CT byl nejvyšší a to 1,11 mg RE/100 g.

Dle studie autorů Sava a Sirbu, kteří spektrofotometricky analyzovali obsah flavonoidů v řasách z Černého moře, byl jejich výskyt následující: v zelených řasách *Ulva lactuca* 0,65 mg RE/100 g sušiny a *Cladophora vagabunda* 6,15 mg RE/100 g, v hnědé řase *Cystoseira barbata* 2,35 mg RE/100 g [103]. Jak je patrné i z těchto výsledků, obsah flavonoidů je značně proměnlivý.



Obr. 4.9.1: Obsah celkových flavonoidů ve vzorcích řas v mg RE/100 g sušiny

V souvislosti s obsahem flavonoidů byly provedeny studie zkoumající vliv technologických procesů při zpracování na změnu obsahu flavonoidů. Zde byla například u pohanky po aplikaci různých technologických procesů ztráta až 75 % obsahu celkových flavonoidů [104]. Naopak při vaření hrášku a fazolí nebyl zaznamenán úbytek obsahu flavonoidů [105].

4.10 Stanovení škrobu

Stanovení obsahu škrobu ve sladkovodním komerčně dostupném produktu ze zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C a v autotrofně kultivované mikrořase *Chlorella* sp., CT bylo provedeno polarimetricky, kdy byla u vzorků po hydrolýze

kyselinou chlorovodíkovou a odstranění bílkovin Carrezovými činidly změřena optická otáčivost. Při stanovení škrobu je důležitá účinná extrakce, ale i následná hydrolýza škrobu na glukózu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.10.1 v procentech.

Zásobním polysacharidem sinic a zelených řas je glykogen, respektive škrob. Oba tyto zásobní polysacharidy obsahují molekuly glukózy spojené α -(1,4) vazbami s α -(1,6) větvením. Škrob obsažený v zelených řasách je příbuzný glykogenu bakterií. Obecně je obsah i složení polysacharidů v zelených řasách ovlivněno faktory jako je například způsob kultivace, stáří řasy i stádium životního cyklu řasy. Například produkce glykogenu je závislá na podmínkách kultivace, koncentraci dusíku a intenzitě osvětlení. Nižší koncentrace dusíku může vést k vyšší produkci glykogenu, ale také nižší produkci biomasy [42].

Zásobním polysacharidem červených řas je florideový škrob. Florideový škrob má obdobnou strukturu jako škrob obsažený v zelených řasách až na to, že se zde nevyskytuje amylóza. Nicméně u některých druhů červených řas byly zjištěny i amylózové jednotky. Dalším rozdílem mezi škrobem, florideovým škrobem a glykogenem, je jejich uložení v buňkách. Syntéza škrobu je lokalizována v plastidech a syntéza florideového škrobu a glykogenu je umístěna do cytosolu [42].

Laminaran je zásobním polysacharidem hnědých řas. Je to struktura tvořená (1-3)- β -glukanem s β -(1-6) větvením s různými redukujícími konci (mannitol nebo glukózové zbytky). Větvení ovlivňuje rozpustnost laminaranu. Vysoce větvený laminaran je rozpustný ve studené vodě, zatímco méně větvený laminaran je rozpustný pouze ve vodě teplé [42].

Nejvyšší obsah škrobu vykazoval produkt zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C (3,9 %).

Dle Fernandes *et al.* bylo u zelené mikrořasy *Chlorella vulgaris* stanoveno 2,35 – 3,1 % škrobu v závislosti na použité metodě. U téhož druhu se po úpravě

kultivačních podmínek (snížení množství dusíku) vyskytoval škrob v obsahu až 35 % [106].

Tab. 4.10.1: Obsah škrobu v produktech z řas v [%]

	Obsah škrobu [%]
C	3,9 ± 0,18
CT	3,0 ± 0,17

V souvislosti s produkcí biopaliv se do popředí zájmu často dostávají řasy jako vhodná surovina pro jejich výrobu. Řasy jako fotosyntetizující organizmy jsou schopny za krátké časové úseky nashromáždit značné množství lipidů a sacharidů, které mohou být poté následovně zpracovány na biopaliva. Vybrané druhy mikrořas jako např. *Chlorella vulgaris* mají schopnost produkovat vyšší množství škrobu než lipidů, který slouží jako zásobní polymer. Některé druhy jsou také schopné akumulovat velké množství škrobu při deficitu dusíku [106].

4.11 Stanovení antioxidační aktivity

Při hodnocení antioxidační aktivity je posuzován antioxidační účinek různých chemických látek s odlišnými chemickými mechanismy a pro její stanovení se využívají metody založené na různém principu. Hodnoty antioxidační aktivity zjištěné jednotlivými metodami jsou považovány za odhad, který závisí na řadě faktorů, jako je typ použitého radikálu, matrice vzorku, použitý standard a jiné faktory [107].

Antioxidační aktivita produktů z řas a autotrofně kultivované mikrořasy *Chlorella* sp. byla stanovena metodou fotochemiluminiscenční a metodami ABTS a DPPH.

4.11.1 Stanovení antioxidační aktivity fotochemiluminiscenční metodou

U fotochemiluminiscenční metody dochází k fotochemické generaci superoxidových radikálů, které jsou částečně eliminovány reakcí s antioxidanty přítomnými ve vzorku. Zbývající radikály jsou detekovány chemiluminiscencí za použití detekčního činidla luminolu [107].

Antioxidační aktivita ve vodě rozpustných látek (ACW) a v tučných rozpustných látek (ACL) byla stanovena za použití dvou různých extrakčních postupů (Tab. 4.11.1.1 a 4.11.1.2) fotochemiluminiscenční metodou. Výsledky jsou vyjádřeny v μ molech ekvivalentu askorbové kyseliny (AAE) na 1 g vzorku pro látky rozpustné ve vodě. U látek rozpustných v tučných je jejich antioxidační aktivita uvedena v μ molech ekvivalentu Troloxu (TE) na 1 g vzorku.

Nejvyšší hodnoty ACW vykazovaly dvě hnědé řasy *E. bicyclis*, A ($5,76^1 \mu\text{mol AAE/g}/9,30^2 \mu\text{mol AAE/g}$) a *H. fusiformis*, H ($1,21^1 \mu\text{mol AAE/g}/2,20^2 \mu\text{mol AAE/g}$) a to při použití obou extrakčních metod. Pro srovnání byl proměřen i vzorek autotrofně kultivované zelené mikrořasy *Chlorella* sp., CT z Akademie věd ČR v Nových Hradech, který vykazoval vyšší hodnotu ACW ($0,91^1 - 1,11^2 \mu\text{mol AAE/g}$), než byla stanovena v produktu zelené řasy *C. pyrenoidosa*, C ($0,25^1 \mu\text{mol AAE/g}/0,17^2 \mu\text{mol AAE/g}$).

Statisticky významný rozdíl v metodě použité extrakce při stanovení antioxidační aktivity ve vodě rozpustných látek byl zaznamenán pouze u vzorků *C. pyrenoidosa*, C, *E. bicyclis*, A, *H. fusiformis*, H a *Chlorella* sp., CT. U zbylých vzorků neměla metoda extrakce statisticky významný vliv na hodnoty antioxidační aktivity ve vodě rozpustných látek.

Tab. 4.11.1.1: Antioxidační aktivita ve vodě rozpustných látek po extrakci za použití vodní lázně s třepačkou a ultrazvukové lázně, vyjádřené jako $\mu\text{mol AAE/g}$ vzorku

	ACW ¹	ACW ²
	[$\mu\text{mol AAE/g}$]	
S	0,82 ± 0,10 ^a	0,71 ± 0,07 ^a
C	0,25 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,05 ^b
N	0,14 ± 0,02 ^a	0,12 ± 0,04 ^a
D	0,52 ± 0,01 ^a	0,59 ± 0,13 ^a
K	0,15 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,10 ^a
A	5,76 ± 0,14 ^a	9,30 ± 1,21 ^b
W	0,29 ± 0,07 ^a	0,32 ± 0,02 ^a
WI	0,20 ± 0,05 ^a	0,25 ± 0,08 ^a
H	1,21 ± 0,03 ^a	2,20 ± 0,19 ^b
CT	0,91 ± 0,13 ^a	1,11 ± 0,08 ^b

¹ Extrakce za použití vodní lázně s třepačkou

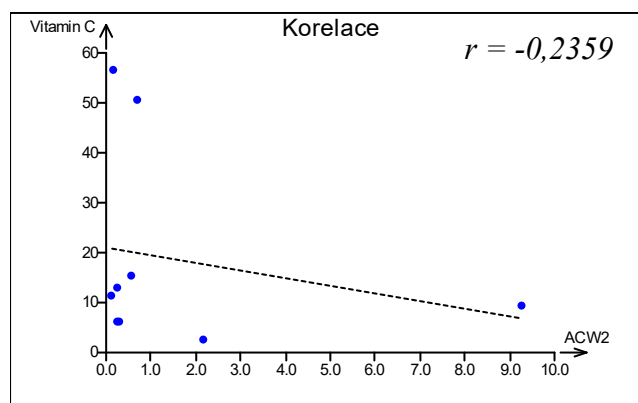
² Extrakce za použití ultrazvukové lázně

^{a, b} Hodnoty v řádku s rozdílným indexem jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$

Pro ilustraci výsledky nejvyšší antioxidační aktivity ve vodě rozpustných látek získané metodou PCL u vybraných druhů zeleniny a ovoce jsou následující: červená řepa (5,21 $\mu\text{mol AAE/g}$), červené zelí (19,77 – 40,6 $\mu\text{mol AAE/g}$) a borůvky (14,10 – 21,74 $\mu\text{mol AAE/g}$). Udávané hodnoty jsou stanoveny ve šťávě [107].

Hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu nepotvrdily statisticky významnou korelaci mezi ACW získaných extrakcí za použití ultrazvukové lázně a obsahem vitamínu C (Obr. 4.11.1.1). Avšak statisticky významná

korelace mezi ACW a obsahem celkových polyfenolů byla potvrzena a mimo jiné publikována v impaktovaném vědeckém časopise [15].



Obr. 4.11.1.1: Korelace mezi ACW^2 a obsahem vitaminu C, $P < 0,05$

Nejvyšší hodnoty ACL byly ze zkoumaných produktů zjištěny u sinice *S. platensis*, S ($9,52^1 \mu\text{mol TE/g}/9,01^2 \mu\text{mol TE/g}$) a červené řasy *P. tenera*, N ($7,55^1 \mu\text{mol TE/g}/8,43^2 \mu\text{mol TE/g}$) za použití obou extrakčních postupů. Při srovnání hodnot ACL autotrofně kultivované zelené řasy *Chlorella* sp., CT ($26,46^1 \mu\text{mol TE/g}/31,10^2 \mu\text{mol TE/g}$) z Akademie věd ČR v Nových Hradech a hodnot ACL produktu *C. pyrenoidosa*, C ($5,94^1 \mu\text{mol TE/g}/5,58^2 \mu\text{mol TE/g}$), byly hodnoty ACL u produktu až trojnásobně nižší.

Statisticky významný rozdíl v metodě použité extrakce při stanovení antioxidační aktivity v tučích rozpustných látek byl zaznamenán pouze u vzorků *P. tenera*, N, *P. palmata*, D, *L. japonica*, K a *H. fusiformis*, H. U zbylých neměla metoda extrakce statisticky významný vliv na hodnoty antioxidační aktivity v tučích rozpustných látek.

Pro ilustraci hodnoty vysoké antioxidační aktivity v tučích rozpustných látek získané metodou PCL u vybraných druhů zeleniny a ovoce jsou následující: červené zelí ($54,07 - 78,54 \mu\text{mol TE/g}$), borůvky ($174,92 - 190,07 \mu\text{mol TE/g}$) a višně ($14,70 \mu\text{mol TE/g}$) [107].

Tab. 4.11.1.2: Antioxidační aktivita v tucích rozpustných látek po extrakci za použití vodní lázně s třepačkou a ultrazvukové lázně, vyjádřené jako $\mu\text{mol TE/g}$ vzorku

	ACL ¹	ACL ²
	[$\mu\text{mol TE/g}$]	
S	9,52 ± 0,43 ^a	9,01 ± 0,19 ^a
C	5,94 ± 0,27 ^a	5,58 ± 0,80 ^a
N	7,55 ± 0,11 ^a	8,43 ± 0,19 ^b
D	1,38 ± 0,17 ^a	1,12 ± 0,06 ^b
K	0,32 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,03 ^b
A	1,85 ± 0,03 ^a	1,81 ± 0,04 ^a
W	0,52 ± 0,07 ^a	0,71 ± 0,19 ^a
H	2,15 ± 0,14 ^a	2,95 ± 0,46 ^b
CT	26,46 ± 4,23 ^a	31,10 ± 4,09 ^a

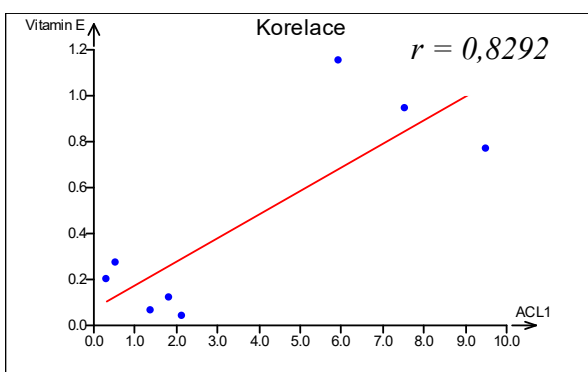
¹ Extrakce za použití vodní lázně s třepačkou

² Extrakce za použití ultrazvukové lázně

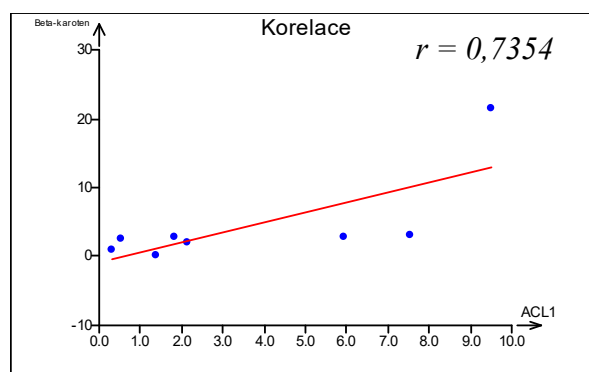
^{a, b} Hodnoty v řádku s rozdílným indexem jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$

Hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu potvrdily statisticky významnou korelaci mezi ACL získaných extrakcí za použití vodní lázně s třepačkou a obsahem vitamínu E, respektive β -karotenu (Obr. 4.11.1.2, Obr. 4.11.1.3).

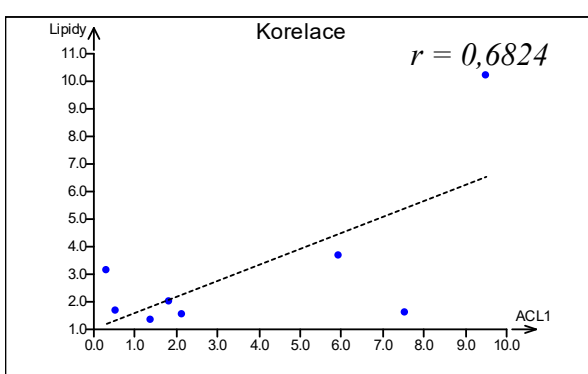
Naopak statisticky významná korelace mezi ACL získaných extrakcí za použití vodní lázně s třepačkou a obsahem celkových lipidů získaných extrakcí rozpouštědlovou směsí metanol/chloroform/voda (1:2:1) nebyla potvrzena (Obr. 4.11.1.4).



Obr. 4.11.1.2: Korelace mezi ACL^1 a obsahem vitamínu E, $P < 0,05$



Obr. 4.11.1.3: Korelace mezi ACL^1 a obsahem β -karotenu, $P < 0,05$



Obr. 4.11.1.4: Korelace mezi ACL^1 a obsahem celkových lipidů, $P < 0,05$

4.11.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS a DPPH

Hodnoty antioxidační aktivity řas stanovené metodou ABTS (Tab. 4.11.2.1) byly v rozmezí od 3,20 $\mu\text{mol TE/g}$ (*L. japonica*, K) až po 9,54 $\mu\text{mol TE/g}$ (*S. platensis*, S). Nejvyšší antioxidační aktivitu z produktů z řas vykazovala tedy sinice *S. platensis*, S a téměř shodnou antioxidační aktivitu vykazovala i hnědá řasa *E. bicyclis*, A (9,04 $\mu\text{mol TE/g}$). Tato hnědá řasa vykazovala vysokou antioxidační aktivitu i u stanovení antioxidační aktivity ve vodě rozpustných látek PCL metodou. U zbylých vzorků byla antioxidační aktivita téměř vyrovnaná. Pro srovnání autotrofně kultivovaná zelená řasa *Chlorella* sp., CT z Akademie věd ČR v Nových Hradech, vykazovala vyšší antioxidační aktivitu

než většina vzorků řas (6,25 $\mu\text{mol TE/g}$), ale tato hodnota však byla stále nižší, než u sinice *S. platensis*, S či hnědé řasy *E. bicyclis*, A.

Tab. 4.11.2.1: Antioxidační aktivita stanovená metodou ABTS a DPPH v $\mu\text{mol TE/g}$ vzorku

	ABTS	DPPH
	[$\mu\text{mol TE/g}$]	
S	9,54 \pm 1,59 ^a	4,65 \pm 0,54 ^b
C	5,75 \pm 0,69 ^a	2,88 \pm 0,53 ^b
N	3,66 \pm 0,38 ^a	2,46 \pm 0,65 ^b
D	3,83 \pm 0,61 ^a	1,79 \pm 0,18 ^b
K	3,20 \pm 0,76 ^a	1,96 \pm 0,08 ^b
A	9,04 \pm 0,71 ^a	8,61 \pm 0,65 ^b
W	4,35 \pm 0,55 ^a	2,46 \pm 0,11 ^b
H	4,99 \pm 0,84 ^a	3,90 \pm 0,86 ^b
CT	6,25 \pm 0,69 ^a	3,25 \pm 0,24 ^b

^{a, b} Hodnoty v řádku s rozdílným indexem jsou statisticky odlišné na hladině významnosti $P < 0,05$

V porovnání s literaturou byly hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou ABTS u zelené řasy *Chlorella vulgaris* po superkritické vodní extrakci 146 $\mu\text{mol TE/g}$. U červené řasy *Porphyra* spp. až 193 $\mu\text{mol TE/g}$. U hnědé řasy *U. pinnatifida* byla antioxidační aktivita 47 $\mu\text{mol TE/g}$. Tyto hodnoty jsou několika násobně vyšší, než hodnoty stanovené v produktech z řas. Důvodem může být účinnější extrakce za pomoci superkritické vodní extrakce a také se nejednalo o zpracované produkty z řas [108].

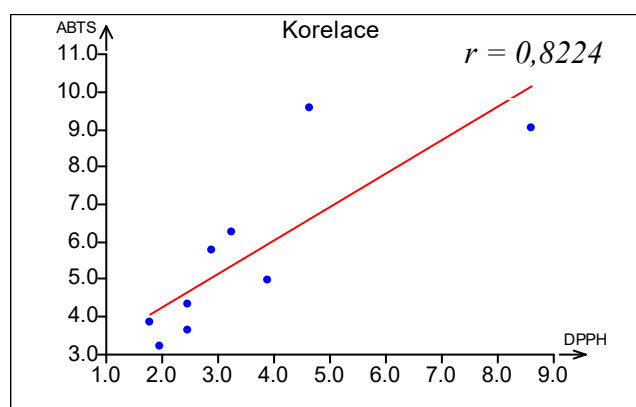
Antioxidační aktivita řas stanovená metodou DPPH (Tab. 4.11.2.1) byla v rozmezí od 1,79 $\mu\text{mol TE/g}$ (*P. palmata*, D) až po 8,61 $\mu\text{mol TE/g}$ (*E. bicyclis*,

A). Nejvyšší antioxidační aktivitu z produktů řas vykazovala tedy hnědá řasa *E. bicyclis*, A (8,61 $\mu\text{mol TE/g}$) následována sinicí *S. platensis*, S (4,65 $\mu\text{mol TE/g}$). Obecně antioxidační aktivita stanovená metodou DPPH ve srovnání s antioxidační aktivitou stanovenou metodou ABTS dosahovala nižších hodnot.

V porovnání s publikovanými výsledky byla antioxidační aktivita stanovená metodou DPPH u červených řas *Porphyra umbilicalis* (7,96 $\mu\text{mol TE/g}$) a u *P. palmata* (0,19 $\mu\text{mol TE/g}$). U hnědé řasy *Laminaria* spp. byla zaznamenána antioxidační aktivita o hodnotě 0,97 $\mu\text{mol TE/g}$ [91].

Statisticky významný rozdíl mezi antioxidační aktivitou získanou metodou ABTS a antioxidační aktivitou stanovenou metodou DPPH byl zaznamenán u všech vyšetřovaných vzorků.

Hodnota Pearsonova korelačního koeficientu potvrdila statisticky významnou korelaci mezi antioxidační aktivitou stanovenou metodou ABTS a antioxidační aktivitou stanovenou metodou DPPH (Obr. 4.11.2.1).



Obr. 4.11.2.1: Korelace mezi AOA stanovenou metodou ABTS a DPPH, $P < 0,05$

Dle publikace Holasová a Friedlerová, která sledovala hodnoty stanovení antioxidační aktivity z různých studií, byla korelace mezi jednotlivými

metodami pro stanovení antioxidační aktivity potvrzena, např. mezi ACW a DPPH. Naopak u jiných studií vzájemná korelace potvrzena nebyla [107].

5. PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Řasy se dnes jeví jako velmi perspektivní zdroj alternativní výživy a navíc vykazují, vyjma výživové hodnoty, i zdraví prospěšné účinky. Bylo ale nutné zjistit, zda i komerčně dostupné produkty z řas a sinic obsahují dostatečné množství vybraných biologicky aktivních látek, jako je tomu například u řas čerstvých.

Po provedení veškerých analýz a potřebných stanovení, byly splněny vytyčené cíle dizertační práce. Ze získaných výsledků lze konstatovat, že vyšetřované vzorky zelené sladkovodní sinice *Spirulina platensis*, zelené sladkovodní řasy *Chlorella pyrenoidosa*, červených mořských řas *Porphyra tenera* a *Palmaria palmata*, hnědých mořských řas *Laminaria japonica*, *Eisenia bicyclis*, *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiformis* a autotrofně kultivované zelené mikrořasy *Chlorella* sp. obsahují výživově a fyziologicky významné látky.

Přínos dizertační práce pro vědu:

- Práce poskytuje široký přehled o nutričním složení a obsahu fyziologicky významných látek v komerčně dostupných produktech ze sladkovodních a mořských řas.
- Bylo prokázáno, že produkty ze sladkovodních a mořských řas obsahují významné množství vybraných chemických prvků, esenciálních mastných kyselin a vitaminů.
- Bylo zjištěno, že produkty ze sladkovodních a mořských řas vykazují vysokou antioxidační aktivitu látek rozpustných ve vodě a v tucích.

- Výsledky dizertační práce byly a budou publikovány na tuzemských i zahraničních konferencích a ve vědeckých časopisech.

Přínos dizertační práce pro praxi:

- Byly získány nové a upřesňující poznatky o nutričním složení komerčně dostupných produktů ze sladkovodních a mořských řas dostupných na českém trhu.
- Tyto výsledky by měly přispět k lepší orientaci spotřebitele na českém trhu při nákupu těchto produktů ze sladkovodních a mořských řas.
- Po provedení veškerých analýz byly vybrány vhodné druhy sladkovodních a mořských řas dle jejich možného použití pro potravinářské účely. Přídavek vybraných řas do potravin může tyto produkty obohatit v závislosti na zvoleném druhu řasy o biologicky aktivní látky.

6. ZÁVĚR

Tato práce se zabývá stanovením vybraných biologicky aktivních látek sladkovodních a mořských řas s cílem zjistit jejich chemické složení. Vzorky řas a sinice byly podrobeny chemickým analýzám ke zjištění obsahu sušiny, popela, elementárního prvkového složení, vybraných chemických prvků, lipidů, profilů mastných kyselin, vybraných barviv a vitaminů, flavonoidů, škrobu a v neposlední řadě byla také zjišťována antioxidační aktivita těchto vzorků.

Vyšetřované vzorky vykazovaly vysoké obsahy majoritních chemických prvků, například hořčíku, ale také stopových prvků, kobaltu a mědi. Sladkovodní řasy a sinice jsou také dobrým zdrojem fosforu a chromu. Navíc autotrofně kultivovaná zelená mikrořasa *Chlorella* sp., obsahovala vysoké množství železa. Naopak u žádného z produktů nebyla překročena koncentrace obsahu toxických prvků, vyjma produktu Arame řasy *Eisenia bicyclis*, kde byla překročena povolená hladina kadmia.

Z hlediska obsahu lipidů vykazovaly sladkovodní zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa* v produktu Chlorella Tabs a sinice *Spirulina platensis* v produktu Spirulina Bio obecně nezanedbatelně vyšší koncentraci lipidů, než je tomu u mořských produktů z řas. Avšak z pohledu obsahu polynenasycených mastných kyselin byla jejich významným zdrojem, vyjma sladkovodní sinice *Spirulina platensis* a řasy *Chlorella pyrenoidosa*, také hnědá řasa *Undaria pinnatifida* v produktu Wakame a Wakame-instant. Nejvyšší obsah ω -3 mastných kyselin byl stanoven v produktu Chlorella Tabs ze zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* a dvou produktech Wakame a Wakame-instant z hnědé řasy *Undaria pinnatifida*. Naopak nejvyšší množství ω -6 mastných kyselin bylo zaznamenáno v produktu Spirulina Bio sinice *Spirulina platensis*.

Významným zdrojem β -karotenu je produkt Spirulina Bio sinice *Spirulina platensis*. Z pohledu obsahu vitaminů D₂ a C byly stanoveny, u produktu Spirulina Bio ze sladkovodní sinice *Spirulina platensis* a zelené řasy *Chlorella*

pyrenoidosa produktu Chlorella Tabs, vysoké obsahy těchto vitaminů. Vitamin E se vyskytoval v nejvyšší koncentraci u sladkovodní zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* v produktu Chlorella Tabs a červené mořské řasy *Porphyra tenera* produktu Nori vločky. Nejvyšší obsah vitaminů skupiny B byl zjištěn v produktu Spirulina Bio sinice *Spirulina platensis*, a to včetně nejvyššího obsahu vitamínu B₁₂, který je při absenci konzumace živočišných produktů doplňován právě z alternativních zdrojů.

Nejvýznamnější obsah celkového chlorofylu byl stanoven v produktu Spirulina Bio sinice *Spirulina platensis* a u této sinice byl také zaznamenán i nejvyšší obsah luteinu.

Obsah flavonoidů byl v nejvyšším množství zaznamenán u produktu ze sinice *Spirulina platensis* a zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa*. Nejvíce škrobu se vyskytovalo u produktu ze zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa*.

Nejvyšší antioxidační aktivitu ve vodě rozpustných látek za použití fotochemiluminiscenční metody vykazovaly dva produkty z hnědých řas *Eisenia bicyclis* (Arame) a *Hizikia fusiformis* (Hiziki).

Naopak nejvyšší antioxidační aktivita látek rozpustných v tucích za použití fotochemiluminiscenční metody byla stanovena u produktu ze sinice *Spirulina platensis* a produktu Nori vločky z červené řasy *Porphyra tenera*. Nicméně v porovnání s antioxidační aktivitou autotrofně kultivované zelené řasy *Chlorella* sp. byly hodnoty antioxidační aktivity této řasy až trojnásobně vyšší.

Při stanovení antioxidační aktivity za použití metody ABTS a DPPH byla nejvyšší antioxidační aktivita zaznamenána u produktu ze sinice *Spirulina platensis* a produktu z hnědé řasy *Eisenia bicyclis*.

Po vyhodnocení veškerých analýz lze konstatovat, že jako nejvhodnější zdroj biologicky aktivních látek se jeví sladkovodní sinice *Spirulina platensis* a sladkovodní zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa*. Tato sinice a řasa vyniká

výjimečností obsahu téměř všech zkoumaných biologicky aktivních látek, ale i možností zdánlivě jednoduché kultivace. Pokud by se potravinářské produkty měly obohacovat pouze o jednotlivé vybrané biologicky aktivní látky a ne o celé jejich spektrum, v určitých případech by šlo využít i vybrané druhy mořských řas v závislosti na požadované biologicky aktivní látce.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CARDOSO, H. M. Katrina et al. Metabolites form algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* [online]. 2007, **146**(1-2), 60-78 [cit. 2014-02-16]. ISSN 1532-0456. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.05.007>
- [2] HOLDT, S. Lovstad a KRAAN, Stefan. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2011, **23**(3), 543-597 [cit. 2014-02-16]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- [3] ORTIZ, Jaime et al. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* [online]. 2006, **99**(1), 98-104 [cit. 2014-02-18]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.027>
- [4] PLAZA, Merichel, CIFUENTES, Alejandro a IBÁÑEZ, Elena. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2008, **19**(1), 31-39 [cit. 2014-03-16]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2007.07.012>
- [5] ORTEGA-CALVO, J. Jose. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. *Journal of Applied Phycology* [online]. 1993, **5**(4), 425-435 [cit. 2014-02-11]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02182735>
- [6] MACARTAIN, Paul. Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutrition Reviews* [online]. 2007, **65**(12), 535-543 [cit. 2014-03-16]. ISSN 1753-4887. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00278.x>

- [7] PEREIRA, Leonel. A Review of the Nutrient Composition of Selected Edible Seaweeds. In: POMIN, H. Vitor, *Seaweed: Ecology, Nutrient Composition, and Medicinal Uses*. Hauppauge: Nova Science Publishers, Inc., 2011, s. 15-47. ISBN 978-1-61470-878-0.
- [8] KHOTIMCHENKO, V. Svetlana a KULIKOVA, V. Irina. Lipids of different parts of the lamina of *Laminaria japonica* Aresch. *Botanica Marina* [online]. 2000, **43**(1), 87-91 [cit. 2014-06-11]. ISSN 1437-4323. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.2000.008>
- [9] DAWCZYNSKI, Christine, SCHUBERT, Rainer a JAHREIS, Gerhard. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry* [online]. 2007, **103**(3), 891-899 [cit. 2014-01-29]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>
- [10] ONOFREJOVÁ, Lucia et al. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2010, **51**(1), 464-470 [cit. 2014-06-11]. ISSN 0731-7085. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2009.03.027>
- [11] PARYS, Sabine et al. Evaluation of Quantitative Methods for the Determination of Polyphenols in Algal Extracts. *Journal of Natural Products* [online]. 2007, **70**(12), 1865-1870 [cit. 2014-03-03]. ISSN 1520-6025. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1021/np070302f>
- [12] RAO, CH. Kesava a UNTAWALE, G. Arvind. Polyphenols content of Indian seaweeds. *Mahasagar* [online]. 1991, **24**(2), 99-102 [cit. 2014-06-11]. ISSN 0542-0938. Dostupné z: <http://ijs.nio.org/index.php/msagar/article/view/2016/1994>

- [13] SHIBATA, Toshiyuki et al. Extracellular secretion of phenolic substances from living brown algae. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2006, **18**(6), 787-794 [cit. 2014-02-18]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-006-9094-y>
- [14] RODRÍGUEZ-BERNALDO DE QUIRÓS, Ana, LAGE-YUSTY, A. Maria a LOPÉZ-HERNÁNDEZ, Julia. Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. *Food Chemistry* [online]. 2010, **121**(2), 634-638 [cit. 2014-02-18]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.078>
- [15] MACHU, Ludmila et al. Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products. *Molecules* [online]. 2015, **20**(1), 1118-1133 [cit. 2015-01-02]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules20011118>
- [16] NORZIAH, H. Mond a CHING, Y. Chio. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chemistry* [online]. 2000, **68**(1), 69-76 [cit. 2014-02-07]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00161-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00161-2)
- [17] MATANJUN, Patricia et al. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum* [online]. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2009, **21**(1), 75-80 [cit. 2014-02-07]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-008-9326-4>
- [18] VAVRA AMBROZOVA, Jarmila et al. Influence of Extractive Solvents on Lipid and Fatty Acids Content of Edible Freshwater Algal and Seaweed Products and Green Microalga *Chlorella kessleri* and Blue-green Microalga *Spirulina platensis*. *Molecules* [online]. 2014, **19**(2), 2344-2360 [cit. 2014-05-07]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules19022344>

- [19] RAMOS, V. Márcio et al. Amino acid composition of some Brazilian seaweed species. *Journal of Food Biochemistry* [online]. 2000, **24**(1), 33-39 [cit. 2014-03-17]. ISSN 1745-4514. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.2000.tb00041.x>
- [20] MIŠURCOVÁ, Ladislava et al. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. *Food Chemistry* [online]. 2014, **151**(1), 120-125 [cit. 2014-03-18]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.040>
- [21] MIŠURCOVÁ, Ladislava, MACHŮ, Ludmila a ORSAVOVÁ, Jana. Seaweed minerals as nutraceuticals. In: KIM, Se-Kwon, *Advances in Food and Nutrition Research*, Marine Medicinal Foods: Implications and Applications, Macro and Microalgae. Amsterdam: Academic Press, 2011, s. 371-390. ISBN 978-0-12-387669-0.
- [22] RUPÉREZ, Pilar. Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry* [online]. 2002, **79**(1), 23-26 [cit. 2014-07-25]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00171-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00171-1)
- [23] SANTOSO, Joko et al. Mineral Contents of Indonesian Seaweeds and Mineral Solubility Affected by Basic Cooking. *Food Science and Technology Research* [online]. 2006, **12**(1), 59-66 [cit. 2014-04-20]. ISSN 1344-6606. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.3136/fstr.12.59>
- [24] POULÍČKOVÁ, Aloisie a JURČÁK, Jaroslav. *Malý obrazový atlas našich sinic s řas*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2001. 81 s. ISBN 80-244-0242-4.

- [25] IOANNOU, Efstathia a ROUSSIS, Vassilios. Natural Products from Seaweeds. In: OSBOURN, Anne and LANZOTTI Virginia, *Plant-derived Natural Products, Synthesis Function, and Application* [online]. New York: Springer US, 2009, s. 51-81 [cit. 2014-03-17]. ISBN 978-0-387-85498-4. Dostupné z: http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-85498-4_2
- [26] EL GAMAL, A. Ali. Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. 2010, **18**(1), 1-25 [cit. 2014-03-20]. ISSN 1319-0164. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>
- [27] KALINA, Tomáš a VÁŇA, Jiří. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2005. 606 s. ISBN 80-246-1036-1.
- [28] URBAN, Zdeněk a KALINA, Tomáš. *Systém a evoluce nižších rostlin*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980. 416 s.
- [29] GUPTA, Shilpi a ABU-GHANNAM, Nissreen. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology* [online]. 2011, **22**(6), 315-326 [cit. 2014-06-20]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.011>
- [30] MISHRA, K. Vijay et al. Lipids of the Red Alga, *Palmaria palmata*. *Botanica marina* [online]. 1993, **36**(2), 169-174 [cit. 2014-08-07]. ISSN 1437-4323. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1515/botm.1993.36.2.169>
- [31] SANINA, M. Nina, GONCHAROVA, N. Svetlana a KOSTETSKY, Y. Eduard. Seasonal changes of fatty acid composition and thermotropic behavior of polar lipids from marine macrophytes. *Phytochemistry* [online]. 2008, **69**(7), 1517-1527 [cit. 2014-04-22]. ISSN 0031-9422. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.01.014>

- [32] COLLA, M. Luciane, BERTOLIN, E. Telma a COSTA, V. A. Jorge. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. *Zeitschrift für Naturforschung C* [online]. 2004, **59**(1-2), 55-59 [cit. 2014-04-07]. ISSN 0939-5075. Dostupné z: <http://www.znaturforsch.com/ac/v59c/s59c0055.pdf>
- [33] MCHUGH, J. Dennis. *A Guide to the Seaweed Industry*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003. 105 s. ISBN 92-5-104958-0.
- [34] HERNÁNDEZ-CARMONA, Gustavo et al. Monthly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J.E. Areschoug. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2009, **21**(5), 607-616 [cit. 2014-04-08]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-009-9454-5>
- [35] MIŠURCOVÁ, Ladislava et al. Nitrogen Content, Dietary Fiber, and Digestibility in Algal Food Products. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2010, **28**(1), 27-35 [cit. 2014-04-30]. ISSN 1212-1800. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/16226.pdf>
- [36] BABADZHANOV, Azam et al. Chemical Composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds* [online]. 2004, **40**(3), 276-279 [cit. 2014-02-26]. ISSN 1573-8388. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1023/B:CONC.0000039141.98247.e8>
- [37] SPOEHR, A. Hermon a MILNER, W. Harold. The Chemical Composition of Chlorella; Effect of Environmental Conditions. *Plant Physiology* [online]. 1949, **24**(1), 120-149 [cit. 2013-06-13]. ISSN 1532-2548. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC437916/>

- [38] D'OCA, M. G. Marcelo et al. Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomass and bioenergy* [online]. 2011, **35**(4), 1533-1538 [cit. 2014-02-13]. ISSN 0961-9534. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.047>
- [39] BURTIN, Patricia. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2003, **2**(4), 498-503 [cit. 2014-05-15]. ISSN 1579-4377. Dostupné z: http://old.analytical.chem.itb.ac.id/coursesdata/16/moddata/assignment/15/576/jurnal_biopang7.pdf
- [40] SÁNCHEZ-MACHADO, I. Dalia et al. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* [online]. 2004, **85**(3), 439-444 [cit. 2014-04-28]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.001>
- [41] JIMENÉZ-ESCRIG, Antonio a SANCHÉZ-MUNIZ, J. Francisco. Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolisms. *Nutrition Research* [online]. 2000, **20**(4), 585-598 [cit. 2014-05-05]. ISSN 0271-5317. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00149-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00149-4)
- [42] MIŠURCOVÁ, Ladislava et al. Health Benefits of Algal Polysaccharides in Human Nutrition. In: HENRY, Jeyakumar, *Advances in Food and Nutrition Research*. Oxford: Academic Press, 2012, s. 75-145. ISBN: 978-12-394597-6.
- [43] GÓMEZ-ORDÓNEZ, Eva, JIMÉNEZ-ESCRIG, Antonio a RUPÉREZ, Pilar. Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Research International* [online]. 2010, **43**(9), 2289-2294 [cit. 2014-06-14]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.08.005>

- [44] FLEURENCE, Jöel. Seaweeds proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Sciences & Technology* [online]. 1999, **10**(1), 25-28 [cit. 2014-03-14]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00015-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00015-1)
- [45] MIŠURCOVÁ, Ladislava. Chemical Composition of Seaweeds. In: KIM, Se-Kwon, *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd., 2011, s. 173-192. ISBN 978-0-470-97918-1.
- [46] POLAT, Sevim a OZOGUL, Yesim. Seasonal proximate and fatty acid variations of some seaweeds from the northeastern Mediterranean coast. *Oceanologia* [online]. 2013, **55**(2), 375-391 [cit. 2014-04-14]. ISSN 0078-3234. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5697/oc.55-2.375>
- [47] MIŠURCOVÁ, Ladislava, AMBROŽOVÁ, Jarmila a SAMEK, Dušan. Seaweed Lipids as Nutraceuticals. In: KIM, Se-Kwon, *Advances in Food and Nutrition Research, Marine Medicinal Foods: Implications and Applications, Macro and Microalgae*. Amsterdam: Academic Press, 2011, s. 339-355. ISBN 978-0-12-387669-0.
- [48] GROFOVÁ, Zuzana. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi* [online]. 2010, **7**(10), 388-390 [cit. 2014-04-17]. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/08/10.pdf>
- [49] ŠKROVÁNKOVÁ, Soňa. Seaweed Vitamins as Nutraceuticals. In: KIM, Se-Kwon, *Advances in Food and Nutrition Research, Marine Medicinal Foods: Implications and Applications, Macro and Microalgae*. Amsterdam: Academic Press, 2011, s. 357-369. ISBN 978-0-12-387669-0.

- [50] PANGESTUTI, Ratih a KIM, Se-Kwon. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *Journal of Functional Foods* [online]. 2011, **3**(4), 255-266 [cit. 2014-07-11]. ISSN 1756-4646. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2011.07.001>
- [51] HARUN, Razif et al. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [online]. 2010, **14**(3), 1037-1047 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1367-0321. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.rser.2009.11.004>
- [52] KOPECKÝ, Jiří. *Metody vyhledávání biologicky aktivních látek*. In: archiv.otevrena-veda.cz [online]. 19.3.2015 [cit. 2015-03-19]. Dostupné z: <http://docplayer.cz/851983-Metody-vyhledavani-biologicky-aktivnich-latek.html>
- [53] DŘÍMALOVÁ, Darina. Růstové regulátory v řasách. *Czech Phycology* [online]. 2005, **5**(1), 101-112 [cit. 2014-08-19]. ISSN 1805-4927. Dostupné z: http://fottea.czechphycology.cz/_contents/CP5-2005-08.pdf
- [54] TRINGALI, Corrado. Bioactive metabolites from marine algae: Recent Results. *Current Organic Chemistry* [online]. 1997, **1**(4), 375-394 [cit. 2014-08-13]. ISSN 1875-5348. Dostupné z: <https://www.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=Z01PF95xKMQC&oi=fnd&pg=PA375&dq=Bioactive+metabolites+from+marine+algae&ots>
- [55] KHANAVI, Mahnaz et al. Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biological Research* [online]. 2010, **43**(1), 31-37 [cit. 2014-05-11]. ISSN 0716-9760. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602010000100005>

- [56] ZUBIA, Mayalen et al. Antioxidant and cytotoxic activities of some red algae (Rhodophyta) from Brittany coasts (France). *Botanica Marina* [online]. 2009, **52**(3), 268-277 [cit. 2014-05-11]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.2009.037>
- [57] FREILE-PELEGRÍN, Yolanda a MORALES, L. Juan. Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. *Botanica Marina* [online]. 2004, **47**(2), 140-146 [cit. 2014-05-11]. ISSN 1437-4323. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.2004.014>
- [58] ZHENG, Yi, CHEN, Yin-shan a LU, Hai-sheng. Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* [online]. 2001, **19**(4), 327-331 [cit. 2014-08-12]. ISSN 1993-5005. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02850736>
- [59] PATTERSON, L. M. Gregory et al. Antiviral activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta). *Journal of Phycology* [online]. 1993, **29**(1), 125-130 [cit. 2014-05-11]. ISSN 1529-8817. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.1993.tb00290.x>
- [60] BLUNT, W. John et al. Marine natural products. *Natural Product Reports* [online]. 2010, **27**(2), 165-237 [cit. 2014-08-07]. ISSN 1460-4752. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1039/B906091J>
- [61] SINGH, Sawraj, KATE, N. Bhushan a BANERJEE, C. Uttam. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology* [online]. 2005, **25**(3), 73-95 [cit. 2014-08-02]. ISSN 1549-7801. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1080/07388550500248498>

- [62] SMIT, J. Albertus. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2004, **16**(4), 245-262 [cit. 2014-07-12]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047783.36600.ef>
- [63] KHAN, A. N. Mohammed et al. Anti-inflammatory activities of methanol extracts from various seaweed species. *Journal of Environmental Biology* [online]. 2008, **29**(4), 465-469 [cit. 2014-06-22]. ISSN 2394-0379. Dostupné z: http://www.jeb.co.in/journal_issues/200807_jul08_spl/paper_09.pdf
- [64] OREN, Aharon a GUNDE-CIMERMAN, Nina. Mycosporines and mycosporine-like amino acids: UV protectants or multipurpose secondary metabolites? *FEMS Microbiology letters* [online]. 2007, **269**(1), 1-10 [cit. 2014-08-02]. ISSN 1574-6968. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00650.x>
- [65] CHENG, Fu-Chou, JEN, Jen-Fon a TSAI, Tung-Hu. Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. *Journal of Chromatography B* [online]. 2002, **781**(1-2), 481-496 [cit. 2015-07-27]. ISSN 1570-0232. Dostupné z: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/S1570-0232\(02\)00620-7](http://dx.doi.org/doi:10.1016/S1570-0232(02)00620-7)
- [66] PAULOVÁ, Hana, BOCHOŘÁKOVÁ, Hana a TÁBORSKÁ, Eva. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické listy* [online]. 2004, **98**(4), 174-179 [cit. 2014-10-12]. ISSN 1803-2389. Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf
- [67] LI, Bo et al. Characterization and antioxidant activities of acidic polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Markino. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2015, **127**(6), 209-214 [cit. 2015-07-27]. ISSN 1570-0232. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.carbpol.2015.03.069>

- [68] ČSN 46 7092-2. Metody zkoušení krmiv: Část 2: Příprava vzorků ke zkoušení. Praha: Český normalizační institut, 1998.
- [69] ČSN 46 7092-3. Metody zkoušení krmiv: Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti. Praha: Český normalizační institut, 1998.
- [70] ČSN 46 7092-9. Metody zkoušení krmiv: Část 9: Stanovení obsahu popela. Praha: Český normalizační institut, 1998.
- [71] FOLCH, Jordi, LEES, Marjorie a SLOANE STANLEY, H. Gerald. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 1957, **226**(1), 497-509 [cit. 2013-01-02]. ISSN 1083-351X. Dostupné z: <http://www.jbc.org/content/226/1/497.full.pdf+html>
- [72] ČSN P CEN ISO/TS 17764-1. Krmiva – stanovení obsahu mastných kyselin: Část 1: Příprava methylesterů. Praha: Český normalizační institut, 2007. 20 s. Třídící znak 467096.
- [73] ČSN P CEN ISO/TS 17764-2. Krmiva – Stanovení obsahu mastných kyselin: Část 2: Metoda plynové chromatografie. Praha: Český normalizační institut, 2007. 24 s. Třídící znak 467096.
- [74] JEFFREY, W. Shirley, MANTOURA, C. F. Richard a WRIGHT, W. Scott. *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. 2. vyd. Paris: UNESCO Publishing, 1997. 661 s. ISBN 92-3-103275-5.
- [75] BRITTON, George, LIAAEN-JENSEN, Synnove a PFANDER, Hanspeter. Methods for the isolation and analysis of carotenoids. In: YOUNG, J. Andrew and BRITTON, George, *Carotenoids in Photosynthesis*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1993, s. 409 - 457. ISBN 978-94-010-4942-9.

- [76] ČSN EN ISO 10519. Semeno řepky: Stanovení obsahu chlorofylu – spektrometrická metoda. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [77] WELLBURN, R. Alan. The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology* [online]. 1994, **144**(3), 307-313 [cit. 2013-11-02]. ISSN 0176-1617. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- [78] DERE, Sükran, GÜNES, Tohit a SIVACI, Ridvan. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *Turkish Journal of Botany* [online]. 1998, **22**(1), 13-17 [cit. 2014-11-02]. ISSN 1303-6106. Dostupné z: <http://journals.tubitak.gov.tr/botany/issues/bot-98-22-1/bot-22-1-3-96040.pdf>
- [79] MCCREADY, M. Rolland et al. Determination of Starch and Amylose in Vegetables. *Analytical chemistry* [online]. 1950, **22**(9), 1156-1158 [cit. 2014-09-16]. ISSN 1520-6882. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60045a016>
- [80] BRÁNYIKOVÁ, Irena et al. Microalgae – Novel Highly Efficient Starch Producers. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. 2011, **108**(4), 766-776 [cit. 2014-09-21]. ISSN 1097-0290. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1002/bit.23016>
- [81] TESLOVÁ, Petra, KALINA, Jiří a URBAN, Otmar. Simultánní stanovení obsahu nestrurních sacharidů a škrobu v listech vyšších rostlin metodou využívající anthronového činidla. *Chemické listy* [online]. 2010, **104**(9), 867-870 [cit. 2014-11-04]. ISSN 1803-2389. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_09_867-870.pdf

- [82] SZAROWSKÁ, Eva. *Hodnocení antioxidační aktivity vybraných aromatických rostlin*. Zlín, 2012. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Technologická fakulta.
- [83] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. 283 s. ISBN 80-902391-4-5.
- [84] BAUMANN, A. Hans, MORRISON, Liam a STENGEL, B. Dagmar. Metal accumulation and toxicity measured by PAM-Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2009, **72**(4), 1063-1075 [cit. 2015-11-22]. ISSN 0147-6513. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ecoenv.2008.10.010>
- [85] GRESSLER, Vanessa et al. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chemistry* [online]. 2010, **120**(2), 585-590 [cit. 2014-03-27]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.028>
- [86] PETKOV, Georgi a GARCIA, Guillermo. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochemical Systematics and Ecology* [online]. 2007, **35**(5), 281-285 [cit. 2013-12-11]. ISSN 0305-1978. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.bse.2006.10.017>
- [87] FLEURENCE, Jöel et al. Fatty acids from 11 marine macroalgae of the the French Brittany coast. *Journal of Applied Phycology* [online]. 1994, **6**(5-6), 527-532 [cit. 2013-12-09]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1007/BF02182406>
- [88] KHOTIMCHENKO, V. Svetlana. Fatty acids of brown algae from the Russian Far East. *Phytochemistry* [online]. 1998, **49**(8), 2363-2369 [cit. 2013-12-11]. ISSN 0031-9422. Dostupné z: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0031-9422\(98\)00240-4](http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0031-9422(98)00240-4)

- [89] LI, Xiancui et al. Fatty acids of some algae from Bohai sea. *Phytochemistry* [online]. 2002, **59**(2), 157-161 [cit. 2015-09-13]. ISSN 0031-9422. Dostupné z: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0031-9422\(01\)00437-X](http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0031-9422(01)00437-X)
- [90] DE ROECK-HOLTZHAUER, Yannick, QUERE, Isabelle a CLAIRE, Corinne. Vitamin analysis of five planktonic microalgae and one macroalga. *Journal of Applied Phycology* [online]. 1991, **3**(3), 259-264 [cit. 2015-08-20]. ISSN 0921-8971. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1007/BF00003584>
- [91] FERRACES-CASAI, Patricia et al. Evaluation of Bioactive Compounds in Fresh Edible Seaweeds. *Food Analytical Methods* [online]. 2012, **5**(4), 828-834 [cit. 2015-08-19]. ISSN 1936-9751. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1007/s12161-011-9321-2>
- [92] KOLB, Nada et al. Evaluation of Marine Algae Wakame (*Undaria pinnatifida*) and Kombu (*Laminaria digitata japonica*) as Food Supplements. *Food Technology and Biotechnology* [online]. 2004, **42**(1), 57-61 [cit. 2015-08-20]. ISSN 1330-9862. Dostupné z: <http://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2004/January-March/42-57.pdf>
- [93] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 3. 2. vyd. OSSIS: Tábor, 2002. 343 s. ISBN 80-86659-02-X.
- [94] JÄPELT, B. Rie a JAKOBSEN, JETTE. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2013, **4**(136), 1-20 [cit. 2015-08-20]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.3389/fpls.2013.00136>

- [95] MENDIOLA, A. Jose et al. Enrichment of vitamin E from *Spirulina platensis* microalga by SFE. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2008, **43**(3), 484-489 [cit. 2015-08-20]. ISSN 0896-8446. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.supflu.2007.07.021>
- [96] WANATABE, Fumio et al. Characterization and Bioavailability of Vitamin B₁₂-Compounds from edible Algae. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* [online]. 2002, **48**(5), 325-331 [cit. 2015-08-20]. ISSN 1881-7742. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.3177/jnsv.48.325>
- [97] SPOLAORE, Pauline, JOANNIS-CASSAN, Claire a ISAMBERT, Arsène. Commercial Application of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. 2006, **101**(2), 87-96 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1389-1723. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1263/jbb.101.87>
- [98] CALVO, M. Marta. Lutein: A valuable Ingredient of Fruit and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2005, **45**(7-8), 671-696 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1549-7852. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1080/10408690590957034>
- [99] CORDERO, F. Baldo et al. Enhancement of Lutein Production in *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) by Improvement of Culture Conditions and Random Mutagenesis. *Marine Drugs* [online]. 2011, **9**(9), 1607-1624 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.3390/md9091607>
- [100] SHI, Xiang-Ming, et al. Heterotrophic production of lutein by selected *Chlorella* strains. *Journal of Applied Phycology* [online]. 1997, **9**(5), 445-450 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1023/A:1007938215655>

- [101] KANAZAWA, Kazuki et al. Commercial-scale Preparation of Biofunctional Fukoxanthin from Waste Parts of Brown Sea Alga *Laminaria japonica*. *Food Science and Technology Research* [online]. 2008, **14**(6), 573-582 [cit. 2015-08-22]. ISSN 1344-6606. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.3136/fstr.14.573>
- [102] YOSHIE-STARK, Yumiko, HSIEH, Ya-Pei a SUZUKI, Takeshi. Distribution of flavonoids and related compounds from seaweeds in Japan. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* [online]. 2003, **89**(1), 1-6 [cit. 2015-08-26]. ISSN 0040-9014. Dostupné z: <https://lib.s.kaiyodai.ac.jp/library/kiyou/tsj8901.pdf>
- [103] SAVA, Constanta a SIRBU, Rodica. Analytical study of the determination of flavonoids in Black Sea algae. *Ovidius University Annals of Chemistry* [online]. 2010, **21**(1), 29-34 [cit. 2015-08-30]. ISSN 1583-2430. Dostupné z: http://anale-chimie.univ-ovidius.ro/anale-chimie/chemistry/2010-1/6_Sava.pdf
- [104] DIETRYCH-SZÓSTAK, Dorota. Changes in the flavonoid content of buckwheat groats under traditional and microwave cooking. *Fagopyrum* [online]. 2006, **23**(1), 94-96 [cit. 2015-08-26]. ISSN 0352-3032. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.488.8692&rep=rep1&type=pdf>
- [105] EWALD, Catarina et al. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chemistry* [online]. 1999, **64**(2), 231-235 [cit. 2015-08-26]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0308-8146\(98\)00136-8](http://dx.doi.org/doi:10.1016/S0308-8146(98)00136-8)
- [106] FERNANDES, Bruno et al. Starch determination in *Chlorella vulgaris* – a comparison between acid and enzymatic methods. *Journal of Applied Phycology* [online]. 2012, **24**(5), 1203-1208 [cit. 2015-08-30]. ISSN 1573-5176. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1007/s10811-011-9761-5>

- [107] HOLASOVÁ, Marie a FIEDLEROVÁ, Vlasta. Porovnání metod stanovení antioxidační aktivity v ovocných a zeleninových šťávách. *Chemické listy* [online]. 2011, **105**(10), 766-772 [cit. 2015-10-08]. ISSN 1803-2389. Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2011_10_766-772.pdf
- [108] PLAZA, Merichel et al. Facts about the Formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. *Food Research International* [online]. 2010, **43**(10), 2341-2348 [cit. 2015-08-25]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.foodres.2010.07.036>

SEZNAM PUBLIKACÍ

Články v databázi Web of Science

ORSAVOVÁ, J., MIŠURCOVÁ, L., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.**, VÍCHA, R., MLČEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of the Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, **16**, 12871-12890.

MACHU, L. MISURCOVA, L., **VAVRA AMBROZOVA, J.**, ORSAVOVA, J., MLCEK, J., SOCHOR, J., JURIKOVA, T. Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products. *Molecules*. 2015, **20**, 1118-1133.

VAVRA AMBROZOVA, J., MISURCOVA, L., VICHA, R., MACHU, L., SAMEK, D., BARON, M., MLCEK, J., SOCHOR, J., JURIKOVA, T. Influence of Extractive Solvents on Lipid and Fatty Acids Content of Edible Freshwater Algal and Seaweed Products and Green Microalga *Chlorella kessleri* and Blue-green Microalga *Spirulina platensis*. *Molecules*. 2014, **19**, 2344-2360.

MIŠURCOVÁ, L., BUŇKA, F., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.**, MACHŮ, L., SAMEK, D., KRÁČMAR, S. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. *Food Chemistry*. 2014, **151**, 120-125.

MIŠURCOVÁ, L., ŠKROVÁNKOVÁ, S., SAMEK, D., **AMBROŽOVÁ, J.**, MACHŮ, L. Health Benefits of Algal Polysaccharides in Human Nutrition. In “Henry, J.”, editor: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 66. Burlington: Academic Press, 2012, pp. 75-145. ISBN: 978-12-394597-6.

MIŠURCOVÁ, L., **AMBROŽOVÁ, J.**, SAMEK, D. Seaweed Lipids as Nutraceuticals. In: “KIM, S. K.”, editor: *Advances in Food and Nutrition*

Research, Vol. 64. Burlington: Academic Press, 2011, pp. 339-355. ISBN: 978-0-12-387669-0.

Články v databázi Scopus

MIŠURCOVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.** Algal Polysaccharides and Health. In “Ramavat, K. G. and Merillon, J. M.“, editor: *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*. Switzerland: Springer International Publishing, 2014, pp. 1-29. ISBN 978-3-319-03751-6.

Konferenční příspěvky

MIŠURCOVÁ, L., MLČEK, J., ORSAVOVÁ, J., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.** The Energy Contribution of Vegetable Oils to Dietary Intake of Fatty Acids. 4th International Conference „Science for Education – Education for Science, Nitra, 2015.

MIŠURCOVÁ, L., MLČEK, J., MACHŮ, L., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.**, FOJTÍKOVÁ, H. Přídavek inulinu jako rozpustné vlákniny do dětské ovocné výživy. XI. Vedecká konferencia Hygiena a bezpečnosť potravín, Smolenice, 2014.

MACHŮ, L., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.**, MIŠURCOVÁ, L., SAMEK, D., FIŠERA, M. Macroelements in autotrophically cultivated *Chlorella* sp. and in Chlorella food supplement, and their contribution to DRIs. 54. pracovní konference České algologické společnosti, Třeboň, 2013.

MIŠURCOVÁ, L., MACHŮ, L., **VÁVRA AMBROŽOVÁ, J.**, SAMEK, D., FIŠERA, M. Algal polysaccharides and their function as dietary fiber. *Potravinárstvo*. 2013, 7, 195-199.

SAMEK, D., MIŠURCOVÁ, L., MACHŮ, L., VÁVRA AMBROŽOVÁ, J., FIŠERA, M. Enzymatic and mechanical disruption method of algal cellulosic cell walls as a factor influencing their in vitro digestibility. *Potravinářstvo*. 2013, 7, 214-217.

Absolvované stáže a konference

54. pracovní konference České algologické společnosti (září 2013).

Účast na algologické konferenci Chantransia 2012, Zelená Lhota u Nýrska (říjen 2012).

Odborná stáž na Lékařské fakultě Univerzity Palackého v Olomouci za účelem měření antioxidační aktivity řas (září 2012).

CURRICULUM VITAE

OSOBNÍ ÚDAJE

Jméno a příjmení: Jarmila Vávra Ambrožová

Datum narození: 01. 05. 1985

Adresa: Dobrotice 155, 769 01 Holešov

Telefon: 737 120 816

E-mail: ambrozova@ft.utb.cz

VZDĚLÁNÍ

2000 – 2004 **Gymnázium Ladislava Jaroše, Holešov**

2004 – 2007 **Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta**

bakalářské studium; obor Chemie pro víceoborové studium,
Biologie

2007 – 2009 **Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta**

magisterské studium; obor Učitelství chemie pro SŠ –
Učitelství biologie pro SŠ

2009 – 2011 **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta**

magisterské studium; obor Technologie, hygiena
a ekonomika výroby potravin

2011 – dosud **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta**

doktorské studium; obor Technologie potravin

ŘEŠENÉ PROJEKTY

2010 **IGA/14/FT/10/D**

Stravitelnost vybraných potravin rostlinného původu
(člen řešitelského týmu)

- 2012 **IGA/38/FT/12/D**
Optimalizace metodiky na stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas
(člen řešitelského týmu)
CZ.1.07/2.2.00/15.0452
Další rozvoj e-learningové výuky studijního programu Chemie a technologie potravin a rozšíření stávajících distančních textů o audiovizuální sekci
(externí posuzovatel audiovizuálních materiálů)
- 2013 **IGA/FT/2013/017**
Stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas
(hlavní řešitel)
- 2014 **IGA/FT/2014/011**
Stanovení vybraných biologicky aktivních látek mořských a sladkovodních řas
(hlavní řešitel)
- 2015 **IGA/FT/2015/010**
Stanovení vybraných biologicky aktivních látek produktů rostlinného původu
(člen řešitelského týmu)
CZ.07/2.3.00/45.0015
Centrum pro podporu přírodovědných a technických věd:
Technická a přírodovědná laboratoř pro děti a mládež Zlínského kraje
(asistent realizátora)

ZNALOSTI A DOVEDNOSTI

Jazyky anglický jazyk – aktivní znalost na úrovni *upper intermediate*

německý jazyk – základní znalost

francouzský jazyk – základní znalost

Práce s PC

Windows, MAC OS X; Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint, Publisher) – pokročilý uživatel