

Vliv dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost

Bc. Ludmila Machů

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ludmila MACHŮ**
Osobní číslo: **T08809**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizace a rozdělení řas.
2. Popis trávicí soustavy a trávení jednotlivých živin.
3. Metody dezintegrace buněčných stěn řas.
4. Metody stanovení stravitelnosti.

II. Praktická část

1. Metodika stanovení stravitelnosti.
2. Dezintegrace buněčných stěn sladkovodních řas pomocí pulzního mlýna.
3. Stanovení stravitelnosti ve vzorcích sladkovodních řas.
4. Srovnání hodnot stravitelnosti v původních a dezintegrovaných vzorcích.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] KALINA T., VÁŇA J. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii, 1.vyd. Universita Karlova v Praze, Nakladatelství Karoli-num, 2005, ISBN 80-246-1036-1.

[2] VODRÁŽKA, Z. Biochemie 2. Praha : Academia, 1992. 136 s. ISBN 80-200-0441-6.

[3] SILBERNAGL, S., Despopoulos, A. Atlas fyziologie člověka. Praha : Avicenum, 1984. 328 s. ISBN 08-026-84.

[4] BARSANTI, L., GUALTIERI, P. Algae : Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. Boca Raton : Taylor & Francis Group, 2006. 301 s. ISBN 978-0-8493-1467-4.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010

Termín odevzdání diplomové práce:

15. ledna 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



Ignác Hoza
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: LUDMILA MACHŮ.....

Obor: THEVP.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 17.5.2010.....

Machů Ludmila.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výtěžku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Sladkovodní řasy mají cenné nutriční složení a vykazují zdraví prospěšné vlastnosti. Již v minulosti byly používány jako potravina. Dnes mají širší využití, ale konzumují se stále. Stravitelnost některých druhů sladkovodních řas je omezena složením buněčné stěny. Diplomová práce je zaměřena na zkoumání vlivu dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost.

Klíčová slova: sladkovodní řasy, dezintegrace, stravitelnost

ABSTRACT

Freshwater algae have valuable nutritional composition and healthy features. They were used like a food since long time ago. Today, they have wider usage but they are consumed as well. The digestibility of some species of freshwater algae is limited by their cell wall composition. This master thesis is focused on researching effect of disintegration of cell wall of selected species of freshwater algae on their digestibility.

Keywords: freshwater algae, disintegration, digestibility

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Magdě Sergejevové, PhD. a doc. RNDr. Jiřímu Masojídkovi, CSc. z Ústavu fyzikální biologie JČU ČB v Nových Hradech a z MÚ AV ČR v Třeboni za poskytnutí vzorků sladkovodních řas a sinic. Mé velké poděkování patří Ing. Ladislavě Mišurcové, PhD. za její obětavost, trpělivost a nezdolný optimismus. Za podporu a pomoc také děkuji své rodině.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 SLADKOVODNÍ ŘASY	12
1.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA ŘAS.....	12
1.2 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SLADKOVODNÍCH ŘAS	13
1.2.1 Výživa	13
1.2.2 Velikost	14
1.2.3 Barva.....	14
1.2.4 Tvar.....	14
1.2.5 Rozmnožování.....	15
1.2.6 Výskyt	16
1.2.7 Význam a využití	16
1.3 ODDĚLENÍ: SINICE (CYANOPHYTA).....	18
1.3.1 Základní charakteristika sinic.....	18
1.3.2 <i>Spirulina platensis</i>	21
1.4 ODDĚLENÍ: ZELENÉ ŘASY (CHLOROPHYTA).....	25
1.4.1 Základní charakteristika zelených řas.....	25
1.4.2 <i>Chlorella kessleri</i>	27
1.4.3 <i>Scenedesmus quadricauda</i>	30
2 TRÁVENÍ.....	32
2.1 ČLENĚNÍ TRÁVICÍ SOUSTAVY	32
2.2 ENZYMATICKÉ ŠTĚPENÍ POTRAVY	33
2.2.1 Dutina ústní	35
2.2.2 Žaludek.....	35
2.2.3 Dvanáctník.....	36
2.2.4 Játra.....	36
2.2.5 Slinivka břišní	36
2.3 ŠTĚPENÍ SUBSTRÁTŮ.....	37
2.3.1 Sacharidy.....	37
2.3.2 Lipidy	37
2.3.3 Proteiny	37
2.4 TRÁVICÍ ENZYMY	38
2.4.1 Žaludeční endopeptidázy.....	38
2.4.2 Proteázy pankreatické šťávy.....	39
2.4.3 Enzymy střevní šťávy.....	39
3 DEZINTEGRACE BUNĚČNÉ STĚNY	40
3.1 BUNĚČNÁ STĚNA ŘAS	40
3.1.1 Buněčná stěna sinic	40
3.1.2 Buněčná stěna eukaryotických řas	40

3.2	ZPŮSOBY DEZINTEGRACE	41
3.2.1	Mechanické metody dezintegrace	41
3.2.2	Chemické metody dezintegrace	42
3.2.3	Fyzikální metody dezintegrace.....	42
3.2.4	Biotechnologické metody dezintegrace.....	42
3.3	DEZINTEGRACE S POUŽITÍM OSCILAČNÍHO KULOVÉHO MLÝNA MM 301	43
4	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI.....	44
4.1	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI S POUŽITÍM INKUBÁTORU DAISY	44
4.1.1	Daisy ^{II} inkubátor	45
4.2	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI DUSÍKATÝCH LÁTEK.....	46
4.2.1	Automatická destilační jednotka Pro Nitro	47
4.3	STANOVENÍ SUŠINY	48
4.4	STANOVENÍ POPELA.....	50
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	51
5	CÍL PRÁCE.....	52
6	METODIKA PRÁCE.....	53
6.1	POUŽITÝ MATERIÁL.....	53
6.2	POUŽITÉ POMŮCKY, PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE.....	53
6.2.1	Seznam použitých laboratorních pomůcek	53
6.2.2	Seznam použitých přístrojů	54
6.2.3	Seznam použitých chemikálií.....	54
6.2.4	Seznam použitých enzymů a dalších látek.....	55
6.3	DEZINTEGRACE	55
6.3.1	Pracovní postup	55
6.4	STANOVENÍ SUŠINY	55
6.4.1	Pracovní postup	56
6.5	STANOVENÍ POPELA.....	56
6.5.1	Pracovní postup	57
6.6	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI POMOCÍ INKUBÁTORU DAISY	57
6.6.1	Pracovní postup při hydrolyze pepsinem.....	59
6.6.2	Pracovní postup při hydrolyze pankreatinem.....	60
6.6.3	Pracovní postup při kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....	61
6.7	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI DUSÍKATÝCH LÁTEK.....	61
6.7.1	Pracovní postup	62
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	64
7.1	SUŠINA	64
7.2	POPEL	65
7.3	STRAVITELNOST.....	66
7.3.1	Hydrolyza pepsinem.....	66
7.3.1.1	Nedezintegrované vzorky.....	66

7.3.1.2	Dezintegrované vzorky	67
7.3.1.3	Srovnání nedezintegrovaných a dezintegrovaných vzorků.....	69
7.3.2	Hydrolyza pankreatinem.....	71
7.3.2.1	Nedezintegrované vzorky.....	71
7.3.2.2	Dezintegrované vzorky	73
7.3.2.3	Srovnání nedezintegrovaných a dezintegrovaných vzorků.....	74
7.3.3	Kombinovaná hydrolyza pepsinem a pankreatinem	77
7.3.3.1	Nedezintegrované vzorky.....	77
7.3.3.2	Dezintegrované vzorky	78
7.3.3.3	Srovnání nedezintegrovaných a dezintegrovaných vzorků.....	79
7.3.4	Vliv různé enzymatické hydrolyzy na hodnoty stravitelnosti u nedezintegrovaných a dezintegrovaných vzorků	82
7.3.4.1	Nedezintegrované vzorky.....	82
7.3.4.2	Dezintegrované vzorky	84
7.4	STRAVITELNOST DUSÍKATÝCH LÁTEK	87
7.4.1	Hydrolyza pepsinem.....	87
7.4.2	Hydrolyza pankreatinem.....	88
7.4.3	Kombinovaná hydrolyza pepsinem a pankreatinem	89
7.4.4	Srovnání vlivu různé enzymatické hydrolyzy na koeficienty stravitelnosti	91
ZÁVĚR		93
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		95
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		104
SEZNAM OBRÁZKŮ.....		106
SEZNAM TABULEK		108

ÚVOD

Sladkovodní řasy byly využívány již v dávných dobách k přípravě potravy. I v současné době se sladkovodní řasy používají jako potrava a krmivo a to hlavně díky svému nutričnímu složení. Sladkovodní řasy jsou bohatým zdrojem bílkovin s vhodným složením aminokyselin včetně esenciálních, obsahují velké množství chlorofylu, esenciální mastné kyseliny, minerální látky, vitaminy, především vitamin B₁₂, karotenoidy a antioxidační látky.

Sladkovodní řasy však skýtají daleko širší škálu využití. Používají se k produkci pigmentů, nutričně významných látek nebo jako zdroj železa. Využívají se v kosmetickém průmyslu, k výrobě léčiv a doplňků stravy nebo jako hnojivo. Jsou využívány také jako testovací organismy v genetice, toxikologii a alergologii nebo také jako indikátory kvality prostředí a čistoty vod.

Ve světě jsou sladkovodní řasy hojně vyhledávány a konzumovány, neboť díky svému chemickému a nutričnímu složení vykazují mnohé léčivé a zdraví prospěšné vlastnosti. Pomáhají snižovat hladinu cholesterolu, pomáhají snižovat krevní tlak a důsledky radiace, pomáhají při hojení ran a vředů, při léčbě cukrovky, anémie, malnutrice, zabraňují rozvoji aterosklerózy a ischemické choroby srdeční. Pomáhají zlepšovat střevní mikroflóru, podporují detoxikaci organismu a tělní imunitu. V neposlední řadě vykazují též antimikrobiální a antioxidační aktivitu a mohou předcházet nebo bránit rakovině u lidí i zvířat.

Ne vždy ale dochází ke strávení všech cenných látek, protože buněčná stěna některých druhů sladkovodních řas je tvořena látkami, které jsou obtížně hydrolizovatelné trávicími enzymy a znemožňují tak plnohodnotné využití buněčného obsahu. K tomu, aby míra stravitelnosti sladkovodních řas byla co nejvyšší, je nutno buněčné stěny některých druhů podrobit dezintegraci.

Z důvodu stále častějšího využití sladkovodních řas především ke konzumaci, byla diplomová práce zaměřena na zkoumání vlivu dezintegrace buněčné stěny vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost. V teoretické části je zahrnuta obecná charakteristika sladkovodních řas se zaměřením na druhy, které byly použity při realizaci praktické části, dále je zde stručně zmíněn proces trávení a trávicí enzymy, způsoby dezintegrace buněčné stěny se zaměřením na dezintegraci s použitím kulového oscilačního mlýna, a způsoby stanovení stravitelnosti se zaměřením na stanovení stravitelnosti metodou *in vitro* s pomocí inkubátoru Daisy a na stanovení stravitelnosti dusíkatých látek. V praktické části je řešena

problematika vlivu dezintegrace, jež byla provedena kulovým oscilačním mlýnem, vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost, která byla zjišťována metodou *in vitro* s pomocí inkubátoru Daisy.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SLADKOVODNÍ ŘASY

1.1 Obecná charakteristika řas

Řasy (latinsky *Algae*, řecky *Phykos*) jsou systematicky řazeny do čtyř říší. Studium řas se zabývá věda algologie nebo též fykologie [1]. Na světě může existovat více než 25000 druhů řas žijících všude. Jejich velikost se pohybuje od jednotlivých buněk až k obřím řasám více než 150 metrů dlouhým [2], [3].

Tabulka 1: Systematické zařazení sladkovodních řas [1]

Doména	Říše	Oddělení
Prokaryota	Bakterie (Bacteria)	Sinice (Cyanobacteria)
Eukaryota	Prvoci (Protozoa)	Eugleny (Euglenophyta)
		Obrněnky (Dinophyta)
		Chlorarachniophyta
	Chromista	Skrytěnky (Cryptophyta)
		Heterokontophyta
	Rostliny (Plantae)	Glaucophyta
		Ruduchy (Rhodophyta)
		Zelené řasy (Chlorophyta)
		Parožnatky (Charophyta)

Řasy, které dosahují větších rozměrů, jsou nazývány makrořasy. Jedná se většinou o mořské řasy. Asi 70 druhů se používá jako potraviny, potravinářské přísady, krmiva, hnojiva a biokemikálie [2].

Za mikrořasy se obvykle označují organizmy, které mají průměr menší než 2 milimetry. Dnes jsou mikrořasy pěstovány přímo jako potraviny nebo pro získání produktů, které jsou vytvářeny buňkami řas. Počátky jejich pěstování se datují až k Aztékům. Stejně jako makrořasy mají mikrořasy vysoký obsah bílkovin, sacharidů, aminokyselin, stopových prvků a

vitaminů [4]. Některé mikrořasy hrají důležitou úlohu při rozkladu kalů, zlepšují strukturu půdy a její úrodnost. Jiné jsou pěstovány pro výrobu krmiv, potravin, biochemikálií a léčiv. Mikrořasy, tzv. fytoplankton, jsou základem potravinového řetězce všech vyšších organismů. Řadíme zde modrozelené mikrořasy jako jsou *Spirulina* a *Aphanizomenon*, zelené řasy jako například *Chlorella* a *Scenedesmus*, červené řasy jako *Dunaliella*, a také hnědé, fialové, růžové, žluté a černé mikrořasy. Rostou všude - ve vodě, v půdě, na skalách, na rostlinách [2].

Většina řas žije ze slunečního světla pomocí fotosyntézy, ale některé druhy se živí organickou hmotou, stejně jako bakterie. Z toho vyplývá, že řasy jsou převážně fotoautotrofní organismy [1], [2].

V chloroplastech jsou přítomny fotosyntetické pigmenty, jejímž hlavním zástupcem je chlorofyl. Chlorofyl je zelený pigment, jež se vyskytuje v tylakoidech a vyskytuje se zde ve čtyřech formách: chlorofyl *a*, *b*, *c*, a *d*. Hlavním fotosyntetickým pigmentem u všech skupin řas je chlorofyl *a*. Dalšími významnými fotosyntetickými pigmenty jsou karotenoidy – čerVENOORANŽOVÉ nebo žluté pigmenty. Karotenoidy se dělí na dvě skupiny: karoteny a xantofyly. U všech skupin řas se vyskytuje beta-karoten. Karoteny plní mimo jiné také ochrannou funkci proti škodlivému UV záření a eliminují volné radikály. Xantofyly jsou tvořeny skupinou asi 30 látek, které je možno nalézt v plastidech řas, např. lutein, zeaxantin, violaxantin, anteraxantin, neoxantin. Některé xantofyly jsou charakteristické vždy jen pro určitou skupinu řas, například fukoxantin určuje žlutohnědou barvu hnědých řas [1].

1.2 Obecná charakteristika sladkovodních řas

1.2.1 Výživa

Sinice a řasy jsou fotoautotrofní - to znamená, že mají fotosyntetická barviva, která jim pomáhají vytvářet organickou hmotu a kyslík z anorganických látek za účasti světla. Jsou to primární producenti a to především vodních a mokřadních ekosystémů. Některé druhy řas se živí smíšeně (mixotrofně) – to znamená, že dokáží využívat kromě anorganických látek také organické zdroje. Některé druhy se také mohou žít heterotrofně [5].

1.2.2 Velikost

Většina sinic a řas dosahuje mikroskopických rozměrů, pouhým okem je lze vidět pouze ve velkém seskupení (např. zelené skvrny na skalách, kůrách stromů, hnědé kluzké kameny v potoce, chumáče vláknitých řas). Některé řasy tvoří kolonie, které mohou dosahovat velikosti až několik milimetrů. Chalupy vyskytující se v mořích mohou dosahovat velikosti až několik metrů [5].

1.2.3 Barva

Řasy se mimo velikosti odlišují také svým zbarvením. Samotný název jednotlivých skupin řas je odvozen od zbarvení jejich buněk nebo stélek – sinice (modrozelené), ruduchy (červené), hnědé a zelené řasy. Zbarvení určuje složení fotosyntetických barviv. Chlorofyl *a* je obsažen ve všech druzích řas, ostatní barviva (chlorofyl *b*, *c*, *d*, fykobiliny, karotenoidy, xantofyly, atd.) jsou součástí jen některých oddělení nebo tříd. Mezi barviva bílkovinné povahy se řadí modrý fykocyanin a červený fykoerytrin, které způsobují modrozelenou barvu sinic a červenou barvu ruduch. Sinice dokonce dokážou měnit poměr mezi oběma barvivy v závislosti na dopadajícím světle. Hlavním barvivem hnědých řas je fukoxantin, který způsobuje zlatavě hnědé zbarvení. Hnědé řasy, které neobsahují fukoxantin jsou zbarveny zeleně. Zelené řasy jsou charakteristické přítomností chlorofylu *b*, který lze taktéž nalézt u vyšších rostlin. Díky tomu se také usuzuje, že suchozemské rostliny vznikly ze zelených řas [5].

1.2.4 Tvar

U řas rozeznáváme tyto organizační stupně stélky:

- *Bičíkovec (stélka monadoidní)* – jednobuněčná stélka s kapkovitým tvarem, zúženým předním koncem s bičíky a zaobleným zadním koncem. Charakteristickými znaky jsou světločivná skvrna a pulzující vakuoly.
- *Rhizopodová stélka* – jednobuněčná stélka, která má proměnlivý tvar a schopnost vytvářet panožky.
- *Kapsální stélka* – jednobuněčná stélka umístěná ve slizu, která obsahuje pulzující vakuoly, stigma a nepohyblivé útvary podobné bičíkům.

- *Kokální stélka* – jednotlivé buňky, které se mohou sdružovat do kolonií nebo cenností.
- *Trichální stélka* – jednotlivé buňky spojené do nevětvených nebo jednoduše větvených vláken.
- *Heterotrichální stélka* – obdoba trichální stélky, kdy je stélka rozlišena na silnější osní vlákno a tenčí postranní větve.
- *Pletivná stélka* – vychází z heterotrichální stélky, připomíná primitivní pletiva.
- *Sifonokladální stélka* – vláknitá nebo vakovitá stélka tvořená mnohojadernými buňkami.
- *Sifonální stélka* – trubicová stélka skládající se z části přichycené k podkladu a z rozvětvené vrcholové části [5].

1.2.5 Rozmnožování

Řasy se rozmnožují jak pohlavně tak nepohlavně [5].

Nepohlavní rozmnožování se děje prostřednictvím:

- *prostého dělení* – nejjednodušší dělení na dvě buňky dceřiné,
- *vícenásobného dělení* – několik dělení za sebou, přičemž vzniklé buňky mezi jednotlivými děleními nedorůstají do původní velikosti buňky mateřské,
- *rozpadu (fragmentace) kolonií* [5].

Při dělení vznikají různé typy spor:

zoospory – bičíkocům podobné pohyblivé spory,

autospory – nepohyblivé zmenšené kopie mateřské buňky,

akinety, artrospory, cysty – trvalé buňky se schopností přečkat nepříznivé období [5].

Pohlavní rozmnožování vyskytující se u sladkovodních řas:

- *Hologamie* – vegetativní buňky splývají v zygotu.
- *Izogamie* – splývání tvarově a velikostně stejných gamet.
- *Anizogamie* – splývání různě velkých gamet.

- *Oogamie* – splývání velké nepohyblivé vaječné buňky a menší pohyblivé spermatické buňky [5].

U většiny řas dochází ke střídání pohlavního a nepohlavního rozmnožování. Výjimku tvoří například sinice, které se pohlavně nerozmnožují [5].

1.2.6 Výskyt

Sinice a řasy se vyskytují zejména ve vodním prostředí. V ČR bylo od počátku 20. století nalezeno přibližně 6000 druhů řas z celkového celosvětového počtu asi 35000 druhů sinic a řas [5].

Formy výskytu sinic a řas:

- *bentos* – přisedle na kamenech nebo jiných ponořených předmětech v tekoucích vodách,
- *epifyti* – přisedle na jiných řasách nebo vodních rostlinách v tekoucích vodách,
- *plankton (potamoplankton)* – volně ve vznosu ve vodním sloupci ve stojatých a pomalu tekoucích vodách,
- *kryoseston* – na sněhu a ledu,
- *fytoedafon* – v půdě,
- *aerofytické řasy* – na kůře stromů,

Sinice a řasy se mohou dále vyskytovat například v termálních pramenech s vodou do 60-70 °C, v jeskyních s minimálním osvětlením, v podzemních vodách, v akváriích, v domácích bazénech, na střešních krytinách [5].

1.2.7 Význam a využití

Význam řas spočívá v primární produkci organické hmoty. Řasy tedy hrají významnou roli v biochemickém koloběhu látek na Zemi. Sinice a řasy ale také produkují látky, které negativně ovlivňují kvalitu přírodního a životního prostředí, mnoho z nich je současně nebezpečných i pro člověka. Zvýšená produkce řas se projevuje například jako vodní květy sinic nebo zelené nárosty na stavbách, památkách ap. [1].

Sladkovodní řasy mají také velké uplatnění v lidské výživě, a to již velmi dlouho. Přestože sladkovodní nebo suchozemské řasy nebyly v minulosti konzumovány tak často jako mořské chaluhy, průzkum historické literatury odhalil nejméně 25 jednotlivých případů, kde bylo nejméně devět druhů volně rostoucích sladkovodních řas sbíráno a konzumováno v 15 zemích. Tyto sladkovodní řasy byly použity v různých polévkách, omáčkách a pomazánkách a mohly být významným zdrojem vitaminů a minerálních látek [2].

Na přelomu 50. a 60. let se stal výzkum možností výroby potravin z řas jako stravy budoucnosti celosvětovou módou. U nás probíhal výzkum především v Algologické laboratoři ČSAV v Třeboni, kde se prováděly pokusy hlavně s jednobuněčnými zelenými řasami *Scenedesmus* a *Chlorella*, a také se *Spirulina maxima*. Kvůli bádání spojenému s hledáním vhodné stravy pro kosmonauty se uvažovalo o možnostech využití řas *Chlorella* pro dlouhodobé kosmické lety [6].

Sinice a řasy jsou využívány převážně přímořskými státy jako potrava a krmivo hlavně díky velkému množství vysoce kvalitních bílkovin, srovnatelných s konvenčními rostlinnými bílkovinami [5], [7]. Používají se také k produkci látek důležitých pro lidskou výživu, vitaminů a esenciálních mastných kyselin (kyseliny linolové, arachidonové, linolenové a eikosapentaenové), a pigmentů [8]. Sladkovodní řasy jsou často využívány k výrobě tablet, které slouží jako doplněk stravy. Sinice a řasy se také využívají jako testovací organizmy v genetice, toxikologii, alergologii. Pomocí sinic a řas lze posuzovat kvalitu prostředí, kontrolovat čistotu povrchových vod [5].

Spirulina a *Chlorella* jsou kultivovány v otevřených vodních nádržích na farmách rozmístěných po celém světě. Tyto řasy jsou dosažitelným a nenákladným zdrojem karotenoidů, pigmentů, proteinů a vitaminů, které mohou být použity k výrobě doplňků stravy, léčiv, přísad do zvířecích krmiv a k výrobě kosmetiky [9], [10].

Nejdůležitější moderně pěstovaná mikrořasa je *Dunaliella salina*. Tento druh je pěstován především jako zdroj beta-karotenu [4].

1.3 Oddělení: Sinice (Cyanophyta)

1.3.1 Základní charakteristika sinic

Sinice (též Cyanobacteria) jsou jednobuněčné nebo vláknité autotrofní prokaryotické organizmy, které se řadí mezi gramnegativní bakterie [11].

Podle fosilních nálezů se sinice objevily před 3 - 2,5 miliardami let, v prekambriu. Za možné předky sinic lze pokládat chlorobakterie a purpurové bakterie [12]. Sinice jsou zároveň patrně předky rostlinných chloroplastů [13]. Český název sinice pochází z výrazu "sinný" = modrý, což je v podstatě překlad z řeckého cyanos = modrý [14].

Sinice byly v minulosti zahrnovány mezi řasy, ale pro podstatné rozdíly v anatomii buňky i v metabolismu jsou v současné době považovány za samostatné oddělení [12].

Taxonomie sinic je velmi složitá. Neexistují jednotné odhady četnosti jejich taxonů, protože chybí důkladnější floristický průzkum tropických oblastí, ale pohybují se v řádu minimálně 200 rodů a několik tisíc druhů [14].

Systematické zařazení sinic dle [15]:

Tabulka 2: Systematické zařazení sinic dle [15]

Řád	Základní charakteristika	Příklad rodu
Chroococcales	jednobuněčné	<i>Microcystis</i>
Oscillatoriales	vláknité, nevětví se, tvoří heterocyty ani akinety	<i>Oscillatoria</i> , <i>Spirulina</i>
Nostocales	vláknité, nevětví se, tvoří heterocyty a akinety	<i>Anabaena</i>
Stigonematales	vláknité, větví se, tvoří heterocyty a akinety jen někdy	<i>Mastigocladus</i>

Buněčná stěna sinic je citlivá k penicilinu a lze ji rozrušit působením lysozymu. Často na povrchu zeslizovatí a následně vytváří rosolovité pochvy [12]. Jinak je buněčná stěna bez struktur, hladká, chybí ostny i výrůstky [11]. Zbarvení buněčné stěny způsobuje karotenoid

zvaný scytonemin (žlutohnědý pigment) nebo barvivo gleokapsin (červený a modrý pigment) [12].

Vnitřní prostor buněk je vyplněn plazmou, v níž lze rozlišit centrální nukleoplazmu s molekulou DNA, a periferní chromatoplazmu s ribozómy a tylakoidy s fykobilizómy. Většina vnitřního prostoru planktonních sinic je vyplněna aerotopy. V buňkách sinic se kromě běžných struktur jako jsou inkluze a zrna zásobních látek a metabolitů vyskytují i další struktury, ale jejich biochemie ani význam nejsou známy [15]. V membránách tylakoidů jsou uloženy fotosyntetické pigmenty chlorofyl *a*, beta-karoten a několik xantofylů (echinenon, myxoxantofyl, zeaxantin). Na povrchu membrány se vyskytují fykobiliproteiny (modrý fykocyanin, červený fykoerytrin a modrý allofykocyanin) sestavené do útvarů nazvaných fykobilizómy [12]. Tyto pigmenty mají funkci tzv. světlosběrné antény, jejíž citlivost umožňuje mimo jiné také fotosyntézu sinic při velmi nízké hladině osvětlení (např. hluboko pod hladinou vody, v půdě, uvnitř kamenů, v jeskyních) [14]. Výsledná barva sinicové buňky je dána poměrem červeného a modrého pigmentu. Barevný odstín je pro jednotlivé druhy charakteristický, ale mění se i vlivem složení světla a výživy [12]. Výsledné zbarvení se pak může pohybovat od červené, přes hnědé, hnědopurpurové, ocelově šedé až po černé [16].

V buňce jsou dále přítomny karboxyzómy, drobná tělíska ve tvaru mnohostěnu, která lze pozorovat v transmisním elektronovém mikroskopu, obsahující enzym RUBISCO (enzym zodpovědný za fixaci CO₂ v Calvinově cyklu). Karboxyzómy jsou podobné pyrenoidům vyskytujícím se u eukaryotických organismů. Pro sinice existují struktury pro ně charakteristické:

Aerotopy - jsou jedinou strukturou v živých buňkách, která je naplněná plynem, jež sinice nadlehčuje a umožňuje jim snadno splývat ve vodním sloupci.

Heterocyty - jsou tlustostěnné buňky vzniklé z vegetativních buněk, v nichž se za účasti nitrogenázy fixuje vzdušný dusík.

Akinety - vznikají z jedné nebo více vegetativních buněk a slouží k přežití nepříznivých podmínek [14].

Hlavním asimilačním produktem sinic je sinicový škrob (α -1,4 glukán), jako další zásobní látky jim slouží cyanofycinová zrnka a volutin [12].

Sinice se živí většinou autotrofně, ale lze u nich vysledovat i současné využívání organických látek, tj. mixotrofní (smíšená) výživa [12]. Některé druhy sinic žijí symbioticky s houbami a vytvářejí lišejníky [11].

Rozmnožování sinic je vegetativní a nepohlavní a uskutečňuje se buď prostým dělením, fragmentací stélky nebo tvorbou nepohlavních výtrusů (artospor, akinet) [12]. Typickou vlastností většiny sinic je tvorba kolonií, kdy se buňky dělí jen v jednom směru a vznikají tak dlouhé vláknité útvary, tzv. trichomy, obalené hlenovitou pochvou [13].

Sinice mohou tvořit několik typů stélek. Nejjednodušší stélky sinic jsou jednobuněčné, vláknité stélky mohou být buď nevětvené, nepravě větvené nebo pravě větvené [14]. Jednobuněčné druhy mají kulovité, oválné, vejčité a paličkovité buňky, zatímco koloniální druhy mají ve slizu nepravidelně či pravidelně uspořádané buňky v řadách kolmých na sebe. Buňky vláknitých druhů jsou nepravidelné, soudečkovité, spirálovité, válcovité a velmi krátké, s náznakem větvení [11].

Některé rody a druhy sinic mají schopnost poutat vzdušný dusík a obohacovat tak nádrže (např. rody *Anabaena* a *Nostoc*). Sinice jsou neobyčejně přizpůsobivé organizmy. Jsou rozšířeny kosmopolitně po celém světě na nejrůznějších stanovištích a v extrémních podmínkách, které jiné řasy nesnáší [12]. Vyskytují se ve slaných vodách moří a oceánů, ve sladkých vodách jezer, rybníků a řek, ve sněhu Antarktidy, v egyptských pouštích, na stěnách mexických pyramid i římských katakomb. Tvoří povlaky na kamenech i na skalách kolem horkých minerálních pramenů [13]. Sinice vykazují širokou ekologickou valenci, co se týče rozmezí teplot. Přežívají jak teploty 45 °C až 70 °C, tak dokonce i -190 °C [11]. Rostou na dně věčně zamrzlých jezer polárních oblastí. Jsou synekionty člověka, žijí v jeho domácnosti, na stěnách i na plastových součástkách vodovodních instalací [13].

Sinice tvoří v teplejších ročních obdobích rozsáhlé porosty vznášející se na vodní hladině, vodní květ. Některé druhy sinic mohou být dokonce toxické, jejich toxiny nejčastěji napadají jáaterní a nervovou tkáň, ale prozatím byla toxicita zaznamenána jen u některých nižších obratlovců [11], [13]. Sinice potřebují k masovému množení ve vodě především tři faktory: světlo, vhodnou teplotu a dostatečnou koncentraci zejména fosforu a dusíku ve vodě. Čím více je těchto prvků ve vodě, tím více se vodní květ rozšíří. Tyto látky se do vody dostávají hlavně s vodami odpadními, zejména průmyslovými a zemědělskými [13].

Sinice se uplatňují, díky své schopnosti vázat plynný dusík, při zúrodnování rýžových polí v Indii, v Kazachstánu pomáhají při kultivaci neúrodných stepních půd, podílejí se na zrání léčivých bahen a stále častěji se využívají v biotechnologii (např. *Spirulina*). Fykobiliny se uplatňují v potravinářství jako barviva a v biomedicinálním výzkumu se mohou uplatnit místo radionuklidů [12]. Sinice jsou používány i v lidské výživě nebo jako doplňky zvířecích krmiv. V Číně je průmysl zabývající se touto sinicí podporován v rámci přírodního strategického programu. Kromě pilulek a kapslí je *Spirulina* obsažena také v pečivu nebo čokoládových kouscích plněných touto sinicí. *Nostoc* je sinice, která byla sklížena v Číně již před dvěma tisíci lety. Často je nazývána „vlasatou zeleninou“, protože její vzhled připomíná vlasy. *Aphanothece sacrum*, *Nostoc verrucosum*, *N. commune* a *Brachytrichia* byly od starověku v Japonsku používány jako příkrmy [17].

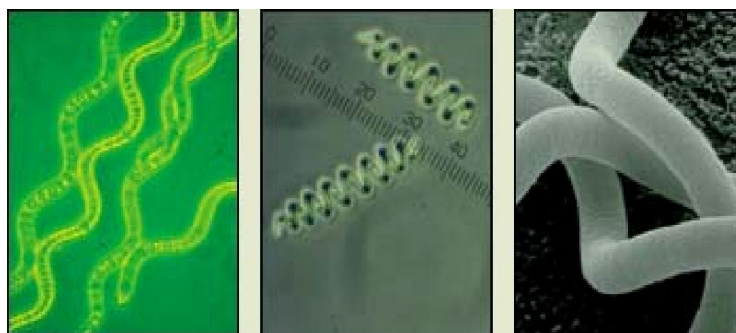
1.3.2 *Spirulina platensis*

Spirulina platensis je sinice, nebo je někdy též nazývána jako modrozelená mikrořasa, vyskytující se v planktonu, která tvoří masivní populace v tropických a subtropických vodách s vysokým množstvím uhličitane a hydrogenuhličitane s hodnotou pH až 11 [18], [19], [20], [21], [22]. *Spirulina platensis* se zdá být široce rozšířeným druhem, vyskytujícím se převážně v Africe, ale také v Asii a Jižní Americe [18]. Mezi hlavní rodové morfologické znaky patří například uspořádání mnohobuněčných trichomů do otevřených levotočivých helixů po celé délce vláken [20], [21].

Již v dávných dobách sbírali lidé žijící v blízkosti jezera Čad v Africe a Aztékové v blízkosti jezera Texcoco v Mexiku tuto sinici a po vysušení ji používali jako potravinu [20], [21], [22], [24], [25], [26]. I když tuto sinici lidé využívají již dlouhá léta, její komerční produkce v uměle vytvořených rybnících začala být propagována teprve nedávno, v roce 1978 v Bangkoku v Thajsku [18]. Nejčastěji se *Spirulina platensis* pěstuje jako venkovní kultura kvůli zisku velkého množství biomasy s nízkými náklady. V současné době je tato mikrořasa komerčně pěstována téměř výhradně v otevřených systémech kde není vyžadována ani zvláštní péče ani kontrola podmínek prostředí. Tato forma pěstování ale neumožňuje dosáhnout vysoké koncentrace biomasy [27]. Podmínky pěstování ovlivňují její chemické složení [20].

Mikrořasy mohou být využívány pro zisk některých chemických látek, které jsou pro řasy specifické nebo se vyskytují v relativně vysoké koncentraci a určují tak jejich vysokou tržní hodnotu. V tomto ohledu je *Spirulina* jednou z nejslibnějších mikrořas. Je obzvláště bohatá,

ve srovnání s jinými zdroji, na polynenasycenou mastnou kyselinu gama-linolenovou a pigmenty jako je fykocyanin, myxoxanthofyl a zeaxanthin. Unikátní chemické složení sinice *Spirulina* nabízí další výhody pro velkoplošné pěstování této sinice [18].



Obrázek 1: *Spirulina* [2]

Mikrořasy mohou být využívány jako zdroje bílkovin, kvůli jejich rychlým růstovým křivkám a vysokému obsahu bílkovin [18], [19], [25], [28]. *Spirulina* je obzvláště bohatá na proteiny, které činí 64-74 % sušiny. Také zbytky po extrakci žádoucích chemických látek z většiny řas jsou bohaté na bílkoviny a mohou být tak využity jako krmivo pro zvířata. Bílkoviny, které mají nejvyšší ekonomický potenciál, jsou biliproteiny. *Spirulina* obsahuje dva druhy biliproteinů: fykocyanin a allofykocyanin [18], [24], [25], [28]. Bílkovinná frakce může obsahovat až 20 % fykocyaninu, ve vodě rozpustného modrého pigmentu. Fykocyanin se již vyrábí komerčně a byl představen v Japonsku jako přírodní barvivo přidávané do krmiv a kosmetiky. Fykocyanin je hlavně využíván jako potravinářské barvivo a nahrazuje tak v současné době používaná syntetická barviva, z nichž některá mohou být karcinogenní. V malé míře se využívá také v imunologii, mikroskopii a cytometrii díky fluorescenčním vlastnostem pigmentu. Fykocyanin se dále využívá k výrobě léků a v kosmetickém průmyslu. [18].

Aminokyselinové složení řasy *Spirulina* zahrnuje 16 aminokyselin, z nichž osm je esenciálních, včetně leucinu (10,9 % z celkového obsahu aminokyselin), valinu (7,5 %) a isoleucinu (6,8 %). Hlavními aminokyselinami jsou kyselina glutamová (17,4 %) a kyselina asparagová (12,2 %) [18].

Sacharidy, hlavně rozvětvené polymery glukózy, se v sušině této sinice vyskytují v množství 15-20 %. Bylo zjištěno, že nejčastěji se vyskytujícím cukrem byla glukóza, jejíž obsah dosáhl 7,8 %, zatímco obsah rhamnózy nepřekročil 0,9 %. V mikrořase *Spirulina platensis* dosáhl obsah kyseliny polyhydroxymáselné až 6 % sušiny. Polysacharidy se skládají ze šesti

neutrálních cukrů, mezi ty nejdůležitější patří galaktóza, glukóza a xylóza, v menším množství jsou pak zastoupeny fruktóza, rhamnóza a manóza [18]. Polysacharidy zvyšují aktivitu enzymů buněčného jádra a opravnou syntézu DNA [24]. Lipopolysacharidy v sušině této mikrořasy tvoří 1,5 % [18]. Lipopolysacharidy buněčné stěny způsobují nespecifickou imunitní odezvu teplokrevných obratlovců, jejímž důsledkem je zvýšení propustnosti kapilár pro bílkovinné alergeny [1].

Sinice obecně obsahují pouze malé množství lipidů. *Spirulina* obsahuje pouze 6-13 % lipidů, z nichž polovina jsou mastné kyseliny. Obsahuje polynenasycenou mastnou kyselinu gama-linolenovou (30-35 % z množství celkových lipidů), která vykazuje zdraví prospěšné vlastnosti [18], [22]. Kyselina gama-linolenová snižuje LDL u pacientů trpících vysokou hladinou cholesterolu. Kromě toho bývá využívána k léčbě atopického ekzému a ke zmírnění příznaků premenstruačního syndromu. Předpokládá se také, že bude mít pozitivní vliv na srdeční choroby, Parkinsonovu chorobu a roztroušenou sklerózu. *Spirulina*, stejně jako ostatní sinice, obsahuje sulfolipidy. V poslední době byla prokázána účinnost sulfolipidů sinic proti viru HIV a jejich možný klinický význam při léčbě AIDS [18].

Pigmentové složení sinice *Spirulina* je pro sinice typické. Z chlorofylů je zde přítomen pouze chlorofyl *a*, jehož množství se pohybuje od 0,8 do 1,5 % sušiny [18], [25]. Hlavními karotenoidy jsou xantofyl, myxoxanthofyl, beta-karoten a zeaxantin [18], [22].

Bylo zjištěno, že *Spirulina* obsahuje relativně vysoký obsah kyanokobalaminu (vitaminu B₁₂), až 11 mg/kg sušiny [18]. Dále obsahuje vitamin B₁, B₂, B₅, B₆, B₉, vitamin C, vitamin D a vitamin E [22].

Spirulina je bohatým zdrojem draslíku, dále také obsahuje vápník, chrom, měď, železo, hořčík, mangan, fosfor, selen, sodík a zinek [22].

Spirulina obsahuje velké množství nukleových kyselin, jejichž metabolickou přeměnou v lidském těle vzniká kyselina močová. Ta se může ukládat v kloubech a způsobovat dnu. Zároveň je zdrojem alergizující látky feoforbittinu [1].

Buněčná stěna sinice *Spirulina* neobsahuje celulózu, je složena z mukopolysacharidů. Proto je také snadno stravitelná, a to z 85 až 95 % [2].

Více než 70 % současného trhu s touto mikrořasou je zaměřeno na lidskou spotřebu [18]. Může být použita buď jako doplněk stravy pro člověka a zvířata nebo jako zdroj účinných

složek ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu [27]. *Spirulina* hraje klíčovou roli v potravinovém řetězci vodních systémů jako zdroj potravy pro různé živočichy jako například pro larvy mnoha druhů zooplanktonu, měkkýše, korýše, ryby [21]. Biomasa této sinice se používá na odstraňování nežádoucích látek, jako je nadměrné množství hnojiv, těžkých kovů, textilních barviv a pesticidů z odpadních vod [22], [21]. Proto se tato mikrořasa úspěšně používá jako součást integrovaných systémů pro čištění odpadních vod nebo také jako adsorpční materiál pro vychytávání těžkých kovů [22], [27].



Obrázek 2: *Spirulina* – doplněk stravy [2]

V poslední době je tato sinice zevrubně studována nejen pro své výživové vlastnosti, ale i pro své zdravé prospěšné vlastnosti. *Spirulina* nebo její extrakty mohou předcházet nebo bránit rakovině u lidí a zvířat, podporuje tělní imunitní systém, vykazuje antimikrobiální aktivitu, potlačuje replikaci některých virů jako například *Herpes simplex* a HIV-1 [2], [19], [22], [24], [28]. Její extrakt je silným akceptorem volných radikálů (hydroxylové a peroxylové radikály) a inhibuje mikrosomální lipidové peroxidace [24]. *Spirulina* také obsahuje celé spektrum přírodní směsi karotenových a xantofylových fytopigmentů, které se spolu s fykocyaninem mohou podílet na její antioxidační aktivitě [19], [20], [28]. Bylo prokázáno, že může zabránit rozvoji aterosklerózy a ischemické chorobě srdeční, protože snižuje hladinu cholesterolu a triglyceridů v krevní plazmě [20], [21], [28]. Je také účinná proti cukrovce a vysokému tlaku, zvyšuje množství laktobacilů v trávicím traktu, je zdrojem železa a potlačuje anemii a malnutrici, částečně redukuje tělesnou váhu, stimuluje tvorbu prostaglandinů v těle a snižuje důsledky radiace [2].

1.4 Oddělení: Zelené řasy (Chlorophyta)

1.4.1 Základní charakteristika zelených řas

Zelené řasy je označení, které se týká početné skupiny (přibližně 8000 druhů) autotrofních organismů, dosahujících jak mikroskopických tak okem viditelných rozměrů, které se řadí do říše Rostliny (Plantae) [5], [29], [30], [31]. Dostupné důkazy naznačují, že zástupci Chlorophyta byli předchůdci rostlin. Jejich zkameněliny se datují do doby před jednou miliardou let, ještě před rozvojem rostlin [31]. Název Chlorophyta je utvořen ze dvou řeckých slov, které znamenají „zelená“ (chloros) a „rostlina“ (phyto), a které odkazují na typické zbarvení zástupců tohoto kmene [32].

Název zelené řasy ale není příliš přesný, protože mnohé zelené řasy mají úplně jinou barvu [33]. Většina zástupců má ale zelené zbarvení, které je způsobeno přítomností asimilačních pigmentů chlorofylu *a*, chlorofylu *b*, alfa-karotenu, beta-karotenu a xantofylů (luteinu, neoxantinu, violaxantinu, zeaxantinu, a u *Ulvophyceae* sifoneinu a sifonoxantinu), přičemž poměr chlorofylů *a* i *b* a alfa- a beta-karotenů je stejný jako u vyšších rostlin [33], [34].

V chloroplastu je přítomen pyrenoid, bílkovinné tělíčko pokryté škrobovými zrny, který obsahuje RUBISCO (enzym 1,5-ribulózobifosfát karboxyláza), vázající oxid uhličitý v temnostní fázi fotosyntézy [33], [34].

Zásobní látkou je převážně škrob, který se shromažďuje v chloroplastech nebo na pyrenoidu, nebo se jako doplňkové zásobní látky vyskytují mono- a disacharidy a jejich deriváty (alkoholy aj.) a polyfosfátová zrna (volutin). V některých případech se vyskytují další specifické zásobní látky, např. u *Ulvophyceae* mannan a xylan [33].

Buněčná stěna je tvořena polysacharidy (sporopolenin), hemicelulózou, pektinem, slizem či glykoproteinovou chlamys u *Chlamydoephyceae* [34].

Ty druhy, které jsou pohyblivé, mají dva nebo čtyři (vzácně mají i lichý počet bičíků) apikální nebo subapikální bičíky [33], [35].

U bičíkatých druhů je přítomno stigma [34].

Příslušníci Chlorophyta mají všechny druhy stélek [33]. Zelené řasy mohou být jednobuněčné, mnohobuněčné, mohou tvořit kolonie nebo cenobia [30].

Zelené řasy se běžně vyskytují v oblastech, kde je dostatek světla, jako jsou mělké vody. V oceánech se vyskytují mnohem méně často než hnědé nebo červené řasy [37]. Většina zelených řas žije ve vodě a běžně se vyskytuje jak ve sladké vodě (hlavně Charophytes) tak v mořské vodě (hlavně Chlorophytes), ale také na souši, rostou v půdě, na stromech, kamelech nebo dokonce v závějích. Některé druhy žijí symbioticky s houbami a tvoří lišejníky. Jiné druhy žijí symbioticky se zvířaty. Mnohé druhy jsou vysoce specializované, některé žijí výhradně na želvách, lenochodech nebo na mořských měkkýších [30], [35].

Celé oddělení je natolik rozmanité, že skoro každá skupina má výrazná specifika co se týče rozmnožování [33]. Nepohlavní rozmnožování může probíhat formou dělení, fragmentace nebo pomocí zoospor (pohyblivé spory). Pohlavní rozmnožování se vyskytuje častěji než nepohlavní rozmnožování, a může být izogamní, anizogamní nebo oogamní [30].

Při rozdělení zelených řas do taxonomických tříd se bere v úvahu postavení bičíků, průběh mitózy a charakter buněčné stěny [34].

Na základě sekvence DNA, morfologie stélek, povrchu buněk, způsobu rozmnožování a na základě postavení bází bičíků jsou zelené řasy rozděleny do následujících tříd [33].

- *Prasinophyceae*
- *Chlamydomonadales*
- *Chlorophyceae*
- *Trebouxiophyceae*
- *Ulvophyceae*
- *Zygnematophyceae*
- *Charophyceae*

Mezi nejznámější zástupce patří *Chlamydomonas reinhardtii*, žijící ve stojatých a pomalu tekoucích sladkých vodách, který je hojně využíván jako modelový organismus pro studie různého typu [29]. *Chlorella vulgaris* se vyskytuje nejen ve sladkých vodách ale i v půdě a představuje biotechnologicky významnou řasu, která se pěstuje a prodává jako doplněk stravy a je také významným modelovým organismem (např. pro studium fotosyntézy) [29], [36]. Rod *Chlorella* zahrnuje asi 100 druhů [30]. *Volvox* představuje sférické organizované společenství obsahující více než 60000 buněk [31]. *Spirogyra* je tvořena jednotlivými buň-

kami spojenými ve vlákno a vyznačuje se unikátním způsobem pohlavního rozmnožování – spájením (konjugací) [29]. Mezi další známé zástupce patří *Chlorella kessleri* a *Scenedesmus quadricauda*, kteří sloužili jako vybrané druhy sladkovodních řas při realizaci praktické části této diplomové práce. V kapitolách 1.4.2 a 1.4.3 budou zmíněny podrobněji.

Využití zelených řas je poměrně široké. Stejně tak jako jiné druhy řas, slouží zelené řasy jako důležitý zdroj potravy pro ryby, korýše a plže [37]. Přírodní beta-karoten se vyrábí v Austrálii z řasy *Dunaliella salina* pěstované v obrovských nádržích plných velmi slané vody. Beta-karoten se ukázal být, mimo použití ve formě potravinářského barviva, velmi účinný v prevenci některých typů rakoviny včetně rakoviny plic [30], [37].

1.4.2 *Chlorella kessleri*

Chlorella je jednou z nejstarších forem rostlinného života na zemi [38]. První fosilní nálezy této řasy pocházejí z doby před 1,5–2 miliardami let. Poprvé byla *Chlorella* objevena a pojmenována v roce 1890 M. W. Beyerinckem z Holandska [39]. Při srovnání s jinými rostlinami vykazuje *Chlorella* vyšší obsah chlorofylu, který často přesahuje 7 % z celkové hmotnosti, proto má mnohem větší schopnost fotosyntézy než ostatní rostliny a zároveň jí to dává charakteristické tmavě zelené zbarvení. Název *Chlorella* je odvozen z latinských slov „chlor“ (zelená) a „ella“ (malá) [38], [39], [40].

Řasa *Chlorella kessleri* je taxonomicky začleněna do třídy Trebouxiophyceae [1]. Je to jednobuněčná řasa s typickými kulovitými nebo elipsoidními buňkami. Obsahuje hrncovitý nebo miskovitý chloroplast s pyrenoidem. Její obal tvoří hladká buněčná stěna, ve které lze po alkalické hydrolyze rozpoznat mikrofibry polysacharidu na bázi glukozaminu a chemicky podobného chitinu. Charakteristickým sacharidem řasy *Chlorella kessleri* je fukóza [1], [41]. Buňky jsou pouze jednojaderné a rozmnožují se autosporami [1].

Chlorella poskytuje velmi vyvážený soubor základních živin. Spolu s velkým množstvím bílkovin obsahuje *Chlorella* také esenciální mastné kyseliny, sacharidy, minerální látky, vitaminy, enzymy, karotenoidy, chlorofyl, antioxidanty a unikátní *Chlorella* růstový faktor [38].



Obrázek 3: *Chlorella kessleri* [42]

Jednou z nejvýznamnějších nutričních vlastností této řasy je její vysoký obsah bílkovin, který zahrnuje všechny aminokyseliny nezbytné k lidské výživě. Proto bývá také *Chlorella* často využívána jako doplněk stravy. Kromě vysokého obsahu bílkovin obsahuje *Chlorella* mnoho dalších důležitých živin [38], [40].

Významný je obsah mastných kyselin a to především kyseliny alfa-linolenové a kyseliny gamma-linolenové [39].

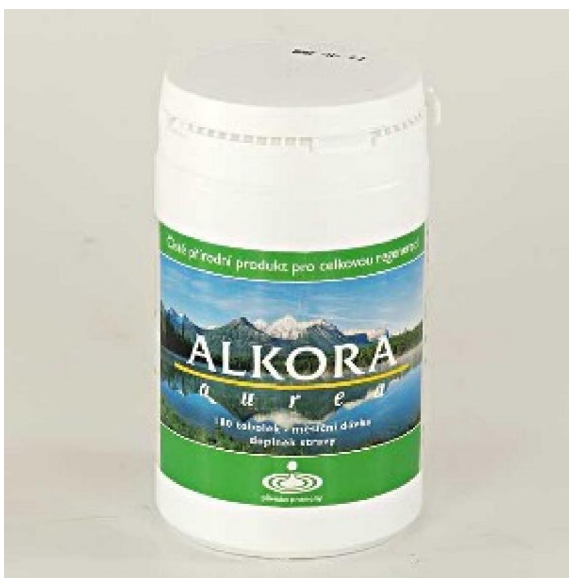
Jak už bylo zmíněno, vykazuje *Chlorella* vysokou koncentraci chlorofylu. Chlorofyl má mnoho pozitivních zdravotních důsledků na lidské zdraví [40]. Porfirin obsažený v chlorofylu má vlastnost vychytávat těžké kovy [39]. Je zdrojem železa, pomáhá zlepšovat krevní obraz a anémii, odstraňuje z těla toxiny a čistí střevní tkáň, čistí játra a pomáhá léčit hepatitidu, hojí rány, zklidňuje záněty mandlí, vředy a bolestivé hemeroidy, zlepšuje stav křečových žil, pomáhá při léčbě hemofilie, zlepšuje cukrovku a astma. Potraviny bohaté na chlorofyl mohou pomáhat zmírňovat důsledky radiace na lidské tělo [40].

Chlorella obsahuje směs látek, které urychlují růst a vývoj nových buněk v jejím organismu, tzv. *Chlorella* růstový faktor. *Chlorella* růstový faktor je jedinečný a je produkován pouze v procesu rychlé multiplikace v průběhu fotosyntézy. Struktura *Chlorella* růstového faktoru je poměrně složitá. Je složena z nukleotidových peptidů a obsahuje síru, polysacharidy a další látky. Hlavním sacharidem vyskytujícím se v nukleotidech je glukóza, ale může se zde

vyskytovat i manóza, rhamnóza, arabinóza, galaktóza a xylóza. *Chlorella* růstový faktor je považován za nejcennější směs látek, kterou lze z této řasy získat [40].

Chlorella je bohatá na vitaminy a minerální látky. Nejdůležitější je obsah provitaminu A. Významný je také obsah kyseliny folové, niacinu, vitamínu B₆ a metylkobalaminu, nejlépe vstřebatelné formy vitamínu B₁₂. Z minerálních látek je v této řase přítomen především vápník, železo a zinek [39], [40].

Chlorella produkuje karotenoidy, a sice lutein, zeaxantin, beta-karoten, alfa-karoten, violaxantin a neoxantin. Za příznivých podmínek však může *Chlorella* syntetizovat velké množství sekundárních karotenoidů jako je astaxantin, kantaxantin a echinenon [43].



Obrázek 4: *Chlorella kessleri* – doplněk stravy [44]

Chlorella není využívána pouze jako potravní doplněk, ale používá se také k přípravě jídla, jako potravinové aditivum, jako součást léčiv, jako krmivo nebo jako hnojivo [39].

Chlorella vykazuje mnoho zdraví prospěšných vlastností. *Chlorella* má vyšší antioxidační schopnost než jiné běžně používané antioxidanty [45]. Posiluje imunitní systém, urychluje hojení ran a vředů, pomáhá snižovat hladinu cholesterolu, snižovat krevní tlak, pomáhá chránit lidské tělo proti toxickým škodlivinám, pomáhá odstraňovat dioxiny a jiné karcinogenní látky z těla, upravuje trávení a funkci střev, stimuluje růst a opravu tkání, zpomaluje stárnutí a chrání proti účinkům radiace [38], [39], [46].

1.4.3 *Scenedesmus quadricauda*

Scenedesmus quadricauda je malá koloniální zelená řasa, která patří do třídy Zelenivky (Chlorophyceae) [1], [47]. Název *Scenedesmus* je tvořen ze dvou řeckých slov „skene“ (stan nebo markýza) a „desmos“ (vazba) [47]. Rod *Scenedesmus* je druhově početný, zahrnuje více než 200 druhů a téměř 1200 vnitrodruhových taxonů, a je bohatě zastoupen v sladkovodním planktonu [1], [48].

Válcovité buňky, které mají zaoblené, oválné nebo větvenovité konce, jsou uspořádány v cenobiích v jedné řadě a srůstají svými bočními stěnami [1], [49]. Velikost větvenovitých buněk se pohybuje mezi 6-40 mikrometry [5]. Kolonie nejčastěji mají dvě nebo čtyři buňky, ale mohou se vyskytovat i kolonie s 8, 16, 32 buňkami. Zřídka se vyskytují i jednobuněčné kolonie [47]. Počet buněk je závislý na rychlosti buněčného dělení [1]. Tvar cenobií všech druhů rodu *Scenedesmus* je značně proměnlivý [49]. *Scenedesmus* je příkladem cenobia kde je tvar a počet buněk geneticky určen a v průběhu života organismu se nemění [47].

Buněčná stěna této řasy je hladká. Ojedinele se vyskytují podélná žebra často s drobnými trny nebo bradavkami na povrchu [1]. U řasy *Scenedesmus quadricauda* mají okrajové buňky vytvořeny po dvojici dlouhých, obvykle lehce prohnutých ostnů, umístěných po jednom na obou koncích okrajových buněk, které mohou být dlouhé až 200 mikrometrů [47], [49]. Tyto ostny umožňují využívat světlo a živiny, které se hojněji vyskytují blízko hladiny a pomáhají také odradit predátory [47]. Povrchová vrstva buněčné stěny je chemicky rezistentní, silně strukturovaná. Je tvořena algenanem a pevným sporopoleninem, proto je možné i po odumření organismu sledovat prázdné bezbarvé buněčné stěny [1], [5], [47]. Vnitřní vrstvy buněčné stěny jsou polysacharidové [1].

V buňce je přítomen chloroplast s pyrenoidem [1], [47], [49].

Scenedesmus quadricauda se běžně vyskytuje jako součást planktonu sladkých vod řek, rybníků, jezer a někdy i v brakických biotopech [47]. *Scenedesmus* k růstu potřebuje vodu bohatou na živiny [50]. S jejich silným rozvojem v rybníce se lze setkat hlavně po vápnění nebo hnojení dusíkatými hnojivy, kdy vyvolávají vegetační zbarvení vody [49].

Rozmnožují se převážně nepohlavně tvorbou autocenobií [1]. Při dělení buněk nedochází k tvorbě zoospór, ale v mateřské buňce vznikají 4 dceřiné nepohyblivé buňky, umístěné paralelně vedle sebe, ve tvaru mateřské kolonie (autospóry) [47], [49].



Obrázek 5: *Scenedesmus quadricauda* [51]

Rod *Scenedesmus* se využívá v biotechnologii, využívá se také jako testovací kmen například pro test toxicity [1], [5]. Stejně jako jiné druhy řas je řasa *Scenedesmus* důležitým primárním producentem a zároveň také zdrojem potravy pro jiné organizmy, zejména zooplankton [47], [49], [50]. *Scenedesmus* je běžným bioindikátorem fyzikálních a chemických změn v prostředí. Tato řasa je používána pro zjišťování přítomnosti živin nebo toxinů, objevujících se v důsledku antropogenních zásahů do vodních systémů [47]. *Scenedesmus* se také používá jako krmivo pro ryby, jako potravina, jako doplněk stravy nebo jako součást farmaceutických výrobků [48].

2 TRÁVENÍ

Živiny, které jsou přijaty potravou, jsou štěpeny na menší složky (tento proces se nazývá trávení) a jsou vstřebávány sliznicí střeva (tento proces je nazýván resorpcí) do lymfy nebo portální krve. Trávicí ústrojí také připravuje živiny pro vstup do extracelulární tekutiny [52].

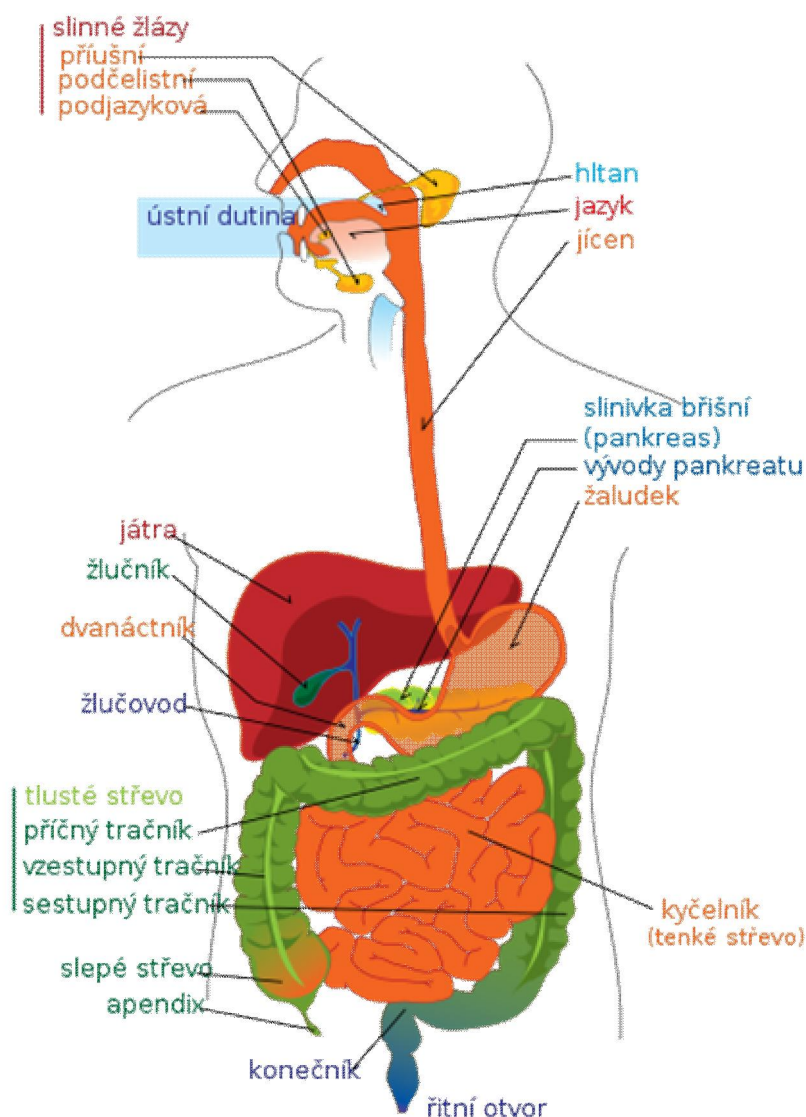
2.1 Členění trávicí soustavy

Nejprve dochází k mechanickému rozmělnění přijímané potravy v dutině ústní. Současně je mělněná potrava promíchávána se slinami. Po rozmělnění potravy a promíchání se slinami dochází s pomocí svalů měkkého patra a nosohltanu k polknutí sousta a jeho posunu hltanem, což zajišťuje reflex, jenž má centrum v prodloužené míše. Sousto se následně dostává do oblasti epiglottis, kde se kříží dýchací a trávicí cesty. Aby sousto sklouzlo do jícnu, dochází k reflexnímu uzavírání dýchacích cest při průchodu sousta [53].

Žaludek je centrem mechanických a biochemických dějů, které probíhají za výrazně sníženého pH (pH = 1-2). Velikost žaludku se mění v závislosti na žaludeční náplni. Při plnění žaludku se místem plnění stává proximální část. Při dalším plnění žaludku dochází k intenzivnějšímu mechanickému dráždění stěny žaludku a následné aktivaci distální části žaludku. Po mechanickém rozmělnění obsahu žaludku svěrač pyloru ochabuje a obsah žaludku je peristaltickými pohyby posunut do duodena. Obsah žaludku se do tří hodin po pozření dostává do dvanáctníku. Dvanáctník je spojován hlavně s výraznými biochemickými změnami jako je zevně sekretorický vývod pankreatu nebo vývod žlučového [53].

Z dvanáctníku se natrávená potrava dostává do tenkého střeva, jehož sliznice je v celé délce zvrásněna klky. Řasy, klky a mikroklky jsou příčinou zvýšení resorpční plochy střeva tak, že průměrná délka tenkého střeva 2,8 m má resorpční plochu okolo 300 m² [53].

Tlusté střevo je místem definitivní úpravy střevního obsahu. Nestrávené zbytky a další exkrementy se posunují do oblasti místa rozšíření terminální části střeva. Potrava projde trávicí soustavou za 25-30 hodin po pozření potravy [53].



Obrázek 6: Trávicí soustava [54]

2.2 Enzymatické štěpení potravy

Největší část trávicího ústrojí, což zahrnuje oblast od dolní části jícnu po vrchní část konečníku, se nachází v břišní dutině. Trávicí trakt je tvořen různě specializovanými sekcemi. Endogenní enzymy pomáhají trávit potravu především v ústech, žaludku a tenkém střevu, zatímco v zadních oddílech trávicího traktu se uskutečňuje trávení pomocí enzymů mikrobiálních. V následujícím přehledu jsou uvedeny hlavní enzymové aktivity, které se nacházejí v trávicím traktu [55].

Tabulka 3: Přehled enzymových aktivit vyskytujících se v různých sekcích trávicí soustavy
[55]

SEKCE	TRÁVENÍ	ENZYMOVÁ AKTIVITA
Ústní dutina	lipidů	lipáza
	škrobu	ptyalin
Žaludek	proteinu	pepsin
	lipidů	lipáza
Tenké střevo	proteinu	trypsin
		chymotrypsin
		elastáza
	peptidů	peptidázy
	škrobu	amyláza
	oligosacharidů	invertáza
		laktáza
		maltáza
tuků	lipáza	
nukleových kyselin	nukleázy	
Tlusté a slepé střevo	stavebních polysacharidů	pektináza
		hemicelulázy
		celuláza
	škrobu	amyláza
	proteinu	proteázy
	aminokyselin	deaminázy
dekarboxylázy		

Na potravu a následně i na tráveninu působí enzymy a další látky, které se uvolňují z makroskopických žláz gastrointestinálního traktu, drobných žlázek ve sliznici i samotných specializovaných buněk. Většina enzymů, které jsou vázány na povrchovou membránu enterocytů působí přímo, nebo se uvolňují z odumřelých buněk. Trávicí enzymy produkuje hrubé endoplazmatické retikulum u baze sekrečních buněk. Enzymy se často produkují a uvolňují v neaktivní formě a do aktivní formy se přeměňují až v lumen gastrointestinálního traktu. Výsledné složení trávicích šťáv se mění v závislosti na oddílech gastrointestinálního traktu.

Na tvorbě výsledného složení trávicích šťáv se podílejí všechny secernující elementy příslušného oddílu [56].

2.2.1 Dutina ústní

Dutina ústní je prvním úsekem trávicí soustavy a je tvořena tvrdým a měkkým patrem, patrovými mandlemi, dásněmi, zuby a jazykem [53], [57]. Dochází zde k prolínání dějů mechanických, biochemických a imunologických. Dutina ústní je zvlhčována slinami, které pochází z příušních, podčelistních a podjazykových žláz. Jejich celková produkce se pohybuje v rozmezí 1-1,5 litru/den. Sliny mimo jiné obsahují enzym alfa-amylázu a mají nápadně vysoký obsah K^+ [53].

2.2.2 Žaludek

Žaludek je vakovitý orgán, který má objem 1,5 dm³ [57]. Hlavní funkce žaludku spočívá v nahromadění rozmělněné potravy, jejím promísení, natrávení a následném posouvání potravy do duodena v peristaltických vlnách. Na trávení se podílejí žaludeční šťávy, jejichž produkce se pohybuje kolem 1,5 litru/den. Žaludeční šťáva obsahuje kyselinu chlorovodíkovou, enzymy, elektrolyty a vnitřní faktor. Na produkci žaludeční šťávy se podílejí buňky sliznice fundu. Hlavní buňky tvoří pepsinogen. Buňky krycí jsou zodpovědné za tvorbu kyseliny chlorovodíkové, která vytváří v žaludku kyselé prostředí, ničí choroboplodné zárodky, brání rozkladu vitaminů B₁, B₂ a C, přeměňuje nerozpustné minerální látky na soli rozpustné ve vodě a přeměňuje neúčinný pepsinogen na účinný pepsin. Mucinózní buňky produkují hlen, který vytváří ochranný povlak žaludeční sliznice. Jelikož mechanické a biochemické děje v žaludku probíhají za výrazně sníženého pH, je velmi důležité udržet rovnováhu mezi produkcí kyseliny chlorovodíkové a tvorbou mucinu [53], [57].

Žaludeční sekrece má tři fáze:

- *Cefalická fáze*

Tato fáze začíná na základě smyslových vjemů. Žaludeční sliznice zde vylučuje kyselinu chlorovodíkovou, pepsinogen, mucin, vnitřní faktor a gastrin [53].

- *Gastrická fáze*

Podnětem pro navození gastrické fáze je mechanické roztažení žaludku naplněného potravou a působení jednotlivých složek potravy. Pro tuto fázi je charakteristická sekrece gastri-

nu, který se uvolňuje z endokrinních žlázek. Uvolňování tohoto hormonu je spouštěno některými aminokyselinami, pH prostředí menším než 3 a somatostatinem. Gastrin je zodpovědný za stimulaci žaludeční sekrece a aktivaci žaludeční peristaltiky [53], [58].

- *Intestinální fáze*

V této fázi dochází k zpětnému působení chymu horních střevních oddílů na žaludeční činnost ať už mechanickou či sekreční [53].

2.2.3 Dvanáctník

Ve dvanáctníku, počátečním oddílu tenkého střeva, dochází především k neutralizaci kyselosti žaludečního obsahu. Mimo to se zde začínají uplatňovat i emulgační vlastnosti žluče doplněné účinky enzymů slinivky břišní [53], [57].

2.2.4 Játra

Tato největší žláza v těle se skládá z lalůček, tvořených jaterními buňkami, které vylučují žluč [57]. Žluč je tekutina, která se neustále vytváří v jaterní tkáni v množství okolo 0,7 litru/den. Žluč je kromě vody a elektrolytů složena i z bilirubinu, žlučových kyselin, cholesterolu, steroidních hormonů. Hlavními funkcemi žluče jsou mimo emulgace lipidů i aktivace lipolytických a proteolytických pankreatických enzymů ve střevě [53].

2.2.5 Slinivka břišní

Slinivka břišní je producentem pankreatické šťávy a to v množství okolo 1,5 litru/den. Pankreatická šťáva je především složena z hydrogen-uhličitanových iontů a enzymů zažívacího traktu. 90 % enzymů slinivky břišní jsou hydrolázy. Proteolytické enzymy a fosfolipáza A musí být nejdříve aktivovány, zatímco lipázy, amylázy a ribonukleázy jsou přítomny již v aktivní formě. Z trypsinogenu vzniká trypsin, který sám pak aktivuje další pankreatické enzymy. Sekretin a cholecystokinin jsou nejsilnější podněty pro zevně sekretorickou část slinivky břišní. Jsou produkovány střevní sliznicí. Cholecystokinin působí primárně na buňky acinů, které produkují sekret bohatý na enzymy [53].

Trávicí šťávy jsou během postupu gastrointestinálním traktem postupně inaktivovány, rozkládány a resorbovány. Aktivními složkami trávicích šťáv jsou z hlediska štěpení jednotlivých

vých živin enzymy. Ostatní látky se podílejí na vytvoření optimálních podmínek pro působení enzymů a na dalších funkcích gastrointestinálního traktu [56].

2.3 Štěpení substrátů

2.3.1 Sacharidy

Sacharidy tvoří nejvyšší podíl ze substrátů přijímaných ve stravě (50-70 %). Nejčastěji jsou v potravě zastoupeny škrobem, sacharózou a laktózou.

Škrob tvoří až 60 % celkového podílu sacharidů v potravě. Je štěpen enzymy v dutině ústní (slinná alfa-amyláza) a ve střevě (pankreatická alfa-amyláza) až na jednotlivé molekuly glukózy. Disacharid sacharóza se podílí asi 30 % na celkovém zastoupení sacharidů. Pomocí enzymů dochází ke štěpení sacharózy na molekulu glukózy a molekulu fruktózy. Disacharid laktóza, jež je významně zastoupen u novorozenců, je rozložen enzymem laktázou na glukózu a galaktózu [53].

2.3.2 Lipidy

Lipidy jsou tvořeny chemicky velmi nesourodou skupinou látek. Nejdůležitějšími lipidy pro naše tělo jsou triacylglyceroly, cholesterolestery a fosfolipidy. Triacylglyceroly jsou enzymaticky štěpeny již v dutině ústní (slinnou lipázou), k hlavnímu štěpení však dochází až ve dvanáctníku pankreatickou a střevní lipázou. Triacylglyceroly jsou účinkem enzymů rozštěpeny až na jednotlivé mastné kyseliny, monoacylglyceroly a glycerol. Cholesterolestery se rozkládají ve dvanáctníku pomocí enzymu cholesterolesterázy na cholesterol a volné mastné kyseliny. Fosfolipidy jsou obdobně rozloženy ve dvanáctníku účinkem enzymu fosfolipáza [53].

2.3.3 Proteiny

Proteiny se začínají štěpit již v žaludku účinkem enzymu pepsinu, který vzniká aktivací neúčinného pepsinogenu. Proteiny, rozštěpené na polypeptidy, jsou dále štěpeny proteolytickými enzymy až v lumen střeva. Enterokináza, enzym střevní sliznice, aktivuje v oblasti dvanáctníku trypsinogen na aktivní trypsin. Trypsin dále aktivuje chymotrypsinogen na chymotrypsin a prokarboxypeptidázu na karboxypeptidázu. Dalšími významnými proteolytickými enzymy jsou elastáza a oligopeptidáza, působící za přítomnosti HCO_3^- . Působí zde

také peptidázy. Polypeptidy se postupně štěpí na tri- a dipeptidy, na basicke, neutrální i kyselá aminokyseliny, na beta-aminokyseliny i gama-aminokyseliny. Na rozdíl od štěpících enzymů sacharidů a lipidů jsou hlavní proteolytické enzymy produkovány v neaktivní formě [53].

2.4 Trávicí enzymy

Enzymy, které se účastní trávení potravy v zažívacím traktu, jsou označovány jako trávicí nebo také digestivní enzymy. Nejdůležitějšími z těchto proteáz jsou žaludeční endopeptidázy, proteázy pankreatické šťávy a enzymy střevní šťávy [59].

2.4.1 Žaludeční endopeptidázy

Všichni obratlovci mají ve svých žaludcích přítomnu aspartátovou proteázu pepsin. V žaludeční šťávě mláďat savců je přítomen rennin (chymosin). Oba tyto enzymy mají podobnou strukturu molekuly a pravděpodobně vznikly vývojem z jediné prabílkoviny. V průběhu vývoje mláďate dochází postupně k záměně chymosinu za pepsin. Při mléčné výživě živočicha dochází k přetrvávání syntézy chymosinu [59].

Pepsin vzniká autolýzou z pepsinogenu vylučovaného žaludeční stěnou účinkem kyselého pH, vytvářeného přítomností HCl v žaludeční šťávě (pH asi 1-1,5). Pepsin má poměrně úzkou specifitu co do typu štěpené peptidové vazby. Přednostně jsou katalyzována přerušování peptidových vazeb, na nichž se podílejí aromatické aminokyseliny, a to hlavně v tom případě, když tato vazba vznikla z karboxylu dikarboxylových aminokyselin asparagové a glutamové [59].

Chymosin plní funkci žaludeční proteázy v době, kdy jsou mláďata savců krmena mateřským mlékem a není u nich dosud dostatečně vyvinuta tvorba pepsinu. Tvoří se autokatalytickou reakcí z inaktivního prochymosinu. Jeho činnost vyžaduje přítomnost iontů Ca^{2+} a má jinou specifitu než pepsin. Zatímco pepsin štěpí celou řadu vazeb a rozkládá bílkoviny na směs peptidů, chymosin štěpí přednostně jedinou vazbu Phe-Met v mléčné bílkovině κ -kaseinu, při němž vzniká nerozpustný para- κ -kasein a C-koncový glykopeptid. Tímto procesem se poruší stabilita kaseinových micel, které se následně srážejí účinkem iontů Ca^{2+} . Těto schopnosti chymosinu srážet mléko se využívá v mlékárenské technologii [59].

2.4.2 Proteázy pankreatické šťávy

Aktivovaná pankreatická šťáva je složena ze sedmi odlišných proteáz: endopeptidázy trypsinu, chymotrypsinu A, B, C, elastázy a exopeptidáz karboxypeptidázy A a B. Jejich překrývající se specifita k určitým typům peptidových vazeb umožňuje kompletní rozklad bílkovin v potravě. Všech sedm proteáz je produkováno ve formě inaktivních zymogenů, které vznikají v buňkách pankreatu. Zymogeny jsou následně pankreatickou šťávou dopraveny do tenkého střeva, kde jsou převedeny na aktivní enzymy. Pravděpodobnou kaskádu reakcí procesu aktivace začíná enzym enterokináza přeměnou trypsinogenu na aktivní trypsin, který následně aktivuje další zymogeny, včetně autolýzy své vlastní inaktivní formy [59].

2.4.3 Enzymy střevní šťávy

V tenkém střevě jsou syntetizovány aminopeptidázy, napadající vazby N-koncových aminokyselin, a dipeptidázy, štěpící jen dipeptidové jednotky. Pro činnost dipeptidáz je důležitá přítomnost určitých kovových iontů. Proteázy, které odbourávají tkáňové bílkoviny živočichů, jsou nazývány kathepsiny. Kathepsiny jsou většinou přítomny v buněčných organelách lysozomech a pracují při zhruba neutrálním pH. Mohou se též uplatňovat při autolýze bílkovin v odumřelých tkáních. Z rostlinných proteáz je nejznámější papain, který je schopen štěpit bílkoviny v poměrně širokém rozmezí pH od neutrálního až po mírně kyselé. Bakteriální proteázy jsou charakterizovány širokým spektrem účinnosti na vazby různých aminokyselin. Nejznámější z bakteriálních proteáz je proteáza subtilisin. V organizmech je přítomna celá řada dalších proteáz, které slouží např. k aktivaci inaktivních forem některých enzymů, u vyšších živočichů se uplatňují při srážení krve (thrombin) a zpětného rozpouštění koagula (plasmin) [59].

3 DEZINTEGRACE BUNĚČNÉ STĚNY

Pro lidské tělo je celotická stěna buněk rostlin a tedy i většiny řas prakticky nerozrušitelná. Lidské tělo dokáže celulózu rozrušit pouze za určitých podmínek pomocí bakterií. Proto je nutné řasy s touto odolnou buněčnou stěnou rozrušit (dezintegrovat), neboť by mohlo dojít k zabránění využití nutričních složek v řasách. Také by mohlo dojít k abrazivní činnosti vůči stěnám trávicího ústrojí, pokud by řasa prošla trávicím traktem bez narušení [60], [61].

Dezintegrace v podstatě určuje míru využitelnosti řasy pro člověka a slouží k uvolnění obsahu buňky při izolaci intracelulárních komponent, buněčných organel nebo fragmentů při současném zachování jejich biologické aktivity [61], [62].

3.1 Buněčná stěna řas

Buněčná stěna, která je definována jako tuhá, homogenní a často vícevrstvá struktura, je přítomna jak u prokaryotických, tak u eukaryotických řas [9].

3.1.1 Buněčná stěna sinic

U sinic je buněčná stěna umístěna mezi plazmatickou membránou a slizovým obalem. Nejvnitřnější vrstva, většinou peptidoglykanová vrstva, překrývá plazmatickou membránu a u většiny sinic se její šířka pohybuje mezi 1 a 10 nm. V peptidoglykanové vrstvě mnoha sinic jsou přítomny pravidelně uspořádané prohlubně. Póry jsou umístěny v jednotlivých řadách po obou stranách každé přepážky a jsou také rovnoměrně rozloženy na povrchu buněk. Vnější vrstva buněčné stěny se jeví jako dvoukolejná struktura úzce spojená s peptidoglykanovou vrstvou. V této membráně je umístěna řada výchlipek, které slouží k vytlačování materiálu z cytoplazmy skrz buněčnou stěnu do slizu [9].

3.1.2 Buněčná stěna eukaryotických řas

Buněčná stěna eukaryotických řas je vždy vytvořena mimo plazmolemu a je v mnoha ohledech srovnatelná s buněčnou stěnou vyšších rostlin. Obecně se buněčná stěna skládá ze dvou složek, mikrofibrilárního rámce vloženého do amorfního slizovitého materiálu složeného z polysacharidů, lipidů a proteinů. Mohou zde být také přítomny inkrustující látky jako je oxid křemičitý, uhličitán vápenatý nebo sporopolenin [9]. Sporopolenin (algenan) je vysoce odolný polymer vzniklý zesíťováním dlouhých uhlíkatých řetězců [29]. Při tvorbě

buněčných stěn řas je potřebný materiál převážně shromážděn v Golgiho váčcích. Materiál pak prochází skrz plazmatickou membránu v předem determinovaném směru, kde jsou přítomny komplexy enzymů zodpovědné za syntézu mikrofibril [9].

U červených řas Floridophyceae (Rhodophyta) je buněčná stěna složena z více než 70 % ve vodě rozpustných sulfonovaných galaktanů jako jsou agary a karagenany. Tyto látky jsou komerčně velmi důležité v potravinářském a farmaceutickém průmyslu pro jejich schopnost tvořit gely. U hnědých řas Phaeophyceae (Heterokontophyta) je buněčná stěna v první řadě složena z alginové kyseliny, jejíž soli mají cenné emulgační a stabilizační vlastnosti. U hnědých řas Xanthophyceae (Heterokontophyta) je buněčná stěna složena převážně z celulózy, zatímco u zelených řas Chlorophyceae (Chlorophyta) může být kromě celulózy přítomna také xylóza, manóza a chitin. Někteří zástupci zelených řas Chlorophyceae (Chlorophyta) a Charophyceae (Chlorophyta) mají kalcifikované stěny [9].

3.2 Způsoby dezintegrace

Především se jedná o techniky, které mohou být spojeny se změnou morfologie buňky (porušení buněčné stěny otevřením nebo fragmentací buňky) nebo vedou jen k permeabilizaci cytoplazmatické membrány, která je propustná jen pro vnitrobuněčné látky [62].

Jedním z nejdůležitějších ukazatelů kvality řasy připravené ke konzumaci je technologie dezintegrace, její šetrnost a stupeň dezintegrace. V dnešní době se používají různé metody k narušení buněčné stěny. Tyto metody se liší nejenom stupněm dezintegrace, ale především zachováním intracelulárních látek. Pro dezintegraci je hlavně velmi důležité, aby byl proces co nejkvalitnější, musí definovaně rozrušit buněčné stěny maximálnímu počtu buněk a musí být šetrný k obsahu buňky [60], [63].

Dělení dezintegračních metod dle zdroje [64]:

3.2.1 Mechanické metody dezintegrace

Mezi mechanické metody patří nejrůznější způsoby dezintegrace tuhých složek jako je mletí, drcení apod. [64]. Zmenšením velikosti částic dochází ke zvětšení celkového povrchu a ke zlepšení přístupnosti látek enzymatickému rozkladu, což může mít za následek poškození vylitého obsahu buněk oxidací [60], [63], [64].

Na principu mechanické dezintegrace pracuje zařízení Dyno Mill, což je horizontální perlový mlýn, který se používá na mletí pevných částeczek v tekutém prostředí a je využíván jak laboratorně tak průmyslově [61], [65]. Dalšími způsoby mechanické dezintegrace může být například použití X-press, French-press, tryskových homogenizátorů, vysokootáčkových mixerů a balotinových dezintegrátorů [62]. Mezi mechanické způsoby dezintegrace je možné zařadit také dezintegraci s použitím oscilačního kulového mlýna MM 301. Tento způsob mechanické dezintegrace byl použit při realizaci praktické části této diplomové práce a je podrobněji zmíněn v kapitole 3.3.

3.2.2 Chemické metody dezintegrace

Podle použitých chemikálií můžeme chemické způsoby dezintegrace rozdělit do několika skupin: dezintegrace v alkalickém prostředí, dezintegrace alkalickými rozpouštědly, dezintegrace tenzidy, extrakce solnými roztoky, dezintegrace ostatními chemickými činidly a kombinované způsoby dezintegrace [66]. Při použití chemických metod může docházet k nedostatečnému narušení stěn nebo k jejich úplné destrukci a následnému vylití obsahu a jeho poškození [61]. Při použití těchto metod existuje také riziko nedokonalého oddělení použitých chemikálií od biomasy, což je velkým nedostatkem těchto metod [60], [63].

3.2.3 Fyzikální metody dezintegrace

Mezi fyzikální metody se řadí například termická hydrolyza, ionizující záření nebo působení ultrazvuku [64]. Řadí se zde také opakované zmrazování a rozmrazování [62] a dezintegrace osmotickým šokem [66]. U metod, při kterých se používá působení tepla, může, stejně tak jako u chemických metod, docházet buď k nedostatečnému narušení stěn nebo naopak k jejich úplné destrukci a tedy vylití obsahu a jeho poškození [61].

Zástupcem této skupiny metod je metoda „STEAM“, která pracuje na principu sprejového sušení, kdy dochází společně s vysušením buněk také k mikroskopickému narušení buněčných stěn [65].

3.2.4 Biotechnologické metody dezintegrace

Do této kategorie spadá použití čistých komerčně vyráběných enzymů (např. celulóza) nebo například přímé použití mikroorganismů s vysokou celulózovou aktivitou (např. bacherové kultury) [64].

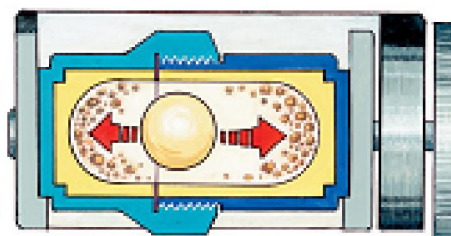
3.3 Dezintegrace s použitím oscilačního kulového mlýna MM 301

Oscilační kulový mlýn MM 301 je určen pro univerzální laboratorní použití – suché, mokré a kryogenní mletí malých množství materiálu. Využívá se také k míchání, homogenizaci a přípravě buněčného materiálu. Umožňuje redukci velikosti a mletí tvrdých, středně tvrdých a křehkých vzorků stejně tak jako měkkých, elastických a vláknitých. Je používán například v zemědělství, v biotechnologii, v potravinářství nebo metalurgii [68], [69].



Obrázek 7: Oscilační kulový mlýn MM 301 [68]

Mlecí nádoby, které jsou ve dvou pracovních pozicích, vytvářejí radiální oscilace v horizontální poloze. Pohyb mlecích kuliček způsobí náraz s vysokou energií na vzorek materiálu v kulatých koncích mlecí nádoby a tím dochází k mletí materiálu. Rovněž také dochází k intenzivnímu míchání vzorku pohybem mlecích nádob a mlecích koulí. Intenzitu míchání lze zvýšit použitím několika menších kuliček. Účinné rozbití buněk zajistí střížný efekt a úder kuliček. Intenzitu vibrací je možno nastavit mezi 3 a 30 Herty a dobu mletí a míchání lze nastavit v rozsahu 10 vteřin až do 99 minut [69].



Obrázek 8: Průřez mlecí nádobkou oscilačního kulového mlýna MM 301 [69]

Oscilační kulový mlýn MM 301 poskytuje rychlé, účinné, bezpečné, bezetrátové mletí a homogenizaci, snadné ovládání a reprodukovatelné výsledky [69].

4 STANOVENÍ STRAVITELNOSTI

Za stravitelnost se považuje ta část pozřené potravy, kterou tělo dokáže využít (rozložit, vstřebat, zabudovat do různých struktur) [70].

Stravitelnost je možné stanovit buď metodami *in vivo*, což znamená testování přímo na živých organizmech, nebo laboratorními metodami. Mezi laboratorní metody řadíme metody *in vitro*, chemické analýzy (stanovení různých nutričních faktorů) a fyzikálně-chemické metody (NIRS) [71].

Mezi metody *in vivo* patří bilanční pokusy (klasická metoda, indikátorová metoda, diferenční metoda, substituční metoda) a metoda *in situ* (pomocí píštěle v bachorových vacích nebo duodenu) [71].

Metody *in vitro* (z lat. do skla) se provádí mimo živý organizmus v kontrolovaném prostředí (např. v přístroji v laboratoři, ve zkumavce), kde je stálá teplota, stálé prostředí a chybí „faktor zvířete“ [71], [72]. Při aplikaci metod *in vitro* se uplatňuje inkubace vzorků v bachorové tekutině nebo dochází k použití enzymů (např. celulóza, trypsin) [71].

Zmíněné metody stanovení stravitelnosti se vztahují ke stanovení stravitelnosti krmiv. Jelikož řasy jsou rostlinným materiálem, lze z těchto metod při určení jejich stravitelnosti vycházet.

4.1 Stanovení stravitelnosti s použitím inkubátoru Daisy

Stanovení stravitelnosti s použitím inkubátoru Daisy patří mezi metody *in vitro*. Při stanovení stravitelnosti s použitím inkubátoru Daisy bylo postupováno dle metodiky: Stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty pepsin-celulázovou metodou užitím Daisy inkubátoru, jejímž autorem je J. Třináctý [73]. Jelikož se zmíněná metodika týká krmiv, byla upravena dle zdroje [74] pro stanovení stravitelnosti řas.

Stanovení stravitelnosti s použitím inkubátoru Daisy je gravimetrickou metodou, při níž lze zjistit buď stravitelnost sušiny (DMD) nebo stravitelnost organické hmoty (OMD). Vzorky řas jsou při použití této metody podrobeny nejprve enzymatické hydrolyze, následně jsou vysušeny a nakonec spáleny. Enzymatická hydrolyza byla provedena enzymy pepsinem, pankreatinem a také byly vzorky podrobeny kombinované hydrolyze pepsinem a pankreati-

nem. Ve všech případech enzymatické hydrolyzy bylo postupováno dle pracovního postupu uvedeného v [73], [74].

Pro zjištění stravitelnosti s použitím inkubátoru Daisy je nutno též stanovit obsah sušiny a popela ve zkoumaných vzorcích sladkovodních řas.

4.1.1 Daisy^{II} inkubátor

Daisy inkubátor je přístroj, který se používá ke stanovení stravitelnosti *in vitro*. Vyrábí ho ANKOM Technology New York. Na český trh je dodáván firmou O. K. SERVIS BioPro, s.r.o. [75].

Součástí inkubátoru Daisy jsou čtyři inkubační nádoby. Každá z nádob umožňuje zpracování 24 sáčků se vzorky a jednoho prázdného sáčku k výpočtu korekce hmotnosti. Z toho vyplývá, že lze zároveň zpracovávat až 100 sáčků. V každé nádobě lze hydrolyzovat vzorky za použití různých enzymů rozpuštěných v příslušných inkubačních roztocích. Konstrukce inkubační nádoby umožňuje promíchávání obsahu nádoby v průběhu hydrolyzy. V Daisy inkubátoru je zajištěna konstantní teplota, kterou lze nastavit dle potřeby (obvykle se při stanovení stravitelnosti používá teplota 40 °C). Daisy inkubátor také umožňuje pomocí časovače nastavit délku průběhu hydrolyzy [75], [76], [77].



Obrázek 9: Daisy^{II} inkubátor [76]

Ke zjištění stravitelnosti je nutno nejprve vzorky navážít do speciálních filtračních sáčků F 57, sáčky s pomocí svářečky zatavit a umístit je do inkubačních nádob s bachorovou tekutinou nebo s enzymatickým inokulem [75]. Filtrační sáčky F 57 jsou speciálně navrženy tak, aby byla zajištěna maximální propustnost bez ztráty částic s pórovitostí 50 mikrometrů. Filtrační sáčky F 57 jsou bezdusíkaté, bez obsahu popela a jsou schopné odolat působení 72 % kyseliny sírové [78].



Obrázek 10: Filtrační sáčky F 57 [78]

Výhoda Daisy inkubátoru při stanovení stravitelnosti spočívá v přesnosti, protože dochází k minimalizaci vlivu obsluhy na variabilitu výsledků. Dalšími výhodami jsou účinnost, minimum manipulačního prostoru a celkové zjednodušení procesu stanovení stravitelnosti oproti klasickým metodám [75], [76], [77].

4.2 Stanovení stravitelnosti dusíkatých látek

Při stanovení stravitelnosti dusíkatých látek se v první fázi postupuje stejně jako v případě stanovení stravitelnosti s pomocí inkubátoru Daisy. Rozdíl spočívá v tom, že po provedení enzymatické hydrolýzy v inkubátoru Daisy se vzorky vysuší, dochází k mineralizaci vzorků mokrou cestou a následně ke stanovení dusíkatých látek metodou podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera s použitím automatické destilační jednotky Pro Nitro.

Při stanovení stravitelnosti dusíkatých látek s použitím Pro Nitro bylo v první fázi postupováno dle metodiky: Stanovení stravitelnosti dusíkatých látek pepsin-celulázovou metodou užitím Daisy inkubátoru, jejímž autorem je J. Třináctý [73] s úpravou pro stanovení stravitelnosti řas dle zdroje [74], následně bylo postupováno podle metodiky: Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (Stanovení metodou podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera).

Stanovení stravitelnosti s pomocí inkubátoru Daisy je popsáno v kapitole 4.1.

Při metodě stanovení celkového obsahu dusíku podle Kjeldahla jsou organicky vázané dusíkaté látky nejprve mineralizovány mokrou cestou působením kyseliny sírové a převedeny na síran amonný. Rozklad je urychlován zvýšením teploty varu a použitím katalyzátoru. Všechnen dusík přítomný buď jako bílkovina nebo aminokyselina ve formě aminoskupiny nebo iminoskupiny se tak mineralizací převede na síran amonný [79].

Úprava podle Winklera spočívá v tom, že se ze síranu amonného, získaného mineralizací bílkovinného materiálu podle Kjeldahla, uvolní amoniak koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného. Vzniklý amoniak se predestiluje vodní parou v destilačním přístroji (automatická destilační jednotka Pro Nitro) do roztoku kyseliny orthoborité. Vzniklý boritan sodný se titruje odměrným roztokem kyseliny sírové nebo kyseliny chlorovodíkové. Obsah dusíku se získá přepočítáním z množství spotřebované kyseliny [79]. Tuto operaci provádí automatická destilační jednotka Pro Nitro automaticky.

Množství dusíku ve vzorcích podrobených hydrolytickému působení enzymů je přepočítáno s pomocí navážky, množství dusíku v nehydrolyzovaných vzorcích a s pomocí přepočítávacího koeficientu, a je vyjádřeno ve formě koeficientu stravitelnosti v procentech (viz kapitola 6.7).

4.2.1 Automatická destilační jednotka Pro Nitro

Automatická destilační jednotka Pro Nitro slouží ke stanovení organického dusíku podle Kjeldahla. Distributorem tohoto analyzátoru je Biotrade s.r.o. [80].

Tento analyzátor provádí titraci s kolorimetrickou detekcí v průběhu destilace, což umožňuje větší přesnost výsledků. Pro Nitro provádí dávkování kyseliny borité, dávkování hydroxidu sodného, nepřetržitou kolorimetrickou titraci v průběhu destilace, automatické zjištění bodu ekvivalence, vyprázdnění destilační zkumavky, vyprázdnění předlohy, a uchovává parametry pro nastavení dávky hydroxidu sodného, kyseliny borité a koncentrace titračního činidla [81].



Obrázek 11: Automatická destilační jednotka Pro Nitro [80]

Součástí Pro Nitro jsou zásobníky na vodu (pro vývoj páry), hydroxid sodný, kyselinu boritou a doporučené titrační činidlo (kyselina chlorovodíková nebo kyselina sírová). Pro Nitro má také nainstalovány bezpečnostní systémy a alarmy pro zajištění bezpečného provozu. Reagencie potřebné k provozu Pro Nitro jsou 30 hm. % hydroxid sodný ($c = 30-40$ hm. %), kyselina boritá s indikátorem ($c = 4$ hm. %) a kyselina chlorovodíková pro titraci. Pro Nitro umožňuje analýzy pro obsah dusíku 0,1 až 200 mg, přičemž je rychlost analýzy cca 6 minut [81].

4.3 Stanovení sušiny

Obsah sušiny nebo vody je základní charakteristickou hodnotou, protože standardizované normy pro jednotlivé výrobky předepisují buď nejnižší obsah sušiny nebo nejvyšší obsah vody [79].

Sušinou se rozumí zbytek po vysušení vzorku za stanovených podmínek nebo do konstantní hmotnosti. Suší se při teplotách 100 až 150 °C v elektrických sušárnách [82], [83]. Ke stanovení lze použít vysušenou a zváženou hliníkovou vysoušečku nebo porcelánový kelímek [79].



Obrázek 12: Laboratorní sušárna Venticell 111-Komfort [84]

V běžné analytické praxi se nejčastěji používají nepřímé metody. U těchto metod se voda a mnohé těkavé látky odstraňují z analyzovaného materiálu sušením za definovaných podmínek. Jedná se o metody gravimetrické, které jsou založeny na zjišťování úbytku hmotnosti vlivem sušení [79].

Metody používané ke stanovení sušiny jsou vesměs definiční nebo uzanční. Dle zdroje [79] lze metody rozdělit do několika skupin podle zvoleného postupu a pracovního principu.

- Metody, při nichž se navážka vzorku vysouší při konstantní teplotě v sušárně v přesně vymezených podmínkách. Úbytek hmotnosti se pak zjišťuje vážením. Mezi tyto metody patří metody přesné, které se zároveň řadí mezi metody rozhodčí.
- Metody, které používají k vysoušení vyšších teplot nebo i jiných zdrojů tepla (např. kahan, vařič, lampy s infračerveným zářením). Úbytek hmotnosti se také zjišťuje vážením. Tyto metody patří mezi metody technické a provozní, u nichž je nižší nárok na reprodukovatelnost, ale jsou rychlejší. Zároveň se tyto metody řadí mezi metody uzanční a vysoušení proto musí probíhat podle předem vymezených podmínek.
- Nepřímé metody určující obsah sušiny z jiných fyzikálně-chemických hodnot nebo vlastností korespondujících s obsahem sušiny. Patří zde například výpočtové metody, metody založené na měření difrakce, dielektrických vlastností, absorpce různých druhů elektromagnetického záření.
- Jiné metody, mezi které lze zařadit například stanovení obsahu vody podle Fischera nebo destilační metody s xylenem [79].

Přesné vázkové metody jsou metody rozhodčí, definiční (uzanční), při nichž se navážka vzorku vysouší v předepsaném intervalu teplot a při dodržování předepsaných podmínek buď do konstantní hmotnosti kontrolované v daných časových intervalech, nebo po přesně stanovenou dobu.

Při realizaci praktické části této diplomové práce byla využita přesná vázková metoda, konkrétně metoda používající vysoušení navážky 1 g po přesně stanovenou dobu, tj. 24 hodin při teplotě 103 ± 2 °C. Změna hmotnosti navážky během sušení se u této metody přepočítá na procentový obsah sušiny [79].

4.4 Stanovení popela

Pod pojmem popel se rozumí množství nespalitelných anorganických látek, které zůstanou po spálení zkoumaného vzorku [85]. Zkoumané vzorky se žíhají v porcelánových kelímcích, které je nutno před použitím vyčistit a vyžít do konstantní hmotnosti při stejné teplotě, při které se budou vzorky žíhat [82], [83].



Obrázek 13: Spalovací kelímky [86]

Stanovení popela spolu se stanovením tzv. písku jsou konvenční metody, které podávají ne příliš přesné informace o celkovém množství minerálních látek v daném materiálu. U popela lze stanovovat vázkově jeho obsah, dále je možno stanovit rozpustný popel konduktometrickou metodou, alkalitu popela nebo lze vázkově stanovit podíl popela nerozpustného v 10 % roztoku kyseliny chlorovodíkové (tzv. písek) [79].

Při realizaci praktické části této diplomové práce bylo provedeno vázkové stanovení popela, kdy se popel stanoví opatrným zuhelnatěním a vyžítáním látky v předem vyžítané a zvážené spalovací misce (kelímku). Při stanovení potravinářských materiálů se nejčastěji žíhá při teplotě 550 °C v muflové peci do konstantní hmotnosti. Podíl látky, který zůstane po vyžítání, se ochladí, zváží a vyjádří v hmotnostních procentech [79].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo zjistit vliv dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost. Stravitelnost byla stanovena metodou *in vitro* po enzymatické hydrolyze, při které byly použity enzymy pepsin a pankreatin, s použitím inkubátoru Daisy. Rovněž bylo provedeno stanovení stravitelnosti dusíkatých látek. Pro stanovení stravitelnosti bylo nutno též stanovit obsah sušiny a popela ve vzorcích.

Hodnoty stravitelnosti byly vyjádřeny v hodnotách DMD_R a OMD_R , které označují stravitelnost sušiny (DMD_R) a stravitelnost organické hmoty (OMD_R), v procentech a byly přepočteny s ohledem na stravitelnost referenčního proteinu kaseinu, jež je považována za 100%-ní. Stravitelnost dusíkatých látek byla vyjádřena jako koeficient stravitelnosti v procentech.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Použitý materiál

Pro stanovení byly použity čtyři lyofilizované vzorky sladkovodních řas a jeden lyofilizovaný vzorek, který se řadí mezi sinice. Všechny vzorky pochází z Ústavu fyzikální biologie JČU ČB v Nových Hradech. Názvy vzorků a jejich charakteristiky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 4: Charakteristika zkoumaných vzorků

Sinice		<i>Spirulina platensis</i>
Zelená řasa		<i>Chlorella kessleri</i>
Zelená řasa		kmen K2
Zelené řasy	směsný kmen	<i>Scenedesmus quadricauda</i> + kmen K1 (60 + 40) %
Zelená řasa		<i>Scenedesmus quadricauda</i>

Zelené řasy označené jako kmen K1 a kmen K2 patří mezi zelené kokální řasy, jejichž taxonomická klasifikace nebyla zatím provedena. Jedná se o laboratorními kmeny, které byly k výzkumu použity z důvodu zkoumání možnosti jejich budoucího potravinářského využití.

6.2 Použité pomůcky, přístroje a chemikálie

6.2.1 Seznam použitých laboratorních pomůcek

Při realizaci praktické části této diplomové práce byly použity následující laboratorní pomůcky:

- běžné laboratorní pomůcky a sklo,
- hliníkové vysoušecí misky s víčky,
- exsikátor,
- spalovací porcelánové kelímky,
- filtrační sáčky F57 (velikost pórů 50 μm , ANKOM Technology),

- mineralizační zkumavky.

6.2.2 Seznam použitých přístrojů

Při realizaci praktické části této diplomové práce byly použity následující přístroje:

- analytické váhy Pro Explorer EP 214CM (Mettler Toledo, ČR),
- oscilační kulový mlýn MM 301 (Retch, ČR),
- sušárna Venticell 111 – Komfort (BMT ČR),
- Daisy inkubátor (ANKOM Technology, New York),
- elektrická muflová pec 018LP (Elektrické pece Svoboda, ČR),
- ruční páková svářečka PENTA KF-400HC (ANKOM Technology, New York),
- promývací a extrakční jednotka pro neutralizaci par Bloc digest (Biotrade, ČR),
- automatická destilační jednotka Pro Nitro A (Biotrade, ČR).

6.2.3 Seznam použitých chemikálií

Při realizaci praktické části této diplomové práce byly použity následující chemikálie:

- HCl – 35 % p.a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- KH_2PO_4 p.a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- aceton p.a., Ing. Petr Švec, Penta, Chrudim,
- H_2SO_4 - 96 % p.a., Ing. Petr Švec, Penta, Chrudim,
- H_2O_2 – 30 % p.a., Ing. Petr Švec, Penta, Chrudim,
- Na_2SO_4 p.a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- NaOH p.a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- H_3BO_3 p.a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- mixed indicator 5 solution p.a., Fluka Analytical.

6.2.4 Seznam použitých enzymů a dalších látek

Při realizaci praktické části této diplomové práce byly použity následující enzymy a jiné látky:

- enzym pepsin (z vepřové žaludeční sliznice, 0,7 FIP-U/g, Merck KGaA, Německo),
- enzym pankreatin (z vepřové slinivky, proteázová aktivita 350 FIP-U/g, lipázová aktivita 6000 FIP-U/g, amylázová aktivita 7500 FIP-U/g, Merck KGaA, Německo),
- protein kasein (Sigma Aldrich Corp.).

6.3 Dezintegrace

Dezintegrace byla provedena u vzorků sladkovodních řas, které ve své buněčné stěně obsahují celulózu, tj. *Chlorella kessleri*, kmen K2, *Scenedesmus* + K1 (60 + 40) % a *Scenedesmus quadricauda*. Pro dezintegraci byl použit oscilační kulový mlýn MM 301. Proces dezintegrace byl prováděn při intenzitě 25 Hz po dobu 7 minut, přičemž doba i délka dezintegrace byly stanoveny experimentálně na základě mikroskopického pozorování stupně dezintegrace buněčných stěn.

6.3.1 Pracovní postup

Do obou mlecích nádobek bylo nasypáno cca 0,5 – 1 g (1 lžička) vzorku sladkovodních řas, ke vzorku byla přidána ocelová kulička o průměru 20 mm a obě nádobky byly pevně uzavřeny a upevněny do určených poloh oscilačního kulového mlýna. Následně byla prováděna dezintegrace při intenzitě 25 Hz po dobu 7 minut. Po skončení dezintegrace byly nádobky uvolněny a otevřeny, byly opatrně odstraněny mlecí kuličky a dezintegrováný materiál byl pečlivě seškrabán ze stěn mlecích nádobek a převeden do jiné nádobky.

6.4 Stanovení sušiny

Vzorky sladkovodních řas byly sušeny při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Gravimetricky byl zjištěn rozdíl mezi hmotnostmi vzorku před sušením a po vysušení. Z rozdílu byl vypočítán obsah sušiny v procentech dle vzorce (1).

$$S = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100 \quad (1)$$

kde

S . . . obsah sušiny [%]

m_1 . . . hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

m_2 . . . hmotnost vysušené prázdné misky [g]

m . . . hmotnost navážky vzorku [g]

6.4.1 Pracovní postup

Hliníkové vysoušecí misky i s víčky byly nejprve označeny a předsušeny v sušárně při teplotě 103 ± 2 °C. Po 60 minutách byly misky i s víčky přemístěny do exsikátoru a po vychladnutí zváženy s přesností na 0,0001 g. Poté byl do misek navážen 1 g vzorku taktéž s přesností na 0,0001 g. Každý ze vzorků byl kvůli reprodukovatelnosti navážen čtyřikrát. Otevřené misky i s víčky byly následně sušeny při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Po vychladnutí misek v exsikátoru bylo provedeno vážení misek s příslušnými víčky s přesností na 0,0001 g.

6.5 Stanovení popela

Zkoumané vzorky byly spalovány v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu pěti hodin. Byla zjištěna hmotnost před a po spálení a z tohoto rozdílu byl vypočítán obsah popela ve zkoumaných vzorcích pomocí vzorce (2):

$$P = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100 \quad (2)$$

kde

P . . . obsah popela ve vzorku [%],

m_1 . . . hmotnost spalovacího kelímku se vzorkem po spálení [g],

m_2 . . . hmotnost prázdného vyžíhaného spalovacího kelímku [g],

m . . . hmotnost navážky vzorku [g].

6.5.1 Pracovní postup

Prázdné spalovací kelímky byly pečlivě označeny a žihány v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu jedné hodiny. Po vychladnutí v exsikátoru byly kelímky zváženy na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Následně byl do zvážených kelímků navážen 1 g vzorku také s přesností na 0,0001 g. Každý ze vzorků byl kvůli reprodukovatelnosti navážen čtyřikrát. Kelímky se vzorky byly umístěny do pece a spalovány při 550 °C pět hodin. Po uplynutí doby a vytažení z pece byly kelímky vloženy do exsikátoru k vychladnutí. Poté byly kelímky zváženy na analytických vahách s přesností na 0,0001 g.

6.6 Stanovení stravitelnosti pomocí inkubátoru Daisy

U vzorků sladkovodních řas proběhlo stanovení stravitelnosti metodou *in vitro* s pomocí inkubátoru Daisy. Vzorky včetně prázdného zataveného sáčku určeného ke korekci byly podrobeny enzymatické hydrolyze. Enzymatická hydrolyza zahrnovala hydrolyzu pepsinem, pankreatinem a kombinovanou hydrolyzu nejprve pepsinem a následně také pankreatinem. Společně se vzorky byl enzymatické hydrolyze podroben také referenční protein kasein, jehož stravitelnost je považována za stoprocentní. Hodnoty stravitelnosti, které byly vyjádřeny jako stravitelnost sušiny (DMD) a stravitelnost organické hmoty (OMD), byly vyjádřeny v procentech.

Stravitelnost sušiny (DMD) byla vypočtena podle rovnice (3). K výpočtu stravitelnosti sušiny je nutno stanovit i DMR z rovnice (4), DM z rovnice (5) a c_1 z rovnice (6).

$$DMD = 100 - \frac{100 \cdot DMR}{m_2 \cdot DM} \quad (3)$$

$$DMR = m_3 - m_1 \cdot c_1 \quad (4)$$

$$DM = \frac{S \cdot m_s}{100} \quad (5)$$

$$c_1 = \frac{m_i}{m_1} \quad (6)$$

Stravitelnost organické hmoty (OMD) byla vypočtena podle níže uvedené rovnice (7). K výpočtu stravitelnosti organické hmoty je nutno stanovit i DMR z rovnice (4), AR z rovnice (8), DM z rovnice (5), OM z rovnice (9) a c_2 z rovnice (10).

$$OMD = 100 - \frac{100 \cdot (DMR - AR)}{m_2 \cdot DM \cdot OM} \quad (7)$$

$$AR = m_4 - m_1 \cdot c_2 \quad (8)$$

$$OM = \frac{S - P}{100} \quad (9)$$

$$c_2 = \frac{m_m}{m_1} \quad (10)$$

Kde

DMDstravitelnost sušiny [%],

OMDstravitelnost organické hmoty [%],

DMRhmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (bez sáčku) [g],

DM obsah sušiny ve vzorku [g],

OM obsah organické hmoty v sušině vzorku [g],

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

S obsah sušiny ve vzorku [%],

P obsah popele ve vzorku [%],

*m*₁ hmotnost prázdného sáčku [g],

*m*₂ navážka vzorku [g],

*m*₃ hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a vysušení [g],

*m*₄ hmotnost vzorku a sáčku po inkubaci a mineralizaci [g],

*m*_S navážka vzorku pro stanovení sušiny [g],

*m*_i hmotnost vysušeného sáčku po inkubaci [g],

*m*_m hmotnost sáčku po mineralizaci [g],

*c*₁ korekce hmotnosti sáčku po inkubaci,

*c*₂ korekce hmotnosti sáčku po mineralizaci.

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD) a hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD) byly přepočítány s ohledem na stravitelnost referenčního proteinu kaseinu, jež je považována za 100%-ní. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD) jsou přepočítány podle rovnice (11) a hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD) jsou přepočítány podle rovnice (12).

$$DMD_R = \frac{DMD_V}{DMD_K} \cdot 100 \quad (11)$$

$$OMD_R = \frac{OMD_V}{OMD_K} \cdot 100 \quad (12)$$

Kde

DMD_R stravitelnost sušiny vzorku vztažená ke kaseinu [%],

DMD_V stravitelnost sušiny vzorku [%],

DMD_K stravitelnost sušiny kaseinu [%],

OMD_R stravitelnost organické hmoty vztažená ke kaseinu [%],

OMD_V stravitelnost organické hmoty vzorku [%],

OMD_K stravitelnost organické hmoty kaseinu [%].

6.6.1 Pracovní postup při hydrolýze pepsinem

Filtrační sáčky byly krátce namočený v acetonu (cca 3 až 5 minut), byly ponechány volně v digestoři na filtračním papíru k dokonalému vyschnutí a poté řádně označeny. Do vysušených sáčků bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Sáčky se vzorky byly zataveny společně s prázdným sáčkem, který slouží ke korekci hmotnosti. Sáčky byly vloženy do inkubačních lahví a bylo k nim přidáno vypočtené množství pepsinu. Navážka 3 g pepsinu odpovídá navážce 6 g vzorku v inkubační láhvi (24 sáčků se vzorky); při nižším počtu sáčků je nutno navážku pepsinu přepočítat na použitou hmotnost vzorků. Do každé inkubační láhve bylo k sáčkům a pepsinu přidáno 1700 ml roztoku 0,1 M HCl vytemperovaného na 40 °C. Lahve byly pečlivě uzavřeny a umístěny do inkubátoru Daisy, kde probíhala inkubace 24 hodin při teplotě 40 °C. Po uplynutí 24 hodin byly inkubační lahve vyjmuty z inkubátoru. Do inkubačních lahví byla nalita destilovaná voda a sáčky jí byly opatrně propláchnuty. Proplachování bylo provedeno opakovaně, dokud destilovaná voda po proplachu nebyla čirá. Propláchnuté sáčky byly rozmístěny na filtrační papír a pomocí dalšího filtrační-

ho papíru byla odstraněna přebytečná voda. Následně byly sáčky sušeny při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Po usušení a ochlazení v exsikátoru byly sáčky zváženy s přesností na 0,0001 g. Poté byly sáčky umístěny do označených, vyžíhaných a zvážených spalovacích kelímků a mineralizovány v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5 hodin. Po uplynuté době byly kelímky s popelem umístěny do exsikátoru a zváženy s přesností na 0,0001 g.

6.6.2 Pracovní postup při hydrolyze pankreatinem

Filtrační sáčky byly krátce namočeny v acetonu (cca 3 až 5 minut), byly ponechány volně v digestoři na filtračním papíru k dokonalému vyschnutí a poté řádně označeny. Do vysušených sáčků bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Sáčky se vzorky byly zataveny společně s prázdným sáčkem sloužícím ke korekci hmotnosti. Sáčky byly vloženy do inkubačních lahví a bylo k nim přidáno vypočtené množství pankreatinu. Navážka 3 g pankreatinu odpovídá navážce 6 g vzorku v inkubační láhvi (24 sáčků se vzorky); při nižším počtu sáčků je nutno navážku pankreatinu přepočítat na použitou hmotnost vzorků. Jako inkubační roztok byl použit fosfátový pufr, který byl připraven rozpuštěním KH_2PO_4 ($9,078 \text{ g.l}^{-1}$) a $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ ($23,889 \text{ g.l}^{-1}$) v poměru 2 : 8. Hodnota pH pufru byla upravena hydroxidem sodným na 7,45. Do každé inkubační lahve bylo k sáčkům a pankreatinu přidáno 1700 ml inkubačního roztoku – fosfátového pufru vytemperovaného na 40 °C. Lahve byly pečlivě uzavřeny a umístěny do inkubátoru Daisy, kde probíhala inkubace 24 hodin při teplotě 40 °C. Po uplynutí 24 hodin byly inkubační lahve vyjmuty z inkubátoru. Do inkubačních lahví byla nalita destilovaná voda a sáčky jí byly opatrně propláchnuty. Proplachování bylo provedeno opakovaně, dokud destilovaná voda po proplachu nebyla čirá. Propláchnuté sáčky byly rozmístěny na filtrační papír a pomocí dalšího filtračního papíru byla odstraněna přebytečná voda. Následně byly sáčky sušeny při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Po usušení a ochlazení v exsikátoru byly sáčky zváženy s přesností na 0,0001 g. Poté byly sáčky umístěny do označených, vyžíhaných a zvážených spalovacích kelímků a mineralizovány v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5 hodin. Po uplynuté době byly kelímky s popelem umístěny do exsikátoru a zváženy s přesností na 0,0001 g.

6.6.3 Pracovní postup při kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

Při kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem byla provedena nejdříve hydrolyza pepsinem podle pracovního postupu uvedeného v kapitole 6.6.1. Po 24 hodinové inkubaci a proplachu byly sáčky vloženy opět do inkubačních lahví a následovala hydrolyza pankreatinem podle pracovního postupu uvedeného v kapitole 6.6.2. Po 24 hodinové inkubaci a proplachu bylo provedeno usušení a spálení sáčků podle výše uvedených postupů.

6.7 Stanovení stravitelnosti dusíkatých látek

U vzorků sladkovodních řas bylo provedeno stanovení stravitelnosti dusíkatých látek. Nejprve byla provedena enzymatická hydrolyza s pomocí inkubátoru Daisy podle předchozích postupů 6.6.1, 6.6.2 a 6.6.3, kde byly vzorky podrobeny enzymatické hydrolyze pepsinem, pankreatinem a kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem. Společně se vzorky byly též podrobeny hydrolyze prázdne zatavené filtrační sáčky, které později posloužily k výpočtu korekce hmotnosti. Zatavené sáčky s naváženými vzorky byly vloženy do inkubačních lahví, byl k nim přidán příslušný enzym a příslušný inkubační roztok. Vzorky byly hydrolyzovány po dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby byly sáčky vyjmuty a vysušeny. Následně byl stanoven celkový obsah dusíkatých látek metodou podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera s využitím automatické destilační jednotky Pro Nitro. Výsledky byly vyjádřeny jako koeficient stravitelnosti v procentech.

Koeficient stravitelnosti (K_S) lze vypočítat podle níže uvedené rovnice (13). K výpočtu koeficientu stravitelnosti je nutno stanovit obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích (NL_N), viz rovnice (14), a obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích (NL_H), viz rovnice (15).

$$K_S = \frac{NL_N - NL_H}{NL_N} \cdot 100 \quad (13)$$

$$NL_N = \frac{N_N}{m_{NL}} \cdot f \cdot 100 \quad (14)$$

$$NL_H = \frac{N_H}{m_{NL}} \cdot f \cdot 100 \quad (15)$$

Kde

K_S koeficient stravitelnosti [%],

N_{LN} obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích [%],

N_{LH} obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích [%],

N_N obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v nehydrolyzovaných vzorcích [mg],

N_H obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v hydrolyzovaných vzorcích [mg],

m_{NL} navážka vzorku pro analýzu [mg],

f přepočítávací faktor ($f = 6,25$).

6.7.1 Pracovní postup

Nejprve byly vzorky hydrolyzovány pepsinem, pankreatinem nebo kombinovaně hydrolyzovány pepsinem a pankreatinem. Při hydrolyze bylo postupováno dle pracovních postupů uvedených v kapitolách 6.6.1, 6.6.2 a 6.6.3. Po uplynutí 24 hodin inkubace v inkubátoru Daisy byly inkubační lahve z inkubátoru vyjmuty. Do inkubačních lahví byla nalita destilovaná voda a sáčky jí byly opatrně propláchnuty. Proplachování trvalo do chvíle dokud destilovaná voda po proplachování nebyla čirá. Propláchnuté sáčky byly rozmístěny na filtrační papír a pomocí dalšího filtračního papíru byla odstraněna přebytečná voda. Následně byly sáčky krátce sušeny při teplotě 103 ± 2 °C cca 1 hodinu.

Další fází stanovení dusíkatých látek byla mineralizace vzorků mokrou cestou. Prosušené sáčky byly složeny a vloženy na dno mineralizačních zkumavek. Do mineralizačních zkumavek bylo k sáčkům v digestoři přidáno 10 ml koncentrované H_2SO_4 , 1 ml H_2O_2 a cca 3 g směsného katalyzátoru složeného z Na_2SO_4 a $CuSO_4$ v poměru 10 : 1. Mineralizační zkumavky byly vloženy na topnou desku mineralizátoru Bloc digest 12 s přídatným zařízením pro odsávání par vznikajících zplodin. Teplota ohřevu byla nastavena na 400 °C. Při této teplotě probíhala mineralizace do té doby, dokud obsah mineralizačních zkumavek neměl světle žluté nebo světle zelené zbarvení, což trvalo zpravidla 2 hodiny. Po skončení mineralizace byly zkumavky přemístěny do stojanu na cca 30 minut k ochlazení. Poté byla

do mineralizačních zkumavek doplněna destilovaná voda na objem 25 ml a obsah zkumavek byl protřepán.

Poslední fází stanovení celkového obsahu dusíkatých látek bylo stanovení metodou podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera, kdy ke stanovení byla použita automatická destilační jednotka Pro Nitro. Při měření bylo postupováno podle návodu k použití od výrobce automatické destilační jednotky Pro Nitro. Výsledkem měření byla hodnota dusíku ve vzorku uvedená v mg a z ní byl následně vypočítán obsah dusíkatých látek s použitím přepočítávacího faktoru 6,25.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Statistické vyhodnocení bylo provedeno podle Studentova rozdělení pro čtyři stupně volnosti na hladině významnosti 5 %.

7.1 Sušina

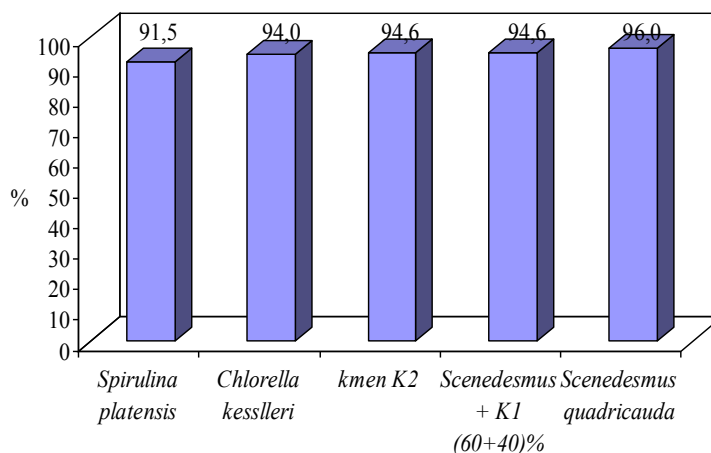
Obsah sušiny byl stanoven dle metodiky uvedené v kapitole 6.4. V tabulce č. 5 jsou uvedeny hodnoty obsahů sušiny u zkoumaných vzorků sladkovodních řas v procentech.

Tabulka 5: Obsah sušiny ve vybraných druzích sladkovodních řas

Vzorek	Sušina [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)
<i>Spirulina platensis</i>	91,48 \pm 0,20
<i>Chlorella kessleri</i>	94,00 \pm 0,13
kmen K2	94,57 \pm 0,42
<i>Scenedesmus</i> + K1	94,57 \pm 0,19
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	96,03 \pm 0,03

U všech zkoumaných vzorků byly zjištěny vysoké hodnoty obsahu sušiny, které se pohybovaly v rozmezí 91,5 % až 96,0 %. Nejnižší obsah sušiny byl zaznamenán u sinice *Spirulina platensis*, nejvyšší hodnota obsahu sušiny byla zjištěna u řasy *Scenedesmus quadricauda*. Hodnoty obsahu sušiny zbylých tří vzorků se pohybovaly okolo 94,0 % až 94,6 %.

Grafické znázornění obsahů sušiny u zkoumaných vzorků je uvedeno v grafu č. 14.



Obrázek 14: Obsah sušiny u zkoumaných vzorků

7.2 Popel

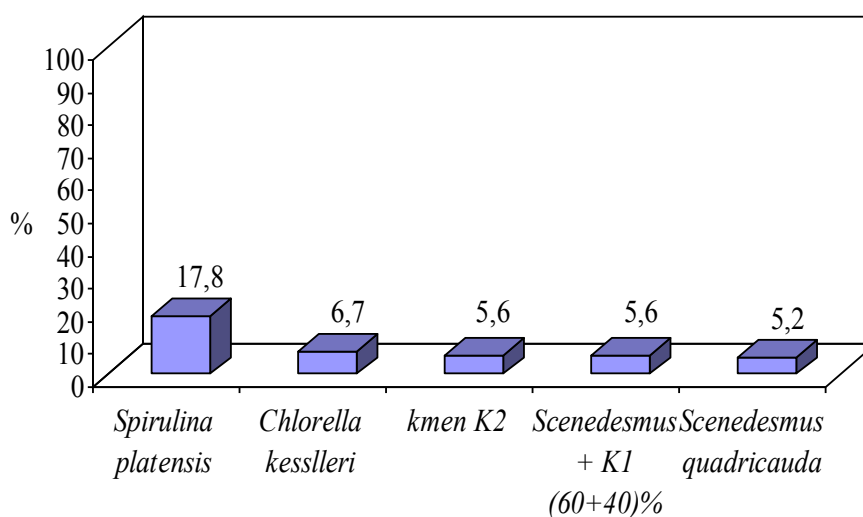
Obsah popela byl stanoven dle metodiky uvedené v kapitole 6.5. V tabulce č. 6 jsou uvedeny hodnoty obsahů popela u zkoumaných vzorků sladkovodních řas v procentech.

Tabulka 6: Obsah popela ve vybraných druzích sladkovodních řas

Vzorek	Popel [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)
<i>Spirulina platensis</i>	17,81 \pm 0,54
<i>Chlorella kessleri</i>	6,72 \pm 0,79
kmen K2	5,57 \pm 0,29
<i>Scenedesmus</i> + K1	5,63 \pm 0,25
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	5,24 \pm 0,17

Z tabulky lze vyčíst, že obsah popela se ve většině případů pohybuje od 5,2 % do 6,7 %. Nejnižší hodnotu vykazuje řasa *Scenedesmus quadricauda*. Hodnota obsahu popela se však výrazně odlišuje v případě sinice *Spirulina platensis*, která je ze všech nejvyšší a dosahuje 17,8 %. Tento vysoký obsah popela může poukazovat na vysoký obsah minerálních látek.

Grafické znázornění obsahů popela u zkoumaných vzorků je uvedeno v grafu č. 15.



Obrázek 15: Obsah popela u zkoumaných vzorků

7.3 Stravitelnost

Stravitelnost vybraných druhů sladkovodních řas byla stanovena metodou *in vitro* s pomocí inkubátoru Daisy. Při zjištění stravitelnosti bylo postupováno dle metodiky popsané v kapitole 6.6. Výsledky byly vyjádřeny v hodnotách DMD_R a OMD_R , které označují stravitelnost sušiny (DMD_R) a stravitelnost organické hmoty (OMD_R), v procentech a byly přepočteny s ohledem na stravitelnost referenčního proteinu kaseinu, jež je považována za 100 %-ní.

7.3.1 Hydrolýza pepsinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pepsinu. Vyhodnocení stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) je provedeno jak u nedezintegrováných vzorků řas, tak i u dezintegrováných vzorků. Následně je také provedeno srovnání účinku dezintegrace na stravitelnost sušiny a organické hmoty při použití pepsinu.

7.3.1.1 Nedezintegrované vzorky

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u nedezintegrováných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pepsinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 7 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

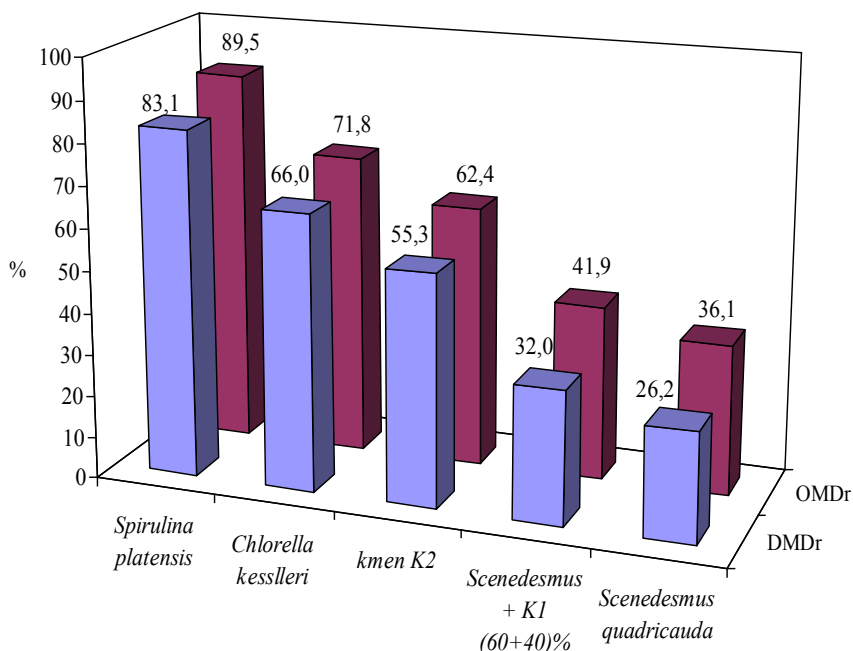
Tabulka 7: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolýze pepsinem u nedezintegrováných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD_R	OMD_R
<i>Spirulina platensis</i>	83,1 ± 1,1	89,5 ± 0,8
<i>Chlorella kessleri</i>	66,0 ± 5,4	71,8 ± 4,8
kmen K2	55,3 ± 0,3	62,4 ± 0,1
<i>Scenedesmus</i> + K1	32,0 ± 0,8	41,9 ± 0,5
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	26,2 ± 1,3	36,1 ± 1,4

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) i hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD_R) jsou velmi různorodé. Stravitelnost sušiny (DMD_R) se pohybuje v rozmezí 26,2 % a 83,1 %. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší hodnoty vykazovala řasa *Scenedesmus quadricauda*. Stravitelnost organické hmoty (OMD_R) se pohybovala

v rozmezí hodnot 36,1 % u řasy *Scenedesmus quadricauda* a 89,5 % u sinice *Spirulina platensis*. Nejvyšší stravitelnost u sinice *Spirulina platensis* je dána složením její mukopolysacharidové buněčné stěny, která je lehce rozložitelná enzymy, zatímco buněčná stěna řasy *Scenedesmus quadricauda* se působením enzymu téměř nerozkládá, protože je tvořena celulórou a velmi pevným sporopoleninem.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty u nedezintegrováných vzorků po hydrolyze pepsinem vyjadřuje graf č. 16.



Obrázek 16: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u nedezintegrováných vzorků

7.3.1.2 Dezintegrované vzorky

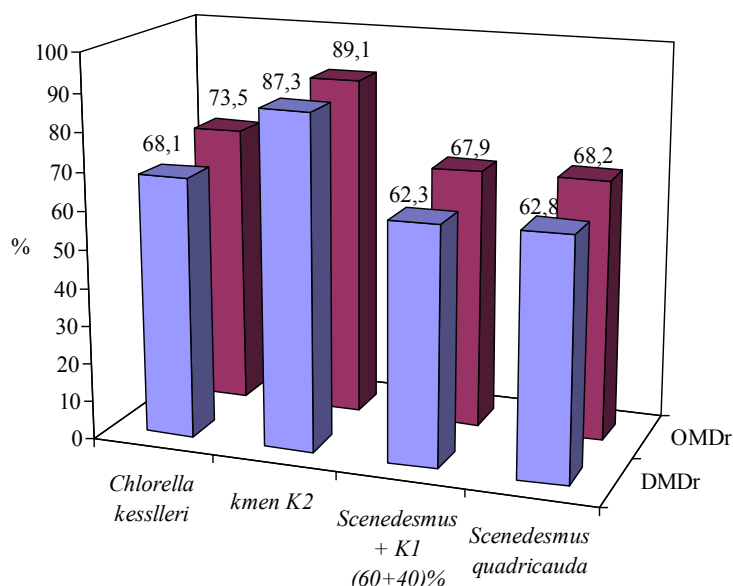
U vzorků zelených sladkovodních řas, které ve svých buněčných stěnách obsahují celulózu, byla provedena dezintegrace. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u dezintegrováných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pepsinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v následující tabulce v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R.

Tabulka 8: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u dezintegrovaných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	68,1 ± 1,1	73,5 ± 1,0
kmen K2	87,3 ± 1,6	89,1 ± 1,4
<i>Scenedesmus</i> + K1	62,3 ± 1,4	67,9 ± 1,4
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	62,8 ± 1,4	68,2 ± 1,1

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) se pohybují v rozmezí 62,3 % a 87,3 %. Nejvyšší hodnota stravitelnosti sušiny, kterou vykazuje řasa s označením kmen K2, se svou výší velmi odlišuje od ostatních dezintegrovaných vzorků sladkovodních řas. Hodnoty ostatních vzorků se pohybují mezi 62,3 % a 68,1 %, z nichž nejméně stravitelný je směsný kmen *Scenedesmus* + K1. Velmi podobnou hodnotu stravitelnosti jako směsný kmen vykazuje i řasa *Scenedesmus quadricauda*. Stravitelnost organické hmoty (OMD_R) nabývala hodnot od 67,9 % do 89,1 %, přičemž nejnižší hodnoty byly zaznamenány u směsného kmene *Scenedesmus* + K1 a řasy *Scenedesmus quadricauda*. Naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna u řasy s označením kmen K2.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty u dezintegrovaných vzorků po hydrolyze pepsinem vyjadřuje graf č. 17.

Obrázek 17: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u dezintegrovaných vzorků

7.3.1.3 Srovnání nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) nedezintegrováných vzorků a dezintegrováných vzorků se liší, v některých případech je tento rozdíl velký. Přehled stravitelností nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků v hodnotách DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem uvádí tabulka č. 9.

Tabulka 9: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u původních a dezintegrováných vzorků

Vzorky		Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
		DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	nedezintegrované	66,0 ± 5,4	71,8 ± 4,8
	dezintegrované	68,1 ± 1,1	73,5 ± 1,0
kmen K2	nedezintegrované	55,3 ± 0,3	62,4 ± 0,1
	dezintegrované	87,3 ± 1,6	89,1 ± 1,4
<i>Scenedesmus</i> + K1	nedezintegrované	32,0 ± 0,8	41,9 ± 0,5
	dezintegrované	62,3 ± 1,4	67,9 ± 1,4
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	nedezintegrované	26,2 ± 1,3	36,1 ± 1,4
	dezintegrované	62,8 ± 1,4	68,2 ± 1,1

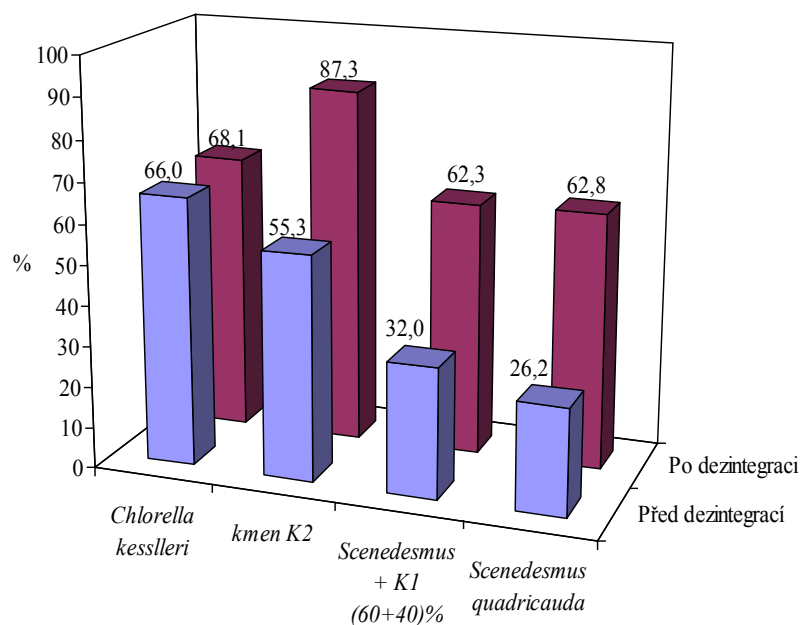
Z tabulky č. 9 je patrné, že ve všech případech byla stravitelnost dezintegrováných vzorků, ať už stravitelnost sušiny (DMD_R) nebo organické hmoty (OMD_R), vyšší než stravitelnost původních vzorků. Tabulka č. 10 uvádí procentuální vyjádření zvýšení stravitelnosti sušiny i organické hmoty po dezintegraci.

Tabulka 10: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem

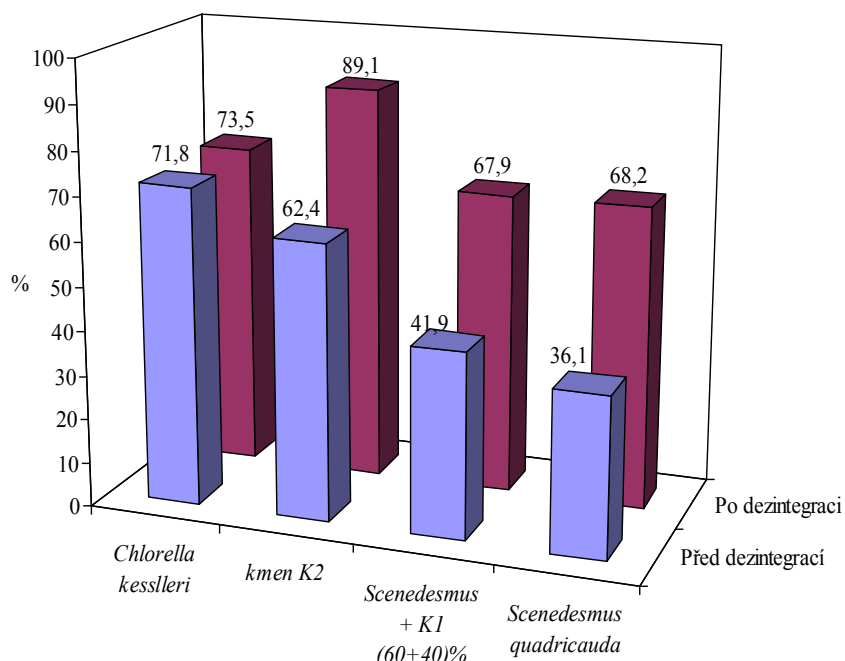
Vzorky	Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci [%]	
	DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	3,1	2,3
kmen K2	36,7	30,0
<i>Scenedesmus</i> + K1	48,6	38,3
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	57,7	47,1

Z tabulky č. 10 lze vyčíst, že se stravitelnost po dezintegraci zvyšovala od 3,1 % do 57,7 % v případě stravitelnosti sušiny (DMD_R) a od 2,3 % do 47,1 % v případě stravitelnosti organické hmoty (OMD_R). Dezintegrace měla nejmenší vliv na řasu *Chlorella kessleri* a nejvíce dezintegrace ovlivnila stravitelnost v případě řasy *Scenedesmus quadricauda*, což může být způsobeno tím, že buněčná stěna řasy *Scenedesmus quadricauda* obsahuje ze všech vzorků nejvíce těžko hydrolyzovatelné celulózy, zatímco řasa *Chlorella kessleri* má v buněčné stěně celulózu zastoupenou v nejmenším množství ze vzorků, které celulózu obsahují.

V grafech č. 18 a 19 je znázorněno srovnání stravitelnosti vzorků sladkovodních řas před a po dezintegraci po hydrolyze pepsinem, jednak v hodnotách DMD_R a jednak v hodnotách OMD_R .



Obrázek 18: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po hydrolyze pepsinem



Obrázek 19: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po hydrolyze pepsinem

7.3.2 Hydrolyza pankreatinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pankreatinu. Vyhodnocení stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) bylo provedeno jak u nedezintegrovaných vzorků řas, tak i u dezintegrovaných vzorků. Následně bylo také provedeno srovnání účinku dezintegrace na stravitelnost sušiny a organické hmoty při použití pankreatinu.

7.3.2.1 Nedezintegrované vzorky

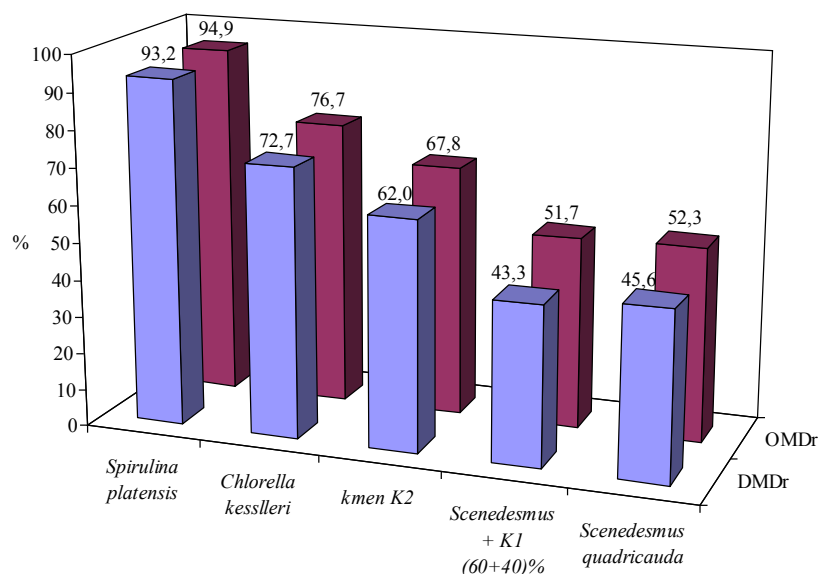
Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u nedezintegrovaných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 11 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

Tabulka 11: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u nedezintegrovaných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD_R	OMD_R
<i>Spirulina platensis</i>	93,2 ± 7,3	94,9 ± 5,1
<i>Chlorella kessleri</i>	72,7 ± 0,8	76,7 ± 0,8
kmen K2	62,0 ± 3,0	67,8 ± 2,5
<i>Scenedesmus</i> + K1	43,3 ± 2,4	51,7 ± 1,7
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	45,6 ± 4,3	52,3 ± 3,7

Stravitelnost sušiny (DMD_R) se pohybovala v rozmezí hodnot od 43,3 % do 93,2 %. Nejnížší stravitelnost vykazoval směsný kmen *Scenedesmus* + K1 a nejvyšší stravitelnost byla naměřena u sinice *Spirulina platensis*. Hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD_R) se pohybovaly v rozmezí od 51,7 % do 94,9 %, přičemž nejnížší hodnoty vykazoval směsný kmen *Scenedesmus* + K1 a nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u sinice *Spirulina platensis*.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty u nedezintegrovaných vzorků po hydrolyze pankreatinem vyjadřuje graf č. 20.



Obrázek 20: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u nedezintegrovaných vzorků

7.3.2.2 Dezintegrované vzorky

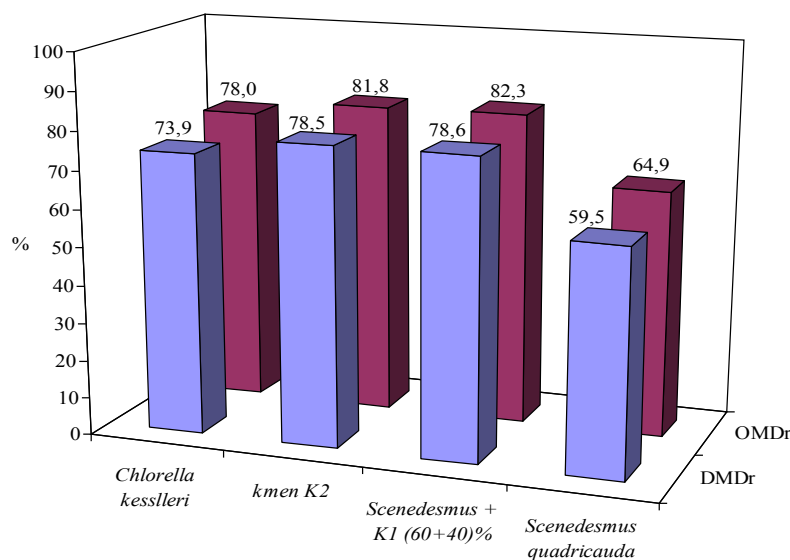
U vzorků zelených sladkovodních řas, které ve svých buněčných stěnách obsahují celulózu, byla provedena dezintegrace. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u dezintegrovaných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 12 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

Tabulka 12: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u dezintegrovaných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	73,9 ± 4,0	78,0 ± 3,3
kmen K2	78,5 ± 1,3	81,8 ± 1,4
<i>Scenedesmus</i> + K1	78,6 ± 2,9	82,3 ± 2,2
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	59,5 ± 4,8	64,9 ± 3,5

Stravitelnost sušiny (DMD_R) se v případě dezintegrovaných vzorků hydrolyzovaných pankreatinem pohybovala mezi 59,5 % a 78,6 %. Nejnižší hodnota, to je 59,5 %, byla zjištěna u řasy *Scenedesmus quadricauda* a výrazně se lišila od ostatních hodnot, které se pohybovaly od 73,9 % do 78,6 %. Nejvyšší hodnoty byly shodně zaznamenány u směsného kmene *Scenedesmus* + K1 a u řasy s označením kmen K2. Stravitelnost organické hmoty se pohybovala v intervalu od 64,9 % do 82,3 %. Nejnižší hodnoty vykazovala řasa *Scenedesmus quadricauda*, nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u řasy s označením kmen K2 a u směsného kmene *Scenedesmus* + K1.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty dezintegrovaných vzorků po hydrolyze pankreatinem je vyjádřeno grafem č. 21.



Obrázek 21: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u dezintegrovanych vzorků

7.3.2.3 Srovnání nedezintegrovanych a dezintegrovanych vzorků

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) nedezintegrovanych vzorků a dezintegrovanych vzorků se liší. U některých druhů řas je tento rozdíl téměř nepatrný, u jiných je rozdíl velký. Přehled stravitelností nedezintegrovanych a dezintegrovanych vzorků v hodnotách DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem uvádí tabulka č. 13.

Tabulka 13: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u nedezintegrovanych a dezintegrovanych vzorků

Vzorky		Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
		DMD _R	OMD _R
<i>Chlorella kessleri</i>	nedezintegrované	72,7 ± 0,8	76,7 ± 0,8
	dezintegrované	73,9 ± 4,0	78,0 ± 3,3
kmen K2	nedezintegrované	62,0 ± 3,0	67,8 ± 2,5
	dezintegrované	78,5 ± 1,3	81,8 ± 1,4
<i>Scenedesmus + K1</i>	nedezintegrované	43,3 ± 2,4	51,7 ± 1,7
	dezintegrované	78,6 ± 2,9	82,3 ± 2,2
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	nedezintegrované	45,6 ± 4,3	52,3 ± 3,7
	dezintegrované	59,5 ± 4,8	64,9 ± 3,5

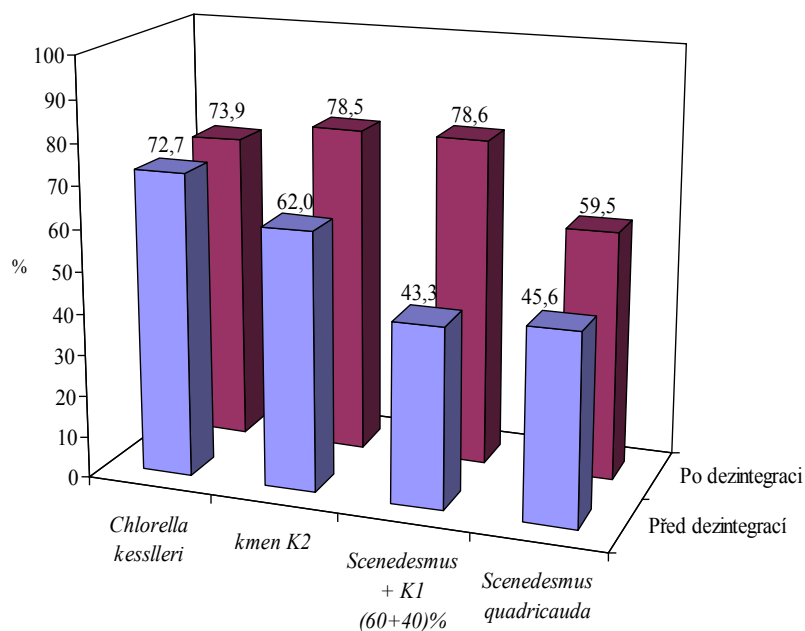
Z tabulky č. 13 je patrné, že ve všech případech byla stravitelnost dezintegrováných vzorků, ať už stravitelnost sušiny (DMD_R) nebo organické hmoty (OMD_R), vyšší než stravitelnost nedezintegrováných vzorků. Tabulka č. 14 uvádí procentuální vyjádření zvýšení stravitelnosti sušiny i organické hmoty po dezintegraci.

Tabulka 14: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem

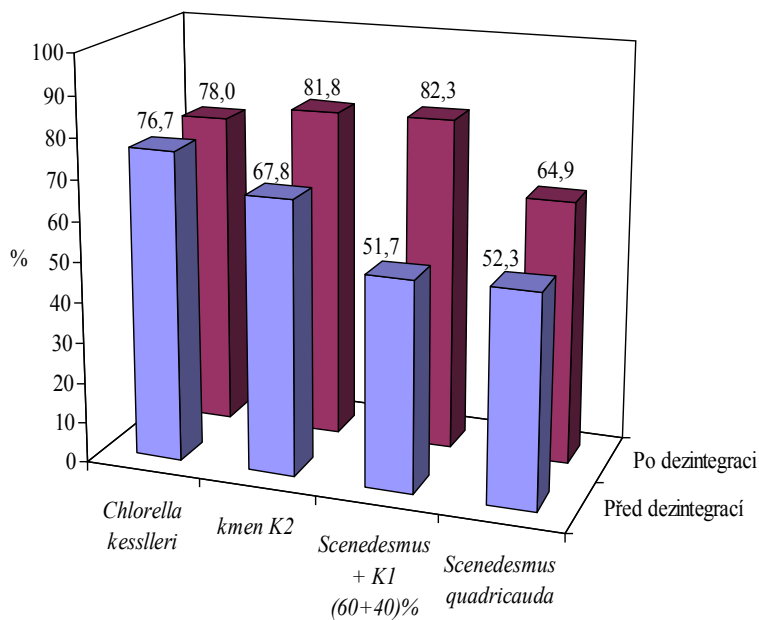
Vzorky	Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci [%]	
	DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	1,6	1,7
kmen K2	21,0	17,1
<i>Scenedesmus</i> + K1	44,9	37,2
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	23,4	19,4

Z tabulky je patrné, že nárůst stravitelnosti sušiny (DMD_R) byl od 1,6 % do 44,6 %. Nejmenší rozdíl mezi stravitelností sušiny před a po dezintegraci měla řasa *Chlorella kessleri*. Řasa s označením kmen K2 a řasa *Scenedesmus quadricauda* měly podobné hodnoty zvýšení stravitelnosti 21 % a 23,4 %, v uvedeném pořadí. Největší vliv měl proces dezintegrace na stravitelnost sušiny u směšného kmene *Scenedesmus* + K1. Stravitelnost organické hmoty (OMD_R) se zvyšovala od 1,7 % do 37,2 %, přičemž nejnižší nárůst stravitelnosti organické hmoty byl zaznamenán u řasy *Chlorella kessleri* a nejvíce dezintegrace ovlivnila stravitelnost směšného kmene *Scenedesmus* + K1, což může být způsobeno tím, že buněčná stěna řasy *Scenedesmus quadricauda* obsahuje ze všech vzorků nejvíce těžko hydrolyzovatelné celulózy, zatímco řasa *Chlorella kessleri* má v buněčné stěně celulózu zastoupenou v nejmenším množství ze vzorků, které celulózu obsahují.

V grafech č. 22 a 23 je znázorněno srovnání stravitelnosti vzorků sladkovodních řas před a po dezintegraci po hydrolyze pankreatinem, jednak v hodnotách DMD_R a jednak v hodnotách OMD_R .



Obrázek 22: : Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po hydrolyze pankreatinem



Obrázek 23: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po hydrolyze pankreatinem

7.3.3 Kombinovaná hydrolyza pepsinem a pankreatinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pepsinu a následně také pankreatinu. Vyhodnocení stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) bylo provedeno jak u nedezintegrovaných vzorků řas, tak i u dezintegrovaných vzorků. Následně bylo také provedeno srovnání účinku dezintegrace na stravitelnost sušiny a organické hmoty při použití kombinované hydrolyzy pepsinem a pankreatinem.

7.3.3.1 Nedezintegrované vzorky

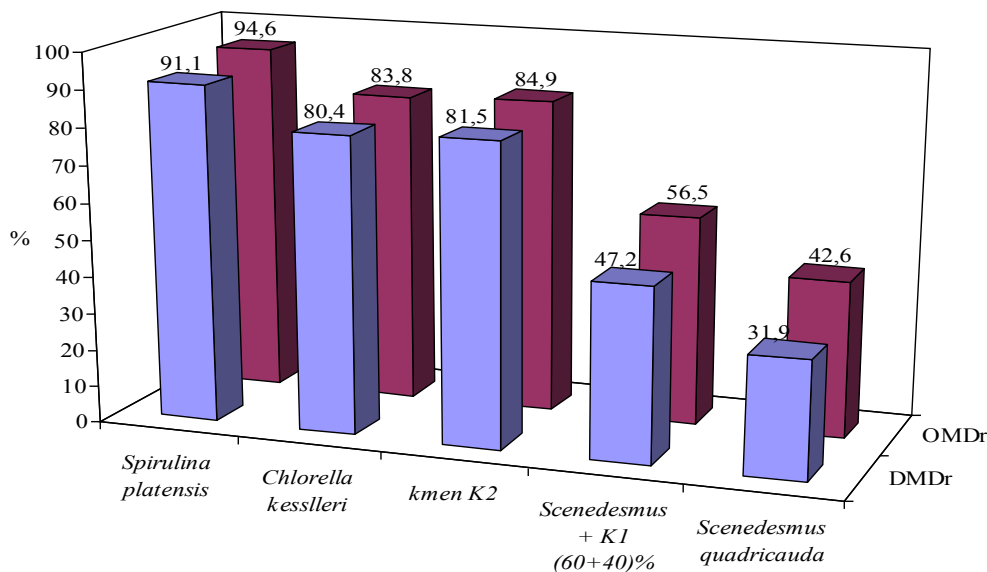
Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u nedezintegrovaných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány nejprve pepsinem a poté také pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 15 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

Tabulka 15: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrovaných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD_R	OMD_R
<i>Spirulina platensis</i>	91,1 ± 3,3	94,6 ± 2,7
<i>Chlorella kessleri</i>	80,4 ± 1,6	83,8 ± 1,6
kmen K2	81,5 ± 4,3	84,9 ± 4,0
<i>Scenedesmus</i> + K1	47,2 ± 3,2	56,5 ± 2,7
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	31,9 ± 1,6	42,6 ± 2,4

Z tabulky č. 15 vyplývá, že stravitelnost sušiny (DMD_R) se pohybovala v rozmezí hodnot 31,9 % a 91,1 %. Nejvyšší hodnota stravitelnosti sušiny byla zjištěna u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší hodnoty stravitelnosti sušiny vykazovala řasa *Scenedesmus quadricauda*. Hodnota stravitelnosti sušiny se u směsného kmene *Scenedesmus* + K1 pohybovala přibližně v hodnotách 47,2 %, zatímco stravitelnost řas *Chlorella kessleri* a kmene K2 byla přibližně v hodnotě 81 %. Stravitelnost organické hmoty (OMD_R) byla v intervalu 42,6 % a 94,6 %, přičemž nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u řasy *Spirulina platensis* a nejnižší hodnoty byly naměřeny u řasy *Scenedesmus quadricauda*.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty u nedezintegrováných vzorků po hydrolyze pankreatinem vyjadřuje graf č. 24.



Obrázek 24: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrováných vzorků

7.3.3.2 Dezintegrováné vzorky

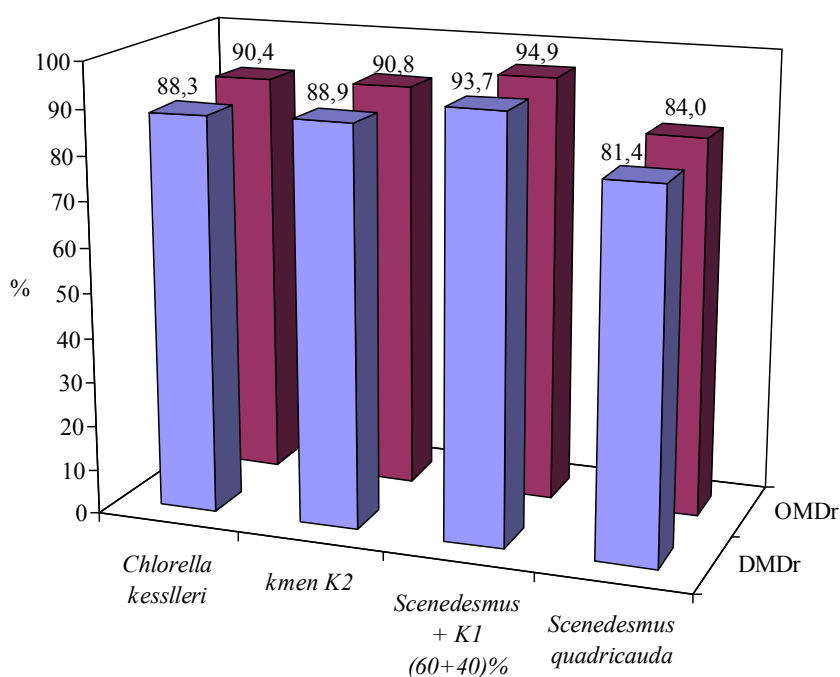
U vzorků zelených sladkovodních řas, které ve svých buněčných stěnách obsahují celulózu, byla provedena dezintegrace. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u dezintegrováných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pepsinem a následně pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v následující tabulce v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R.

Tabulka 16: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u dezintegrováných vzorků

Vzorky	Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
	DMD _R	OMD _R
<i>Chlorella kessleri</i>	88,3 ± 2,9	90,4 ± 2,5
kmen K2	88,9 ± 3,8	90,8 ± 3,2
<i>Scenedesmus</i> + K1	93,7 ± 2,4	94,9 ± 1,9
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	81,4 ± 3,8	84,0 ± 3,0

Z tabulky č. 16 je patrné, že stravitelnost sušiny i stravitelnost organické hmoty po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem byla u všech vzorků velmi vysoká. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) se pohybovaly mezi 81,4 % a 93,7 % a hodnoty stravitelnosti organické hmoty byly v rozmezí 84,0 % a 94,9 %. Nejnižší hodnoty DMD_R a OMD_R byly zjištěny v případě řasy *Scenedesmus quadricauda*, nejvyšší stravitelnost byla naměřena u směsného kmene *Scenedesmus* + K1.

Grafické znázornění stravitelnosti sušiny a organické hmoty dezintegrováných vzorků po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem je vyjádřeno grafem č. 25.



Obrázek 25: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem u dezintegrováných vzorků

7.3.3.3 Srovnání nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků

Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) nedezintegrováných vzorků a dezintegrováných vzorků se vzájemně odlišují. U některých druhů řas je tento rozdíl velmi malý, u jiných je rozdíl velký. Přehled stravitelností nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků v hodnotách DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem je uveden v tabulce č. 17.

Tabulka 17: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrovanych a dezintegrovanych vzorků

Vzorky		Stravitelnost [%]; ($\bar{x} \pm S. D.$)	
		DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	nedezintegrované	80,4 ± 1,6	83,8 ± 1,6
	dezintegrované	88,3 ± 2,9	90,4 ± 2,5
kmen K2	nedezintegrované	81,5 ± 4,3	84,9 ± 4,0
	dezintegrované	88,9 ± 3,8	90,8 ± 3,2
<i>Scenedesmus</i> + K1	nedezintegrované	47,2 ± 3,2	56,5 ± 2,7
	dezintegrované	93,7 ± 2,4	94,9 ± 1,9
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	nedezintegrované	31,9 ± 1,6	42,6 ± 2,4
	dezintegrované	81,4 ± 3,8	84,0 ± 3,0

Z tabulky je patrné, že ve všech případech byla stravitelnost dezintegrovanych vzorků, ať už stravitelnost sušiny (DMD_R) nebo organické hmoty (OMD_R), vyšší než stravitelnost nedezintegrovanych vzorků. Tabulka č. 18 uvádí procentuální vyjádření zvýšení stravitelnosti sušiny i organické hmoty po dezintegraci.

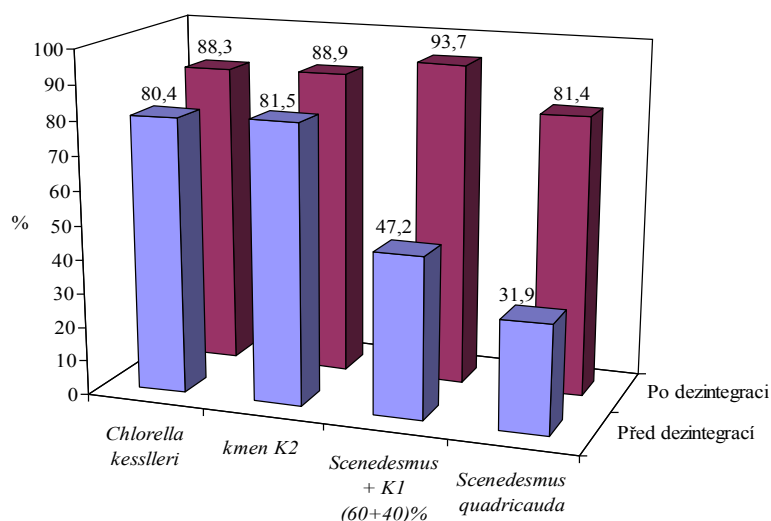
Tabulka 18: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

Vzorky	Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci [%]	
	DMD_R	OMD_R
<i>Chlorella kessleri</i>	8,9	7,3
kmen K2	8,3	6,5
<i>Scenedesmus</i> + K1	49,6	40,5
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	60,8	49,3

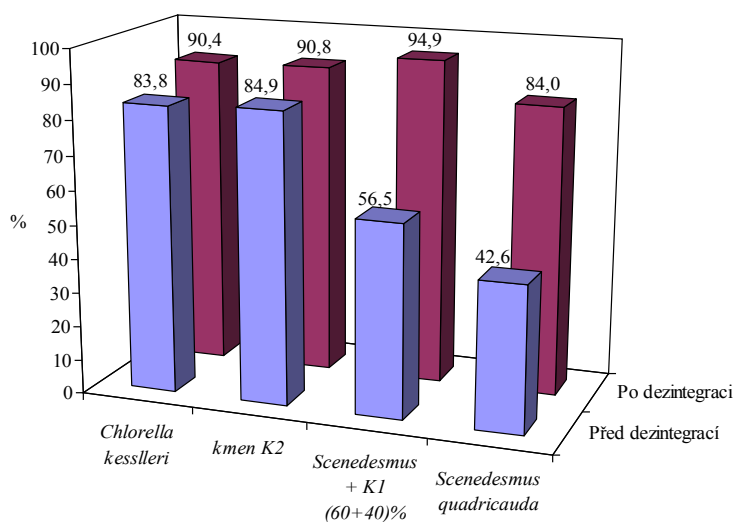
Z tabulky č. 18 lze vyčíst, že po dezintegraci se stravitelnost v případě řas *Chlorella kessleri* a kmene K2 zvýšila o téměř stejnou hodnotu, která se u stravitelnosti sušiny (DMD_R) pohybovala mezi 8,3 % a 8,9 % a v případě stravitelnosti organické hmoty (OMD_R) mezi 6,5 % a 7,3 %. U těchto dvou vzorků byl vliv dezintegrace daleko nižší než v případě směšného kmene *Scenedesmus* + K1 a řasy *Scenedesmus quadricauda*, u nichž byl zjištěn velký rozdíl.

Nejvíce se stravitelnost sušiny i organické hmoty zvýšila po dezintegraci v případě řasy *Scenedesmus quadricauda*, kdy došlo ke zvýšení stravitelnosti sušiny o 60,8 % a stravitelnosti organické hmoty o 49,3 %.

V grafech č. 26 a 27 je znázorněno srovnání stravitelnosti vzorků sladkovodních řas před a po dezintegraci po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem, jednak v hodnotách DMD_R a jednak v hodnotách OMD_R .



Obrázek 26: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem



Obrázek 27: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

7.3.4 Vliv různé enzymatické hydrolyzy na hodnoty stravitelností u nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků

V této kapitole je zhodnocen vliv různé enzymové hydrolyzy, tj. hydrolyzy pepsinem, pankreatinem a kombinované hydrolyzy pepsinem a pankreatinem, na hodnoty stravitelnosti, které se stanovují jako hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a hodnoty stravitelnosti organické hmoty (OMD_R) u vybraných druhů sladkovodních řas, které byly nebo nebyly podrobeny dezintegraci buněčné stěny.

7.3.4.1 Nedezintegrované vzorky

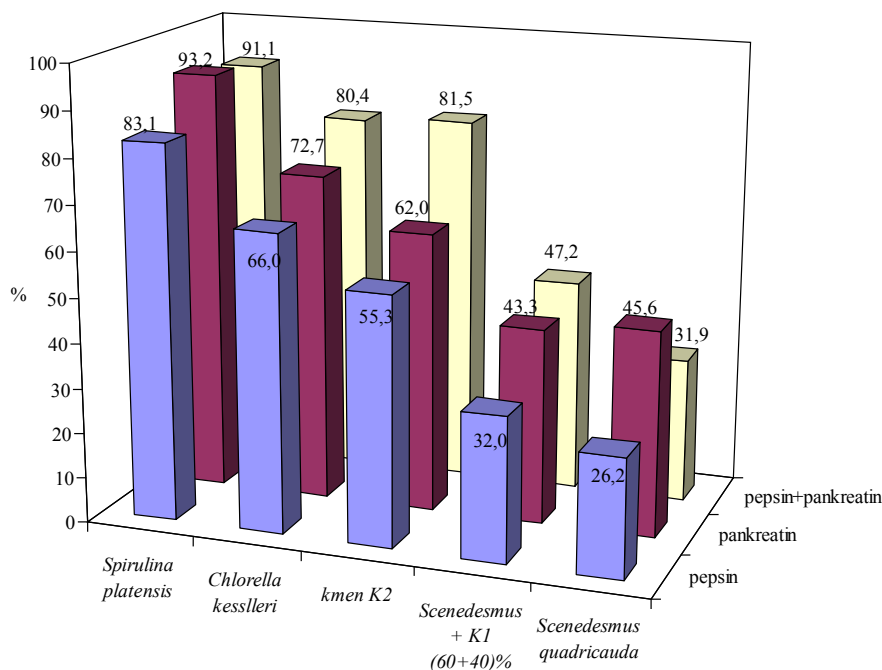
Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u nedezintegrováných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pepsinem, pankreatinem a kombinovaně hydrolyzovány zároveň pepsinem a pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 19 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

Tabulka 19: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R při působení enzymů na nedezintegrováných vzorky

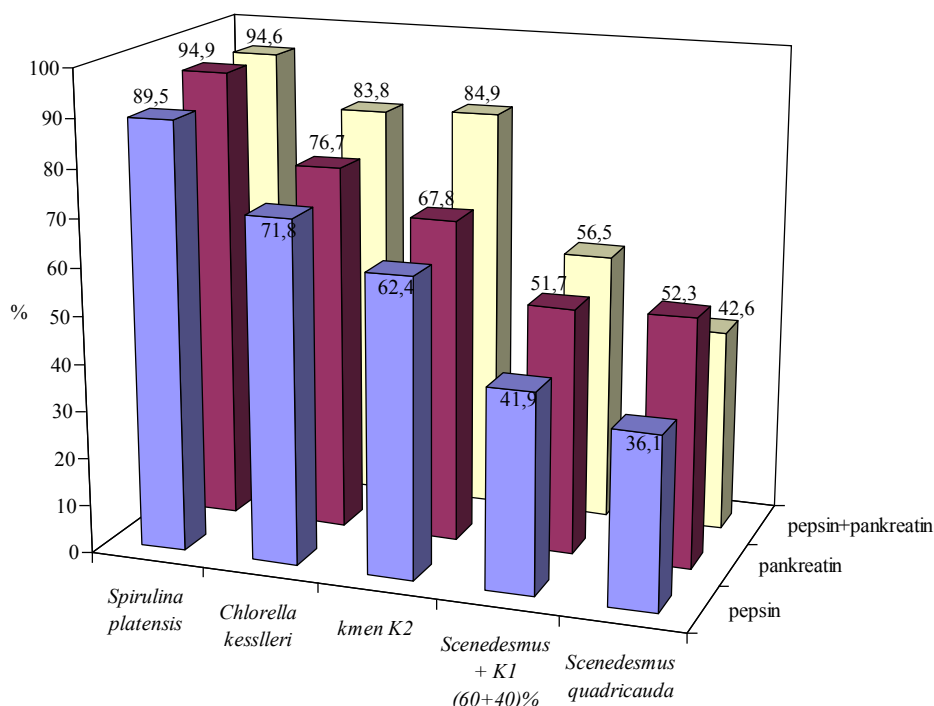
Vzorky		Stravitelnost [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)		
		pepsin	pankreatin	pepsin + pankreatin
<i>Spirulina platensis</i>	DMD_R	83,1 ± 1,1	93,2 ± 7,3	91,1 ± 3,3
	OMD_R	89,5 ± 0,8	94,9 ± 5,1	94,6 ± 2,7
<i>Chlorella kessleri</i>	DMD_R	66,0 ± 5,4	72,7 ± 0,8	80,4 ± 1,6
	OMD_R	71,8 ± 4,8	76,7 ± 0,8	83,8 ± 1,6
kmen K2	DMD_R	55,3 ± 0,3	62,0 ± 3,0	81,5 ± 4,3
	OMD_R	62,4 ± 0,1	67,8 ± 2,5	84,9 ± 4,0
<i>Scenedesmus</i> + K1	DMD_R	32,0 ± 0,8	43,3 ± 2,4	47,2 ± 3,2
	OMD_R	41,9 ± 0,5	51,7 ± 1,7	56,5 ± 2,7
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	DMD_R	26,2 ± 1,3	45,6 ± 4,3	31,9 ± 1,6
	OMD_R	36,1 ± 1,4	52,3 ± 3,7	42,6 ± 2,4

Z tabulky č. 19 je patrné, že nejnižší hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly u všech zkoumaných vzorků sladkovodních řas zaznamenány po hydrolyze pepsinem. Větší hydrolytickou účinnost vykazoval enzym pankreatin, u něhož byly zjištěny vyšší hodnoty stravitelnosti u téměř všech druhů sladkovodních řas (kromě sinice *Spirulina platensis* a řasy *Scenedesmus quadricauda*) než s použitím enzymu pepsinu. Nejvyšší hodnoty stravitelnosti sušiny a organické hmoty byly zaznamenány při použití kombinované hydrolyzy pepsinem a pankreatinem (s výjimkou sinice *Spirulina platensis* a řasy *Scenedesmus quadricauda*).

V grafech č. 28 a 29 je znázorněno srovnání stravitelnosti nedezintegrováných vzorků sladkovodních řas po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem, jednak v hodnotách DMD_R a jednak v hodnotách OMD_R .



Obrázek 28: Stravitelnost nedezintegrováných vzorků v hodnotách DMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem



Obrázek 29: Stravitelnost nedezintegrovaných vzorků v hodnotách OMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

7.3.4.2 Dezintegrované vzorky

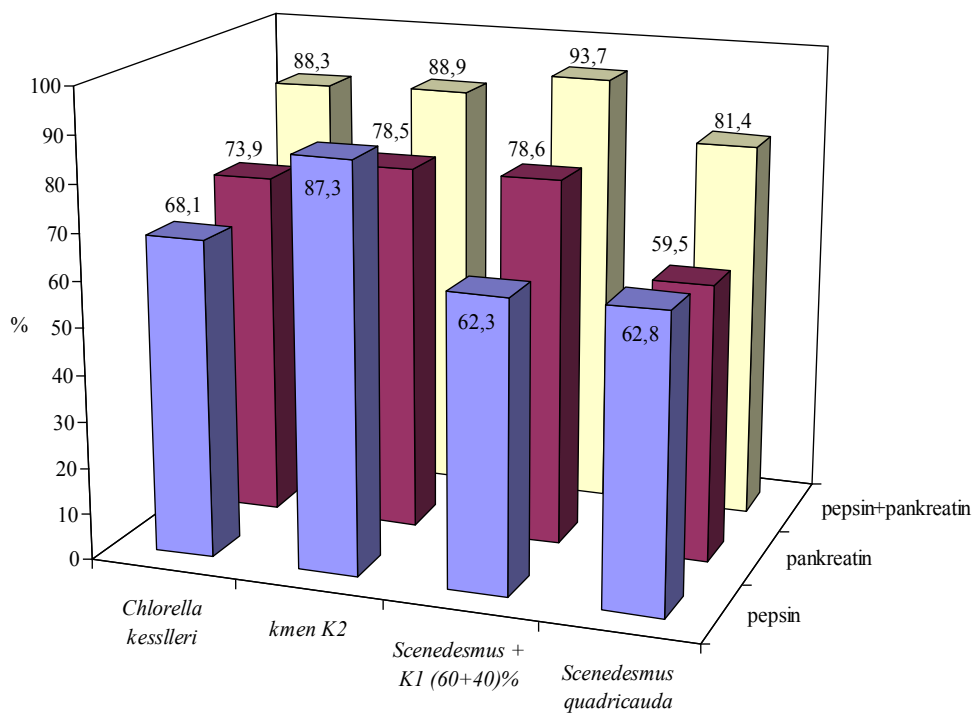
U vzorků zelených sladkovodních řas, které ve svých buněčných stěnách obsahují celulózu, byla provedena dezintegrace. Hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly zjišťovány u dezintegrovaných vzorků vybraných druhů sladkovodních řas, které byly hydrolyzovány pepsinem, pankreatinem a kombinovaně hydrolyzovány pepsinem a pankreatinem. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 20 v procentech v hodnotách DMD_R a OMD_R .

Tabulka 20: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R při působení enzymů na dezintegrované vzorky

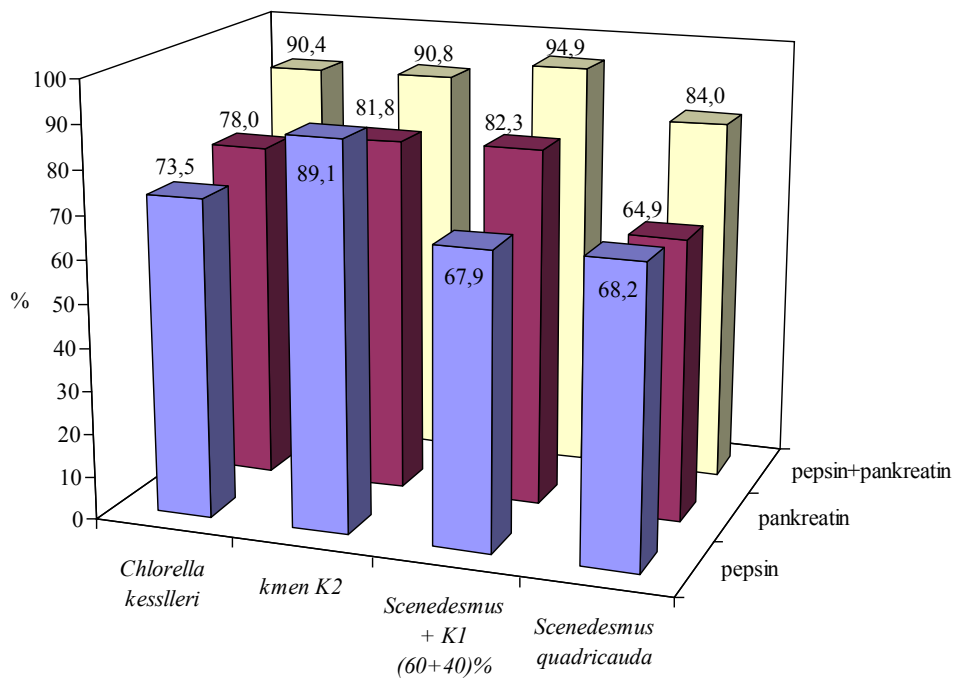
Vzorky		Stravitelnost [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)		
		pepsin	pankreatin	pepsin + pankreatin
<i>Chlorella kessleri</i>	DMD_R	68,1 ± 1,1	73,9 ± 4,0	88,3 ± 2,9
	OMD_R	73,5 ± 1,0	78,0 ± 3,3	90,4 ± 2,5
kmen K2	DMD_R	87,3 ± 1,6	78,5 ± 1,3	88,9 ± 3,8
	OMD_R	89,1 ± 1,4	81,8 ± 1,4	90,8 ± 3,2
<i>Scenedesmus</i> + K1	DMD_R	62,3 ± 1,4	78,6 ± 2,9	93,7 ± 2,4
	OMD_R	67,9 ± 1,4	82,3 ± 2,2	94,9 ± 1,9
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	DMD_R	62,8 ± 1,4	59,5 ± 4,8	81,4 ± 3,8
	OMD_R	68,2 ± 1,1	64,9 ± 3,5	84,0 ± 3,0

Z tabulky č. 20 je patrné, že nejvyšší hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD_R) a organické hmoty (OMD_R) byly u všech zkoumaných vzorků sladkovodních řas zaznamenány po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem. Nižší hydrolytickou účinnost vykazovaly samotné enzymy pepsin a pankreatin. Nejnížší hodnoty stravitelnosti sušiny a organické hmoty po hydrolyze pepsinem byly zjištěny u řas *Chlorella kessleri* a u směsného kmene *Scenedesmus* + K1. Nejnížší hodnoty stravitelnosti sušiny a organické hmoty po hydrolyze pankreatinem byly zaznamenány u řasy s označením kmen K2 a u řasy *Scenedesmus quadricauda*.

V grafech 30 a 31 je znázorněno srovnání stravitelnosti dezintegrovaných vzorků sladkovodních řas po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem, jednak v hodnotách DMD_R a jednak v hodnotách OMD_R .



Obrázek 30: Stravitelnost dezintegrovaných vzorků v hodnotách DMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem



Obrázek 31: Stravitelnost dezintegrovaných vzorků v hodnotách OMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

7.4 Stravitelnost dusíkatých látek

Stravitelnost vybraných druhů sladkovodních řas byla stanovena metodou *in vitro* s pomocí inkubátoru Daisy, následně byl stanoven obsah dusíkatých látek Kjehdahlovou metodou s úpravou dle Winklera s pomocí přístroje ProNitro. Při zjištění stravitelnosti bylo postupováno dle metodik popsaných v kapitolách 6.6 a 6.7. Stravitelnost dusíkatých látek byla vyjádřena ve formě koeficientu stravitelnosti v procentech.

7.4.1 Hydrolýza pepsinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pepsinu a dále bylo postupováno dle metodiky z kapitoly 6.7. Vyhodnocení koeficientu stravitelnosti bylo provedeno jen u nedezintegrovaných vzorků řas a vyjádřeno v procentech.

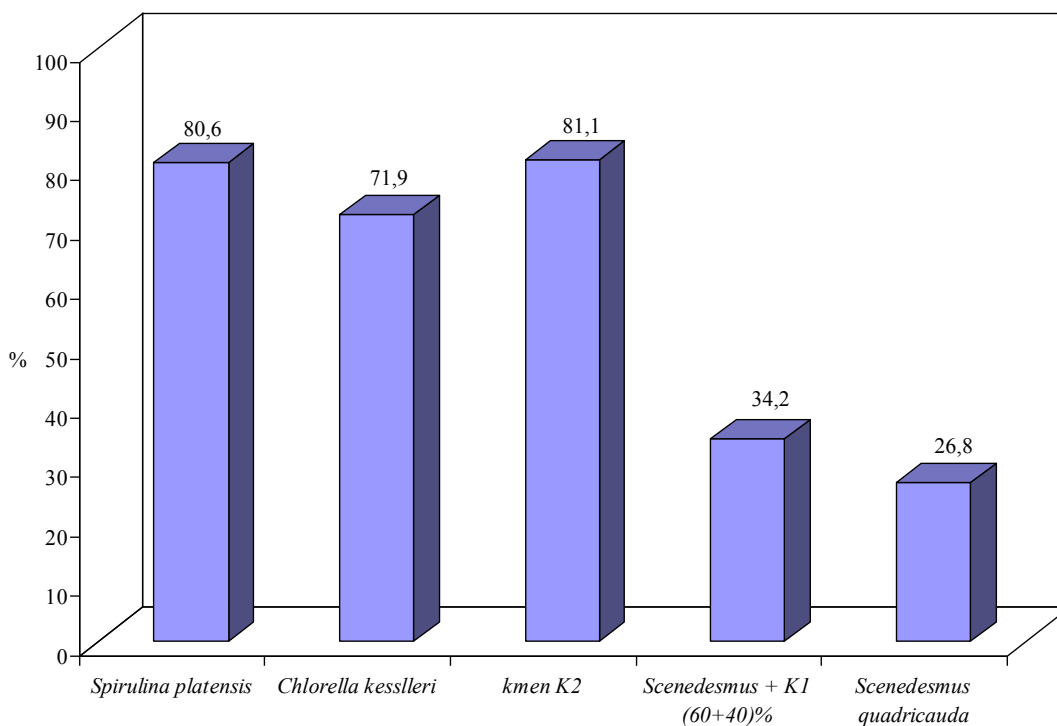
Zjištěné koeficienty stravitelnosti jsou uvedeny v tabulce č. 21 v procentech.

Tabulka 21: Koeficienty stravitelnosti po hydrolýze pepsinem

Vzorek	Koeficient stravitelnosti [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)
<i>Spirulina platensis</i>	80,6 \pm 0,6
<i>Chlorella kessleri</i>	71,9 \pm 2,5
kmen K2	81,1 \pm 6,2
<i>Scenedesmus</i> + K1	34,2 \pm 1,7
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	26,8 \pm 1,3

Z tabulky č. 21 je patrné, že hodnoty koeficientů stravitelnosti se pohybují v rozmezí 26,8 % a 81,1 %. Nejnižší koeficient stravitelnosti byl zaznamenán u řasy *Scenedesmus quadricauda* a nejvyšší hodnoty koeficientu stravitelnosti vykazovala řasa s označením kmen K2.

Grafické znázornění koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas je uvedeno v grafu č. 32.



Obrázek 32: Srovnání koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas po hydrolyze pepsinem

7.4.2 Hydrolýza pankreatinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pankreatinu a dále bylo postupováno dle metodiky z kapitoly 6.7. Vyhodnocení koeficientu stravitelnosti bylo provedeno jen u nedezintegrovaných vzorků řas a vyjádřeno v procentech.

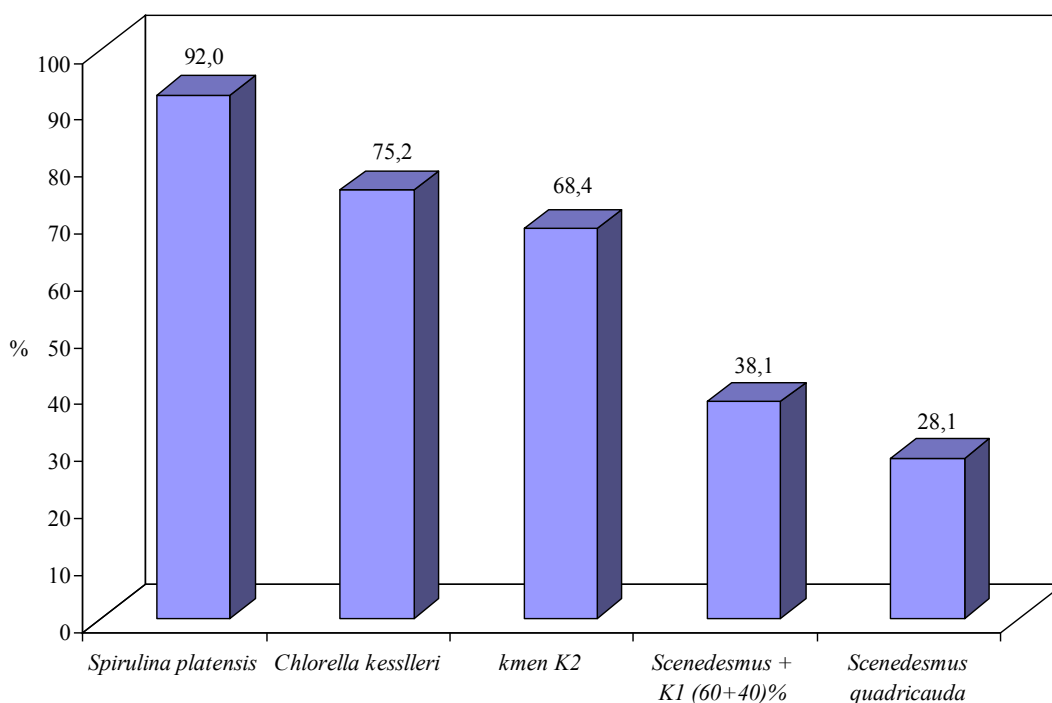
Zjištěné koeficienty stravitelnosti jsou uvedeny v tabulce č. 22 v procentech.

Tabulka 22: Koeficienty stravitelnosti po hydrolyze pankreatinem

Vzorek	Koeficient stravitelnosti [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)
<i>Spirulina platensis</i>	92,0 \pm 0,8
<i>Chlorella kessleri</i>	75,2 \pm 0,3
kmen K2	68,4 \pm 1,4
<i>Scenedesmus + K1</i>	38,1 \pm 0,2
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	28,1 \pm 2,9

Z tabulky č. 22 je patrné, že koeficienty stravitelnosti se pohybují v intervalu 28,1 % a 92,0 %. Nejvyšší hodnoty koeficientu stravitelnosti byly zaznamenány u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší hodnoty koeficientu stravitelnosti vykazovala řasa *Scenedesmus quadricauda*.

Grafické znázornění koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas je uvedeno v grafu č. 33.



Obrázek 33: Srovnání koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas po hydrolyze pankreatinem

7.4.3 Kombinovaná hydrolyza pepsinem a pankreatinem

Vybrané vzorky sladkovodních řas byly podrobeny působení enzymu pepsinu, následně také působení enzymu pankreatinu a dále bylo postupováno dle metodiky z kapitoly 6.7. Vyhodnocení koeficientu stravitelnosti bylo provedeno jen u nedezintegrovaných vzorků řas a vyjádřeno v procentech.

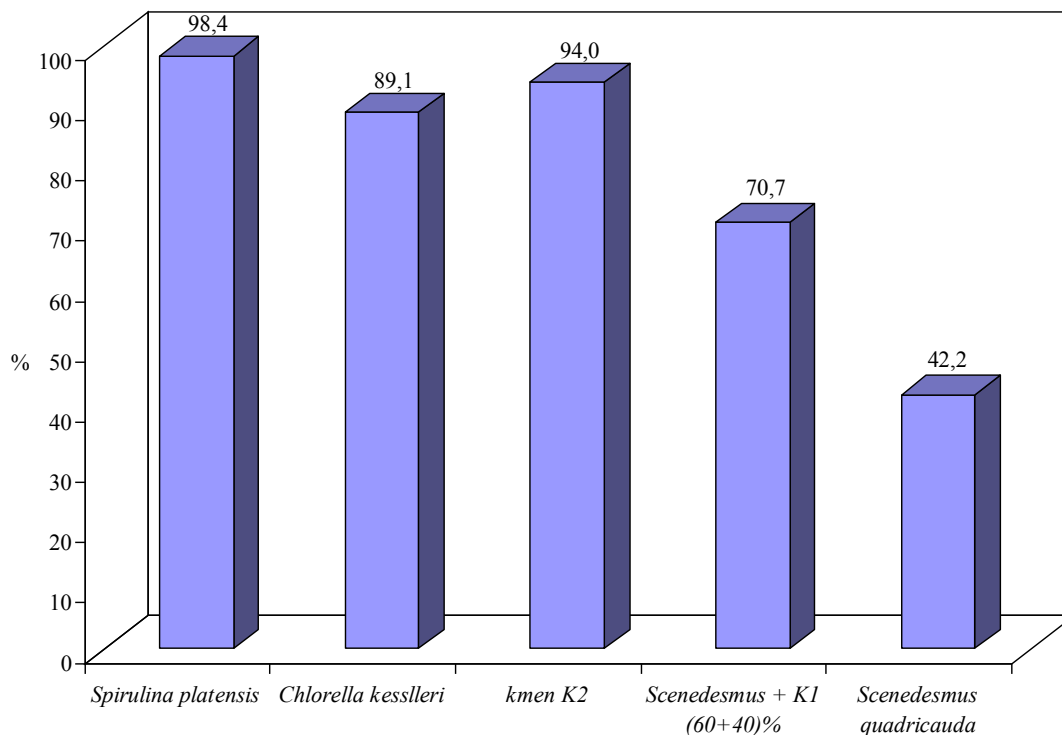
Zjištěné koeficienty stravitelnosti jsou uvedeny v tabulce č. 23 v procentech.

Tabulka 23: Koeficienty stravitelnosti po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem

Vzorek	Koeficient stravitelnosti [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)
<i>Spirulina platensis</i>	98,4 \pm 1,6
<i>Chlorella kessleri</i>	89,1 \pm 2,9
kmen K2	94,0 \pm 2,9
<i>Scenedesmus</i> + K1	70,7 \pm 1,4
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	42,2 \pm 1,6

Z tabulky č. 23 je patrné, že koeficienty stravitelnosti se nacházejí mezi krajními hodnotami 42,2 % a 98,4 %. Nejnižší koeficient stravitelnosti náleží řase *Scenedesmus quadricauda*. Nejvyšší hodnoty koeficientu stravitelnosti byly zaznamenány u sinice *Spirulina platensis*.

Grafické znázornění koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas je uvedeno v grafu č. 34.



Obrázek 34: Srovnání koeficientů stravitelnosti u zkoumaných vzorků sladkovodních řas po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem

7.4.4 Srovnání vlivu různé enzymatické hydrolýzy na koeficienty stravitelnosti

Hodnoty koeficientů stravitelnosti vybraných druhů sladkovodních řas se vzájemně liší při použití hydrolýzy různými enzymy - pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem.

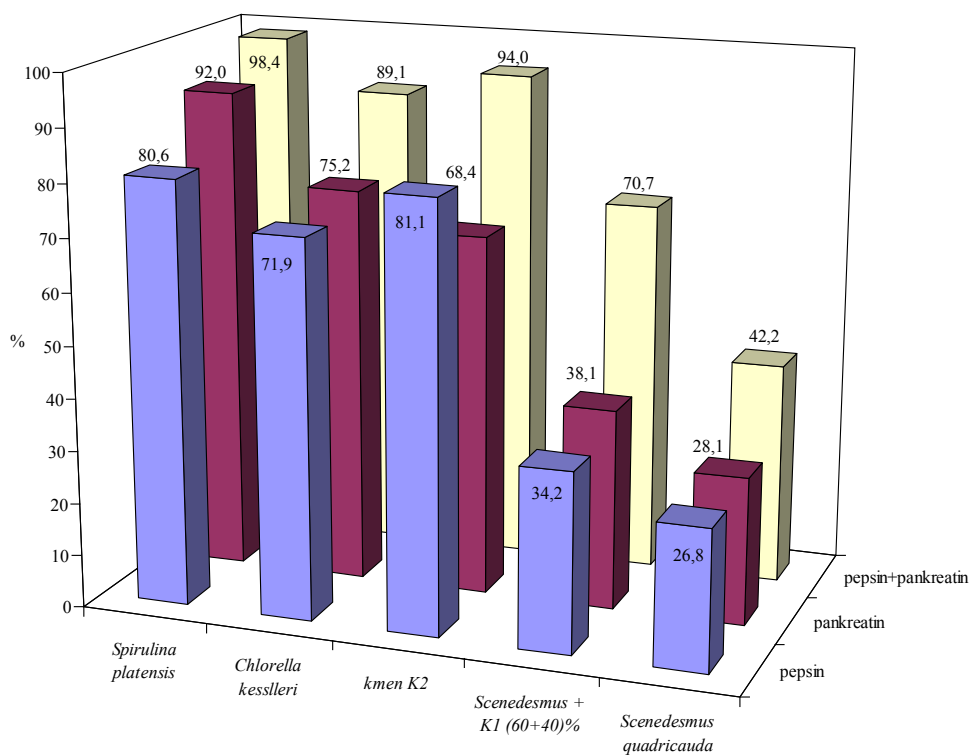
Koeficienty stravitelnosti vzorků po hydrolýze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem jsou uvedeny v tabulce č. 24.

Tabulka 24: Srovnání hodnot koeficientů stravitelnosti při působení enzymů na zkoumané vzorky

Vzorky	Koeficient stravitelnosti [%] ($\bar{x} \pm S. D.$)		
	pepsin	pankreatin	pepsin + pankreatin
<i>Spirulina platensis</i>	80,6 ± 0,6	92,0 ± 0,8	98,4 ± 1,6
<i>Chlorella kessleri</i>	71,9 ± 2,5	75,2 ± 0,3	89,1 ± 2,9
kmen K2	81,1 ± 6,2	68,4 ± 1,4	94,0 ± 2,9
<i>Scenedesmus</i> + K1	34,2 ± 1,7	38,1 ± 0,2	70,7 ± 1,4
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	26,8 ± 1,3	28,1 ± 2,9	42,2 ± 1,6

Z tabulky č. 24 lze vysledovat, že největší hydrolytický účinek u všech vzorků byl zaznamenán při použití kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem. Nejnižší hydrolytický účinek byl zaznamenán u většiny vzorků (s výjimkou sinice *Spirulina platensis* a řasy s označením kmen K2) při hydrolýze enzymem pepsinem.

Graf č. 35 vyjadřuje koeficienty stravitelnosti vzorků sladkovodních řas po hydrolýze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolýze pepsinem a pankreatinem.



Obrázek 35: Koeficienty stravitelnosti vzorků po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem

ZÁVĚR

Sladkovodní řasy obsahují řadu látek, které prospívají lidskému zdraví. Z toho důvodu byly hojně využívány již v minulosti. Sladkovodní řasy jsou zdrojem bílkovin obsahujících všechny esenciální aminokyseliny, esenciálních mastných kyselin, chlorofylu, karotenoidů, minerálních látek, vitaminů (především vitaminu B₁₂), antioxidačních látek. Díky svému složení mají také mnohé léčivé a zdraví prospěšné vlastnosti. Sladkovodní řasy jsou známy především ve formě doplňků stravy nebo jako součást potravy, ale využívají se i v kosmetickém průmyslu, k výrobě léčiv, krmiv, hnojiv, k produkci pigmentů, železa.

Z důvodu mnohdy velmi pevné a těžko hydrolyzovatelné buněčné stěny bývá k dosažení zpřístupnění buněčného obsahu lidskému tělu prováděna dezintegrace buněčné stěny. Dezintegrace může být prováděna mechanickými, chemickými, fyzikálními nebo biotechnologickými metodami.

Zpracováním praktické části této diplomové práce, která se týkala vlivu dezintegrace buněčných stěn vybraných druhů sladkovodních řas na jejich stravitelnost, bylo zjištěno, že dezintegrace na stravitelnost vliv má. Dezintegrace byla prováděna mechanickým způsobem pomocí oscilačního kulového mlýna a stravitelnost byla stanovena enzymaticko-gravimetrickou *in vitro* metodou s použitím Daisy inkubátoru. Hydrolyza vzorků byla prováděna enzymy pepsinem, pankreatinem a kombinovanou hydrolyzou pepsinem a pankreatinem. Stravitelnost byla vyjádřena jako stravitelnost sušiny (DMD) a stravitelnost organické hmoty (OMD) v procentech a bylo provedeno její srovnání s referenčním proteinem kaseinem, jehož stravitelnost je považována za 100 % - ní. Stravitelnost dusíkatých látek byla vyjádřena jako koeficient stravitelnosti v procentech. Ke stanovení stravitelnosti bylo nutno stanovit i obsah sušiny a popela ve vzorcích.

Obsah sušiny ve vzorcích se pohyboval v rozmezí 91,5 % až 96,0 %. Obsah popela se pohyboval od 5,2 % do 6,7 %, výrazně se však odlišoval obsah popela u sinice *Spirulina platensis* s hodnotou 17,8 %, což poukazuje na vysoký obsah minerálních látek.

Při použití enzymu pepsinu u nedezintegrovaných vzorků byly nejvyšší hodnoty DMD_R a OMD_R zjištěny u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší hodnoty u řasy *Scenedesmus quadricauda*. Po dezintegraci bylo zjištěno, že narušení buněčné stěny mělo největší vliv na řasu *Scenedesmus quadricauda*, kdy se stravitelnost zvýšila o téměř 58 %, a nejméně na řasu *Chlorella kessleri*. Při použití enzymu pankreatinu u nedezintegrovaných vzorků byly nej-

vyšší hodnoty DMD_R a OMD_R zaznamenány u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší hodnota u směsného kmene *Scenedesmus* + K1. Po dezintegraci vzrostla hodnota stravitelnosti nejvíce u směsného kmene *Scenedesmus* + K1 a to téměř o 45 % a nejméně u řasy *Chlorella kessleri*. Při použití kombinované hydrolyzy pepsinem a pankreatinem u nedezintegrovaných vzorků byly nejvyšší hodnoty DMD_R a OMD_R zjištěny u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší u řasy *Scenedesmus quadricauda*. Po dezintegraci bylo zjištěno nejvyšší zvýšení stravitelnosti u řasy *Scenedesmus quadricauda*, kdy došlo ke zvýšení téměř o 61 %, a nejnižší zvýšení u řasy s označením kmen K2 a u řasy *Chlorella kessleri*.

Při stanovení stravitelnosti dusíkatých látek byly nejvyšší hodnoty koeficientu stravitelnosti při hydrolyze pepsinem zaznamenány u řasy s označením kmen K2, nejnižší hodnoty vykazovala řasa *Scenedesmus quadricauda*. Při hydrolyze pankreatinem byl nejvyšší koeficient stravitelnosti stanoven u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší u řasy *Scenedesmus quadricauda*. Při kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem byl nejvyšší koeficient stravitelnosti zjištěn u sinice *Spirulina platensis* a nejnižší u řasy *Scenedesmus quadricauda*.

Ve všech případech byla stravitelnost organické hmoty (OMD) vyšší než stravitelnost sušiny (DMD). Zároveň také ve všech případech došlo ke zvýšení stravitelnosti po narušení buněčné stěny. Účinnost hydrolyzy se měnila v závislosti na druhu použitého enzymu. Obecně by se dalo říci, že nejvyšší hydrolytický účinek byl zaznamenán v případě kombinované hydrolyzy pepsinem a pankreatinem, méně účinný byl enzym pankreatin a nejmenší účinnost vykazoval pepsin. Ve většině případů byla nejlépe stravitelná sinice *Spirulina platensis*, což souvisí se složením její buněčné stěny, která je tvořena dobře hydrolyzovatelnými mukopolysacharidy a neobsahuje ve své struktuře celulózu. Opak tvoří řasa *Scenedesmus quadricauda*, jejíž hodnoty stravitelnosti patřily k nejnižším a po dezintegraci vykazovala nejvyšší nárůst stravitelnosti ze všech dezintegrovaných vzorků, což poukazuje na to, že tato řasa má ze všech vzorků nejpevnější buněčnou stěnu tvořenou celulózou a velmi odolným sporopoleni-
nem. Ze vzorků obsahujících celulózu ve své buněčné stěně byla nejvíce stravitelná řasa *Chlorella kessleri*. Nižší hodnoty stravitelnosti vykazovala buněčná stěna řasy s označením kmen K2, následována směsným kmenem *Scenedesmus* + K1.

Řasy, ať už sladkovodní nebo mořské, obsahují cenné nutriční látky, vykazují léčivé a zdraví prospěšné vlastnosti a proto se o nich často mluví jako o potravinách budoucnosti. Z tohoto důvodu by bylo vhodné se více věnovat jejich dalšímu výzkumu a jejich propagaci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KALINA, T., VÁŇA, J. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Univerzita Karlova v Praze: Karolinum, 2005. s. 606. ISBN 80-246-1036-1.
- [2] HENRIKSON, R. *Earth Food Spirulina: How This Remarkable Blue-Green Algae Can Transform Your Health and Our Planet*. Hana: Ronore Enterprises Inc., 2000. p. 188. Dostupný z WWW: <www.spirulinasource.com>. ISBN 0-9623111-0-.
- [3] CAROLIN, R., ELLYARD, D., ELSE, G. *Příroda*. Praha: Svojtka&Co., 2004. s. 640. ISBN 80-7237-767-1.
- [4] MORTON, S. L. *Ethnobotanical Leaflets: Modern Uses of Cultivated Algae* [online]. Southern Illinois University Carbondale, 1998, 26-Oct-98 [cit. 2010-02-16]. Dostupný z WWW: <<http://www.siu.edu/~ebl/>>. <Http://www.ethnoleaflets.com//leaflets/algae.htm>.
- [5] POULÍČKOVÁ, A., JURČÁK, J. *Malý obrazový atlas našich sinic a řas*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2001. s. 79. ISBN 80-244-0242-4.
- [6] FRANC, M. *Řasy, nebo knedlíky?: Postoje odborníků na výživu k inovacím a tradicím v české stravě v 50. a 60. letech 20. století*. Praha: Výzkumné centrum pro dějiny vědy, společné pracoviště Ústavu pro soudobé dějiny Akademie věd ČR a Univerzity Karlovy v Praze, 2003. s. 312. ISBN 80-7285-029-6.
- [7] BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*. 2007, 25, 207-210.
- [8] VÍLCHEZ, C., GARBAYO, I., LOBATO, M. V., VEGA, J. M. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme and Microbial Technology*. 1997, 20, 562-572.
- [9] BARSANTI, L., GUALTIERI, P. *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. p. 301. ISBN 0-8493-1467-4.
- [10] MASOJÍDEK, J., PAPÁČEK, Š., SERGEJEVOVÁ, M., JIRKA, V., ČERVENÝ J., KUNC, J., KOREČKO, J., VERBOVIKOVA, O., KOPECKÝ, J., ŠTYS, D., TORZILLO, G. A closed solar photobioreactor for cultivation of microalgae under

- supra-high irradiance: basic design and performance. *Journal of Applied Phycology*. 2003, 15, 239-248.
- [11] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Sinice, třída Cyanophyceae, oddělení Cyanophyta. Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2010-02-15]. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=S006>.
- [12] *ODDĚLENÍ: CYANOBACTERIA (CYANOPHYTA) – sinice* [online]. [cit. 2010-02-24]. Dostupné z WWW: <http://web2.mendelu.cz/af_224_rybari/dok%20rybari/botany/02CYANOBACTERIA.pdf>.
- [13] ŠMARDA, J. Sinice: Jednoduchá a přece důmyslná podoba života. *Vesmír* [online]. 1996, 75, [cit. 2010-02-24]. Dostupný z WWW: <[http://www.vesmir.cz/clanek/sinice-\(2\)](http://www.vesmir.cz/clanek/sinice-(2))>.
- [14] *Sinicearasy* [online]. 2003-2010 [cit. 2010-02-24]. Oddělení Cyanobacteria. Dostupné z WWW: <<http://www.sinicearasy.cz/134/Cyanobacteria>>.
- [15] ROSYPAL, S. *Přehled biologie*. Praha: Scientia, 1998. s. 642. ISBN 80-7183-110-7.
- [16] KYSILKA, J. *Sinice a řasy* [online]. [cit. 2010-02-24]. Dostupné z WWW: <http://www.biotox.cz/naturstoff/biologie/bi-sinicerasy.html>.
- [17] LEE, R. E. *Phycology* [online]. New York: Cambridge University Press, 2008 [cit. 2010-02-25]. Dostupné z WWW: <<http://www.scribd.com/doc/5015006/Phycology>>. ISBN 978-0-511-38669-5.
- [18] VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. London: Taylor&Francis, 1997. p. 233. ISBN 0-7484-0674-3.
- [19] MENDIOLA, J. A., JAIME, L., SANTOYO, S., REGLERO, G., CIFUENTES, A., IBAÑEZ, E., SEÑORÁNS, F. J. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*. 2007, 102, 1357-1367.

- [20] COLLA, L. M., REINEHR, C. O., REICHERT, C., COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*. 2007, 98, 1489-1493.
- [21] COSTA, J. A. V., COLLA, L. M., FILHO, P. F. D. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. *Bioresource Technology*. 2004, 92, 237-241.
- [22] HABIB, M. A. B., PARVIN, M., HUNTINGTON, T. C., HASAN, M. R. *A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish* [online]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2008 [cit. 2010-03-24]. Dostupné z WWW: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0424e/i0424e00.pdf>.
- [23] ÇELEKLI, A., YAVUZATMACA, M. Predictive modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of nitrate and NaCl concentrations. *Bioresource Technology*. 2009, 100, 1847-1851.
- [24] PIÑERO ESTRADA, J. E., BERMEJO BESCÓS, P., VILLAR del FRESNO, A. M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco*. 2001, 56, 497-500.
- [25] CIFERRI, O. *Spirulina*, the Edible Microorganism. *Microbiological Reviews*. 1983, 47, 551-578.
- [26] SUNDQVISTOVÁ, I.-B. *Vegetariánská kuchařka*. Praha: Ikar, 2005. s. 312. ISBN 80-249-0511-6.
- [27] CONVERTI, A., LODI, A., BORGHI, A. D., SOLISIO, C. Cultivation of *Spirulina platensis* in a combined airlift-tubular reactor system. *Biochemical Engineering Journal*. 2006, 32, 13-18.
- [28] BERMEJO, P., PIÑERO, E., VILLAR, Á. M. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*. 2008, 110, 436-445.
- [29] ŠUBRT, D. *Botany.natur.cuni* [online]. [cit. 2010-03-02]. Dostupné z WWW: <http://botany.natur.cuni.cz/algo/soubory/infolist.pdf>.

- [30] GUIRY, M. *Seaweed* [online]. 1996-2010 [cit. 2010-03-02]. Chlorophyta: Green Algae. Dostupné z WWW: <<http://www.seaweed.ie/algae/chlorophyta.html>>.
- [31] *Novelguide* [online]. 2003 [cit. 2010-03-02]. CHLOROPHYTA. Dostupné z WWW: <http://www.novelguide.com/a/discover/wmi_01/wmi_01_00130.html>.
- [32] HOLT, J. R. *Comenius.susqu* [online]. 2009, 03/24/2009 [cit. 2010-03-02]. PHYLUM CHLOROPHYTA. Dostupné z WWW: <<http://comenius.susqu.edu/bi/202/ARCHAEPLASTIDA/VIRIDIPLANTAE/Green%20Algae/CHLOROPHYTA/default.htm>>.
- [33] *Sinicearasy* [online]. 2003-2010 [cit. 2010-03-02]. Oddělení Chlorophyta. Dostupné z WWW: <<http://www.sinicearasy.cz/134/Chlorophyta>>.
- [34] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Zelené řasy, oddělení Chlorophyta. Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2010-03-02]. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=Z019>
- [35] *Infoplease: All the knowledge you need.* [online]. 2007 [cit. 2010-03-02]. Chlorophyta. Dostupné z WWW: <<http://www.infoplease.com/ce6/sci/A0812004.html>>.
- [36] MASOJÍDEK, J., GROBBELAAR, J. U., PECHAR, L., KOBLÍŽEK, M. Photosystem II electron transport rate and oxygen production in natural waterblooms of freshwater cyanobacteria during the diel cycle. *Journal of Plankton Research*. 2001, 23, 57-66.
- [37] KENNEDY, J. *About.com: Marine Life* [online]. 2010 [cit. 2010-03-02]. Green Algae (Chlorophyta). Dostupné z WWW: <<http://marinelife.about.com/od/plants/p/greenalgae.htm>>.
- [38] LEY, B. M. *Chlorella: The Ultimate Green Food* [online]. Detroit Lakes: BL Publications, 2003 [cit. 2010-03-25]. Dostupné z WWW: <http://books.google.cz/books?id=-98KYRjV4VQC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=&f=false>. ISBN 1-890766-28-3.
- [39] KANNO, T., KLINGHARDT, D. *Chlorella Vulgaris and Chlorella Vulgaris Extract (CVE)* [online]. Orem: Woodland Publishing, 2005 [cit. 2010-03-29]. Dostup-

- né z WWW:
<http://books.google.cz/books?id=kIWewPc7x6QC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=gbs_similarhttp://books.google.cz/books?id=kIWewPc7x6QC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=&f=true>. ISBN 1-58054-403-7.
- [40] BEWICKE, D., POTTER, B. A. *Chlorella: The Emerald Food* [online]. Berkeley: Ronin Publishing, 1984 [cit. 2010-03-25]. Dostupné z WWW: <http://books.google.cz/books?id=dpYIVB9TBTAC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=&f=false>. ISBN 0-914171-02-X.
- [41] TAKEDA, H. Sugar Composition of The Cell Wall and The Taxonomy of *Chlorella* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 2004, 27, 224-232.
- [42] *Centrum pro cyanobakterie* [online]. [cit. 2010-03-31]. Sbirka autotrofních organismů. Dostupné z WWW: <<http://www.sinice.cz/index.php?pg=centrum-cyanobakterie--sbirka>>.
- [43] INBARAJ, B. S., CHIEN, J. T., CHEN, B. H. Improved high performance liquid chromatographic method for determination of carotenoids in the microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Chromatography A*. 2006, 1102, 193-199.
- [44] *Alternativní zdraví.cz* [online]. 2008 [cit. 2010-03-31]. *Chlorella kessleri* - Alkora aurea. Dostupné z WWW: <http://www.alternivni-zdravi.cz/_c10254_l3_p137958_/produkty/chlorella-kessleri-alkora-aurea.aspx>.
- [45] RODRIGUEZ-GARCIA, I., GUIL-GUERRERO, J. L. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chemistry*. 2008, 108, 1023-1026.
- [46] LEE, W. H., ROSENBAUM, M. *Chlorella: The sun-powered supernutrient and its beneficial properties* [online]. New Canaan: Keats Publishing, 1987 [cit. 2010-03-29]. Dostupné z WWW: <http://books.google.cz/books?id=dWtXGzJlftgC&printsec=frontcover&dq=chlorella&source=bl&ots=fkIfWl6eYf&sig=C6hwB7YV1TwIb0rLcuamMNY_ahY&hl=cs>

- &ei=LdSpS96QGYzGngOw6oDoAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CAUQ6AEwADg8#v=onepage&q=&f=false>. ISBN 0-87983-464-1.
- [47] *Green Algae: Scenedesmus* [online]. [cit. 2010-04-01]. Dostupné z WWW: <http://silicasechidisk.conncoll.edu/LucidKeys/Carolina_Key/html/Scenedesmus_Main.html>.
- [48] KIM, M. K., PARK, J. W., PARK, C. S., KIM, S. J., JEUNE, K. H., CHANG, M. U., ACREMAN, J. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. *Bioresource Technology*. 2007, 98, 2220-2228.
- [49] *TRÍDA: CHLOROPHYCEAE - zelenivky* [online]. [cit. 2010-04-01]. Dostupné z WWW: <http://web2.mendelu.cz/af_224_rybari/dok%20rybari/botany/08c%20CHLOROPHYCEAE.pdf>.
- [50] *Planktonweb* [online]. 2006 [cit. 2010-04-01]. Green algae - *Scenedesmus*. Dostupné z WWW: <http://www.hib.no/avd_al/naturfag/plankton/english/plankton/plankton-algae/green_algae/scenedesmus.html>.
- [51] *Mikroskopia* [online]. 2010 [cit. 2010-04-01]. *Scenedesmus quadricauda*. Dostupné z WWW: <<http://forum.mikroskopia.com/index.php?showtopic=7549>>.
- [52] SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. *Atlas fyziologie člověka*. Praha: Avicenum, 1984. s. 328. ISBN 08-026-84.
- [53] WILHELM, Z. *Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy*. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2005. s. 115. ISBN 80-210-2837-8.
- [54] *Trávicí soustava* [online]. [cit. 2010-02-18]. Dostupný z WWW: <<http://anatomie-lidskeho-tela.kvalitne.cz/travici-soustava.html>>.
- [55] MAROUNEK, M., BŘEZINA, P., ŠIMŮNEK, J. *Fyziologie a hygiena výživy*. Vyškov: VVŠ PV Vyškov, 2003. s. 148. ISBN 80-7231-106-9.
- [56] POKORNÝ, J. *Přehled fyziologie člověka II. díl*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, 2002. s. 255. ISBN 80-246-0229-6.

- [57] JELÍNEK, J. *Biologie a fyziologie člověka a úvod do studia obecné genetiky*. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2003. s. 223. ISBN 80-7182-138-1.
- [58] TZANEVA, M. Effects of duodenogastric reflux on gastrin cells, somatostatin cells and serotonin cells in human antral gastric mucosa. *Pathology – Research and Practice*. 2004, 200, 431-438.
- [59] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie 2*. Praha: Academia, 1992. s. 136. ISBN 80-200-0441-6.
- [60] LNĚNIČKOVÁ, M. *FEBICO BIO Chlorella = kvalita : Kvalita chlorelly od různých výrobců ANEB není CHLORELLA jako CHLORELLA!* [online]. [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.ebios.cz/bios/3-Vyziva/5-FEBICO-Chlorella-KVALITA>>.
- [61] *CHLORELLA TABS - co všechno byste měli vědět* [online]. [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://zelena.lekarna.sweb.cz/chlorea/chorea.htm>>.
- [62] *Separace v biotechnologiích* [online]. [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/separ.pdf>>.
- [63] *BRETBACH* [online]. 2006 [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.bretbach.cz/kvalita.php>>.
- [64] DOHÁNYOS, M. Jak zvýšit efektivnost bioplynové stanice?. *Alternativní energie* [online]. 2008, 6 [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.tzb-info.cz/t.py?i=5550&t=2>>. ISSN 1801-4399.
- [65] *Perlové mlýny* [online]. 2007 [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.tomasovalea.cz/cz/produkty/perlove-mlyny/>>.
- [66] ŠAFARÍK, I. Chemické způsoby dezintegrace mikrobiálních buněk. *Chemické listy*. 1991, 85, 1194-1202.
- [67] *Chlorella pyrenoidosa* [online]. 2007-2010 [cit. 2010-02-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.zelenepotraviny.com/chlorella>>.
- [68] *Drtiče a mlýny Retsch* [online]. 2004-2010, 9.2.2010 [cit. 2010-02-18]. Dostupný z WWW: <http://www.merci.cz/katalog/zarizeni-pro-mechanicke-operace/314_drstice-a-mlyny-retsch>.

- [69] *Oscilační mlýny MM 200 a MM 301* [online]. [cit. 2010-02-18]. Dostupný z WWW: <<http://kfrserver.natur.cuni.cz/obecne/soubory/infoMM301.pdf>>.
- [70] *Chlorella centrum* [online]. 2008 [cit. 2010-03-08]. Co je Chlorella?. Dostupné z WWW: <<http://www2.cgfplus.cz/co-je-chlorella>>.
- [71] NÁMĚSTKOVÁ, P. *Stravitelnost organické hmoty a metody jejího stanovení* [online]. [cit. 2010-03-08]. Dostupné z WWW: <[http://www.eamos.cz/amos/koz/externi/koz_539/metody_stanoveni/organicke_hmoty.ppt#256,1,Stravitelnost organické hmoty a metody jejího stanovení](http://www.eamos.cz/amos/koz/externi/koz_539/metody_stanoveni/organicke_hmoty.ppt#256,1,Stravitelnost%20organické%20hmoty%20a%20metody%20jejího%20stanovení)>.
- [72] In vitro In *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 1 March 2010 [cit. 2010-03-08]. Dostupné z WWW: <http://en.wikipedia.org/wiki/In_vitro>.
- [73] TRÍNÁCTÝ, J. *Prováděcí metodika: Stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty pepsin- celulóзовou metodou užitím Daisy inkubátoru*. 2006.
- [74] MIŠURCOVÁ, L. *Nové nutriční aspekty a využití mořských a sladkovodních řas ve výživě člověka – Disertační práce*, UTB, 2008.
- [75] *ANKOM Daisy II Incubator: Přístroj pro stanovení stravitelnosti in vitro* [online]. [cit. 2010-03-11]. Dostupné z WWW: <http://www.oks.cz/_data/page/576/Daisy_Incubator_-_P5102-0304.pdf>.
- [76] *ANKOM Technology* [online]. [cit. 2010-03-11]. DAISY II Incubator - Overview. Dostupné z WWW: <http://www.ankom.com/00_products/product_daisy.shtml>.
- [77] *Pelican Scientific* [online]. 2008 [cit. 2010-03-11]. The Daisy II Incubator. Dostupné z WWW: <http://www.pelicanscientific.co.uk/analysers/the_daisy_ii_incubator.php>.
- [78] *ANKOM Technology* [online]. [cit. 2010-03-11]. Filter Bag Technology - Overview. Dostupné z WWW: <http://www.ankom.com/00_products/filterbagtech.shtml>.
- [79] *Analýza a hodnocení potravin I* [online]. UTB Zlín: Sdružení CEPAC-Morava, 2007 [cit. 2010-03-11]. Dostupné z WWW: <

les.cepac.cz/moduly/M0032_analyza_a_hodnoceni_potravin/distancni_text/modul.xml#>.

- [80] *Biotrade* [online]. 2008 [cit. 2010-03-11]. Pro Nitro. Dostupné z WWW: <<http://www.biotrade.cz/analyzatory/pro-nitro-37/>>.
- [81] *Pro-Nitro 1430* [online]. [cit. 2010-03-11]. Dostupné z WWW: <http://www.biopro.cz/__data/page/350/Pronitro_1430_-_P127.02-0504.pdf>.
- [82] HÁLKOVÁ, J., RIEGLOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M. *Kvantitativní chemická analýza*. Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka, 2000. s. 64. ISBN 80-902775-2-7.
- [83] HOLZBECHER, Z. *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie I*. Praha: Ediční středisko VŠCHT, 1991. s. 160. ISBN 80-7080-090-9.
- [84] *BMT Medical Technology s.r.o.* [online]. 2008 [cit. 2010-03-15]. VENTICELL 111 - Komfort. Dostupné z WWW: <http://www.bmt.cz/goodsdetail_ls.asp?nGoodsID=19&nDepartmentID=61&nLanguageID=1>.
- [85] SEVEROVÁ, M., BŘEZINA, P. *Návody pro laboratorní cvičení z analýzy potravin*. Vyškov: VVŠ PV Vyškov, 1998. s. 83. ISBN 80-7231-022-4.
- [86] *LABOR-KOMPLET: Vaše kompletní laboratoř* [online]. 2005 [cit. 2010-03-11]. Korundové žihací a tavící kelímky. Dostupné z WWW: <<http://www.laboratorni-potreby.cz/zihaci-a-tavici-kelimky-keramika/korundove-zihaci-a-tavici-kelimky/>>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

c	koncentrace
S	obsah sušiny
m	hmotnost
P	obsah popela ve vzorku
DMD	stravitelnost sušiny
OMD	stravitelnost organické hmoty
DMR	hmotnost vzorku po inkubaci a vysušení (bez sáčku)
DM	obsah sušiny ve vzorku
OM	obsah organické hmoty v sušině vzorku
AR	hmotnost vzorku po inkubaci, sušení a mineralizaci (bez popele sáčku)
c_1	korekce hmotnosti sáčku po inkubaci
c_2	korekce hmotnosti sáčku po mineralizaci
DMD_R	stravitelnost sušiny vzorku vztažená ke kaseinu
DMD_V	stravitelnost sušiny vzorku
DMD_K	stravitelnost sušiny kaseinu
OMD_R	stravitelnost organické hmoty vzorku vztažená ke kaseinu
OMD_V	stravitelnost organické hmoty vzorku
OMD_K	stravitelnost organické hmoty kaseinu
K_S	koeficient stravitelnosti
NL_N	obsah dusíkatých látek v nehydrolyzovaných vzorcích
NL_H	obsah dusíkatých látek v hydrolyzovaných vzorcích
N_N	obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v nehydrolyzovaných vzorcích
N_H	obsah dusíkatých látek určených přístrojem Pro Nitro v hydrolyzovaných vzorcích

m_{NL}	navážka vzorku pro analýzu
f	přepočítávací faktor
\bar{x}	aritmetický průměr
S. D.	směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Spirulina [2]</i>	22
<i>Obrázek 2: Spirulina – doplněk stravy [2]</i>	24
<i>Obrázek 3: Chlorella kessleri [42]</i>	28
<i>Obrázek 4: Chlorella kessleri – doplněk stravy [44]</i>	29
<i>Obrázek 5: Scenedesmus quadricauda [51]</i>	31
<i>Obrázek 6: Trávicí soustava [54]</i>	33
<i>Obrázek 7: Oscilační kulový mlýn MM 301 [68]</i>	43
<i>Obrázek 8: Průřez mlecí nádobkou oscilačního kulového mlýna MM 301 [69]</i>	43
<i>Obrázek 9: Daisy^{II} inkubátor [76]</i>	45
<i>Obrázek 10: Filtrační sáčky F 57 [78]</i>	46
<i>Obrázek 11: Automatická destilační jednotka Pro Nitro [80]</i>	48
<i>Obrázek 12: Laboratorní sušárna Venticell 111-Komfort [84]</i>	49
<i>Obrázek 13: Spalovací kelímky [86]</i>	50
<i>Obrázek 14: Obsah sušiny u zkoumaných vzorků</i>	64
<i>Obrázek 15: Obsah popela u zkoumaných vzorků</i>	65
<i>Obrázek 16: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolýze pepsinem u nedezintegrováných vzorků</i>	67
<i>Obrázek 17: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolýze pepsinem u dezintegrováných vzorků</i>	68
<i>Obrázek 18: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po hydrolýze pepsinem</i>	70
<i>Obrázek 19: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po hydrolýze pepsinem</i>	71
<i>Obrázek 20: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolýze pankreatinem u nedezintegrováných vzorků</i>	72
<i>Obrázek 21: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolýze pankreatinem u dezintegrováných vzorků</i>	74
<i>Obrázek 22: : Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po hydrolýze pankreatinem</i>	76
<i>Obrázek 23: Stravitelnost vzorků před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po hydrolýze pankreatinem</i>	76

<i>Obrázek 24: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrovanych vzorku.....</i>	78
<i>Obrázek 25: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u dezintegrovanych vzorku.....</i>	79
<i>Obrázek 26: Stravitelnost vzorku před a po dezintegraci v hodnotách DMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	81
<i>Obrázek 27: Stravitelnost vzorku před a po dezintegraci v hodnotách OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	81
<i>Obrázek 28: Stravitelnost nedezintegrovanych vzorku v hodnotách DMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	83
<i>Obrázek 29: Stravitelnost nedezintegrovanych vzorku v hodnotách OMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	84
<i>Obrázek 30: Stravitelnost dezintegrovanych vzorku v hodnotách DMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	86
<i>Obrázek 31: Stravitelnost dezintegrovanych vzorku v hodnotách OMD_R po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	86
<i>Obrázek 32: Srovnání koeficientu stravitelnosti u zkoumaných vzorku sladkovodních řas po hydrolyze pepsinem.....</i>	88
<i>Obrázek 33: Srovnání koeficientu stravitelnosti u zkoumaných vzorku sladkovodních řas po hydrolyze pankreatinem.....</i>	89
<i>Obrázek 34: Srovnání koeficientu stravitelnosti u zkoumaných vzorku sladkovodních řas po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	90
<i>Obrázek 35: Koeficienty stravitelnosti vzorku po hydrolyze pepsinem, pankreatinem a po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem.....</i>	92

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Systematické zařazení sladkovodních řas [1]</i>	12
<i>Tabulka 2: Systematické zařazení sinic dle [15]</i>	18
<i>Tabulka 3: Přehled enzymových aktivit vyskytujících se v různých sekcích trávicí soustavy [55]</i>	34
<i>Tabulka 4: Charakteristika zkoumaných vzorků</i>	53
<i>Tabulka 5: Obsah sušiny ve vybraných druzích sladkovodních řas</i>	64
<i>Tabulka 6: Obsah popela ve vybraných druzích sladkovodních řas</i>	65
<i>Tabulka 7: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u nedezintegrováných vzorků</i>	66
<i>Tabulka 8: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u dezintegrováných vzorků</i>	68
<i>Tabulka 9: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem u původních a dezintegrováných vzorků</i>	69
<i>Tabulka 10: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pepsinem</i>	69
<i>Tabulka 11: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u nedezintegrováných vzorků</i>	72
<i>Tabulka 12: Hodnoty DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u dezintegrováných vzorků</i>	73
<i>Tabulka 13: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem u nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků</i>	74
<i>Tabulka 14: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po hydrolyze pankreatinem</i>	75
<i>Tabulka 15: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrováných vzorků</i>	77
<i>Tabulka 16: Hodnoty DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u dezintegrováných vzorků</i>	78
<i>Tabulka 17: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem u nedezintegrováných a dezintegrováných vzorků</i>	80
<i>Tabulka 18: Zvýšení stravitelnosti po dezintegraci u hodnot DMD_R a OMD_R po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem</i>	80

<i>Tabulka 19: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R při působení enzymů na nedezintegrováných vzorky</i>	82
<i>Tabulka 20: Srovnání hodnot DMD_R a OMD_R při působení enzymů na dezintegrované vzorky</i>	85
<i>Tabulka 21: Koeficienty stravitelnosti po hydrolyze pepsinem</i>	87
<i>Tabulka 22: Koeficienty stravitelnosti po hydrolyze pankreatinem</i>	88
<i>Tabulka 23: Koeficienty stravitelnosti po kombinované hydrolyze pepsinem a pankreatinem</i>	90
<i>Tabulka 24: Srovnání hodnot koeficientů stravitelnosti při působení enzymů na zkoumané vzorky</i>	91