

Stanovení lipidů a mastných kyselin v řasách

Mgr. Jarmila Ambrožová

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Mgr. Jarmila AMBROŽOVÁ**
Osobní číslo: **T090207**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Stanovení lipidů a mastných kyselin v řasách.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- Charakterizujte mořské a sladkovodní řasy.
- Charakterizujte lipidy a mastné kyseliny a popište metody jejich stanovení.
- Zvolte vhodnou metodu pro stanovení lipidů a mastných kyselin v řasách.

II. Praktická část

- Metodika stanovení lipidů a mastných kyselin v mořských a sladkovodních řasách.
- Stanovení lipidů a mastných kyselin ve vybraných vzorcích mořských a sladkovodních řas.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] KALINA, Tomáš; VÁŇA, Jiří. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Vyd. 1. Praha : Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1036-1.
- [2] DAWCZYNSKI, Christine; SCHUBERT, Rainer; JAHREIS, Gerhard. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. Food Chemistry. 2007, 103, 891-899.
- [3] SIMOPOULOS, Artemis P. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 2008, 17 (S1), 131-134.
- [4] VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 1. Vyd. 1. Tábor : OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

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, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 10. 5. 2011

.....

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). Odpirá-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 výdělku 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Mořské i sladkovodní řasy jsou cenným zdrojem nutričních látek. Tyto nutriční látky předurčují řasy k možnému využití jako zdroj lidské výživy. Diplomová práce byla zaměřena na stanovení lipidů ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas Soxhletovou extrakcí při použití odlišných rozpouštědel. Současně bylo provedeno kvalitativní a kvantitativní stanovení mastných kyselin ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas pomocí plynové chromatografie.

Klíčová slova: mořské řasy, sladkovodní řasy, lipidy, mastné kyseliny, plynová chromatografie.

ABSTRACT

Seaweeds and freshwater algae are a valuable source of nutrients. These nutritional substances predetermine the potential of use of algae as a source of human nutrition. This diploma thesis was focused on the determination of lipids in selected samples of freshwater algae and seaweeds using Soxhlet extraction with different solvents. There was made also qualitative and quantitative determination of fatty acids in selected samples of freshwater algae and seaweeds using the gas chromatography.

Keywords: seaweeds, freshwater algae, lipids, fatty acids, gas chromatography.

Velmi ráda bych poděkovala Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D., své vedoucí diplomové práce, která, svým nesmírně vstřícným a přátelským přístupem a rovněž cennými odbornými radami a připomínkami, zásadně přispěla při tvorbě této diplomové práce.

Ráda bych také poděkovala Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D., za nesmírnou ochotu a bezmeznou trpělivost, kterou vynaložil při pomoci s výzkumnou prací.

„Není hanba přiznat, že jsme se mýlili. Jinými slovy tím říkáme, že jsme dnes moudřejší než včera.“ Alexander Pope

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 SINICE	13
1.1 ANATOMIE A MORFOLOGIE SINIC	13
1.2 ROZMNOŽOVÁNÍ SINIC	15
1.3 SYSTÉM SINIC	15
1.3.1 <i>Spirulina platensis</i>	16
1.4 VÝZNAM SINIC PRO ČLOVĚKA	18
2 ŘASY	19
2.1 ANATOMIE A MORFOLOGIE ŘAS	19
2.2 ROZMNOŽOVÁNÍ ŘAS.....	20
2.3 SYSTÉM ŘAS	21
2.4 HNĚDÉ ŘASY (<i>PHAEOPHYCEAE</i>)	23
2.4.1 <i>Laminaria japonica</i> (Kombu)	24
2.4.2 <i>Eisenia bicyclis</i> (Arame)	25
2.4.3 <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame).....	26
2.4.4 <i>Hizikia fusiformis</i> (Hiziki)	27
2.4.5 Význam hnědých řas pro člověka	28
2.5 RUDUCHY (<i>RHODOPHYTA</i>)	29
2.5.1 <i>Porphyra tenera</i> (Nori)	30
2.5.2 <i>Palmaria palmata</i> (Dulse).....	30
2.5.3 Význam ruduch pro člověka	31
2.6 ZELENÉ ŘASY (<i>CHLOROPHYTA</i>)	32
2.6.1 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	33
2.6.2 Význam zelených řas pro člověka.....	34
2.7 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ŘAS	35
2.7.1 Vlhkost, popel, sušina	35
2.7.2 Polysacharidy, vláknina	36
2.7.3 Proteiny, aminokyseliny.....	37
2.7.4 Minerální látky	38
2.7.5 Vitaminy.....	38
2.7.6 Polyfenoly, karotenoidy	39
3 LIPIDY	40
3.1 KLASIFIKACE LIPIDŮ	40
3.2 VÝSKYT LIPIDŮ	41
3.3 VÝŽIVOVÁ HODNOTA LIPIDŮ	41
3.4 MASTNÉ KYSELINY	42
3.4.1 Nasycené mastné kyseliny	42
3.4.2 Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové)	43
3.4.3 Mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami (polyenové).....	43
3.4.4 Alkinové, rozvětvené a cyklické mastné kyseliny	45
3.4.5 Mastné kyseliny s další kyslíkatou funkční skupinou.....	45
3.4.6 Vlastnosti mastných kyselin.....	46

4	STANOVENÍ LIPIDŮ	47
4.1	METODY STANOVENÍ LIPIDŮ.....	47
4.1.1	Soxhletova extrakční metoda	47
4.1.2	Metoda podle Folche.....	48
4.1.3	Metoda Bligh & Dyer.....	48
4.1.4	Stanovení lipidů podle Grossfelda	48
4.1.5	Stanovení lipidů podle Röseho a Gottlieba.....	49
4.1.6	Stanovení lipidů metodou Weibullovou - Stoldtovou.....	49
4.1.7	Stanovení lipidů metodou Schmid – Bondzynski – Ratzlaff	49
4.1.8	Stanovení lipidů ze změny hustoty rozpouštědla metodou C. N. T. A.	49
4.1.9	Refraktometrická metoda Leithova.....	49
4.1.10	Stanovení lipidů metodou butyrometrickou.....	49
4.1.11	Denzitometrická metoda	50
4.1.12	Stanovení obsahu lipidů nukleární magnetickou rezonancí.....	50
4.2	METODY STANOVENÍ MASTNÝCH KYSELIN.....	50
4.2.1	Stanovení mastných kyselin s konjugovanými a izolovanými dvojnými vazbami	50
4.2.2	Stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií (GC).....	51
4.2.3	Stanovení <i>trans</i> -nenasycených mastných kyselin.....	52
4.2.4	Stanovení mastných kyselin tenkovrstevnou chromatografií	52
5	LIPIDY V ŘASÁCH	53
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	58
6	CÍL PRÁCE	59
7	MATERIÁL A METODIKA PRÁCE.....	60
7.1	POUŽITÝ MATERIÁL.....	60
7.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, POMŮCKY A PŘÍSTROJE	60
7.2.1	Chemikálie	60
7.2.2	Standardy.....	61
7.2.3	Pomůcky.....	61
7.2.4	Přístroje a zařízení.....	61
7.3	STANOVENÍ CELKOVÝCH LIPIDŮ	61
7.3.1	Extrakce lipidů hexanem.....	62
7.3.2	Extrakce lipidů směsí metanol, chloroform, voda 1 : 2 : 1	62
7.4	ÚPRAVA VZORKŮ PRO PLYNOVOU CHROMATOGRAPHII.....	63
7.4.1	Příprava metylesterů.....	63
7.4.2	Metoda vnitřního standardu	64
7.5	KVALITATIVNÍ A KVANTITATIVNÍ ANALÝZA MASTNÝCH KYSELIN.....	64
7.5.1	Analýza na plynovém chromatografu	65
8	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	66
8.1	CELKOVÝ OBSAH LIPIDŮ	66
8.1.1	Celkové obsahy lipidů – hexan	66
8.1.2	Celkový obsah lipidů – metanol, chloroform, voda	67
8.2	STANOVENÍ MASTNÝCH KYSELIN V ŘASÁCH.....	69
8.2.1	Kvalitativní stanovení mastných kyselin	69
8.2.2	Kvantitativní stanovení mastných kyselin	73

8.3	VLIV EXTRAKCE NA OBSAHY MASTNÝCH KYSELIN VE VZORCÍCH ŘAS	83
8.3.1	Vliv extrakce na obsah SFAs v řasách	83
8.3.2	Vliv extrakce na obsah MUFAs v řasách.....	84
8.3.3	Vliv extrakce na obsah PUFAs v řasách	85
ZÁVĚR	86
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	89
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	95
SEZNAM OBRÁZKŮ	96
SEZNAM TABULEK	98
SEZNAM PŘÍLOH	100

ÚVOD

Řasy jsou již od dávných dob zdrojem lidské potravy, zejména v asijských zemích Japonsku (od 4. století) a Číně (od 6. století). Tyto dvě země společně s Jižní Koreou patří k největším spotřebitelům řas jako zdroje lidské potravy. Trend konzumace řas se rozšiřuje do celého světa a mimo klasického využití řas jakožto zdroj fykokoloidů, se lze i v České republice setkat se sušenými řasovými produkty, případně doplňky stravy, které obsahují biomasu převážně sladkovodních řas a s doplňky z mořských řas obsahujícími jod.

Řasy jsou známy svým vysokým obsahem polysacharidů, minerálních látek a některých vitaminů. Obsahují také bioaktivní látky jako proteiny, lipidy a polyfenoly s antibakteriální, antivirovou a antimykotickou aktivitou. Řasy navíc z nutričního hlediska obsahují málo kalorií.

Složení lipidů mořských řas je zajímavé tím, že řasy obsahují velké množství polynenasycených mastných kyselin včetně esenciálních ω -6 a ω -3 mastných kyselin. Dnešní společnost je charakterizována zvýšeným příjmem nasycených mastných kyselin a ω -6 mastných kyselin a naopak sníženým příjmem ω -3 mastných kyselin. Řasy obsahují vyšší podíl ω -3 mastných kyselin, jejichž význam spočívá v tom, že jsou stavebními součástmi buněčných komponent a membrán, snižují obsah krevních lipidů a jsou prekurzory biochemických a fyziologických reakcí v těle, působí proti ateroskleróze, hypertenzi, zánětlivým onemocněním, psoriáze, cystické fibróze, revmatické artritidě a slouží jako prevence mentálních onemocnění. Hlavním zdrojem těchto mastných kyselin jsou mořské řasy, jednobuněčný fytoplankton a ryby.

Ve své diplomové práci jsem se zabývala stanovením celkového obsahu lipidů a kvalitativním a kvantitativním stanovením mastných kyselin u vybraných druhů sladkovodních a mořských řas. V teoretické části práce je uvedena obecná charakteristika řas a vybrané druhy sladkovodních a mořských řas jsou popsány blíže. Dále je zde uvedena charakteristika lipidů a mastných kyselin a možnosti jejich stanovení. V praktické části byla řešena problematika stanovení lipidů Soxhletovou extrakcí při použití různých rozpouštědel a následné kvalitativní a kvantitativní stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SINICE

Sinice jsou nejstarší fotoautotrofní organizmy vyskytující se na Zemi. První paleontologické nálezy sinic jsou datovány do období před 3,2 – 3,5 miliardy let. Fotoautotrofní způsob výživy znamená, že si sinice vytvářejí z jednoduchých, na energii chudých, anorganických látek energeticky bohaté organické látky za pomoci fotosyntetických pigmentů a za přítomnosti světla. Zdrojem uhlíku pro sinice je CO₂. Sinice jsou prokaryotní organizmy s jednobuněčnou nebo vláknitou stélkou. Stélka není rozčleněna na kořen, stonek a list. Vlákniťatá stélka může být větvená nebo nevětvená. Sinice se vyskytují kosmopolitně a mohou žít jednotlivě nebo tvořit kolonie. Častá je u nich také symbióza s lišejníky, kapradinami či nahosemennými rostlinami. [1, 2, 3]

1.1 Anatomie a morfologie sinic

Na rozdíl od řas se u sinic nevyskytuje buněčné jádro ani buněčné organely (např. chloroplasty, mitochondrie, vakuoly, Golgiho aparát aj.). [1]

Buněčná stěna je složena převážně z lipoproteinových membrán a pevného peptidoglykanu, jehož hlavní složku tvoří murein. Povrch buněčné stěny je kryt slizovou pochvou složenou z lipopolysacharidů (tzv. glykokalyx). Protoplast buňky sinice je rozdělen na výrazněji zbarvenou chromatoplazmu s převahou tylakoidů a světleji zbarvenou centroplazmu ve středové části, kde se vyskytuje cytoplazma, DNA, ribozomy a jiné struktury. Sinice jsou povahou své buněčné stěny řazeny mezi gramnegativní bakterie. [1, 5]

Fotosyntetické pigmenty jsou uloženy v tylakoidech (tj. membránová struktura, v níž je uložen fotosyntetický aparát a probíhá zde fotosyntéza) a také ve fykobilizomech (bílkovinná tělíška složená z fykoerytrinu, fykokyaninu a allofykokyaninu uložená na povrchu tylakoidů). Fykobilizomy umožňují řasám pohlcovat zbytky procházejícího světla ve velkých hloubkách nebo například v jeskyních, kde je nízká intenzita světla. Poměr zastoupení jednotlivých pigmentů ve fykobilizomech se může v závislosti na měnících se okolních podmínkách modifikovat. V tylakoidech jsou uloženy převážně chlorofyl *a*, ale u některých druhů se zde vyskytuje i chlorofyl *b*, *c*, *d*, α i β -karoten, zeaxantin a echinenon. Zásobními látkami sinic jsou sinicový škrob (α -1,4-polyglukan), volutin (kondenzované ortofosforečnaný) a cyanofycinová zrna (dusíkatá zásobní látka). [1, 4, 5]

U sinic se vyskytuje kruhová DNA, která není oddělena od ostatního obsahu buňky jadernou membránou. V buňce jsou také přítomny karboxyzomy, které obsahují enzym RUBISCO podílející se na fixaci CO₂ v Calvinově cyklu. [1]

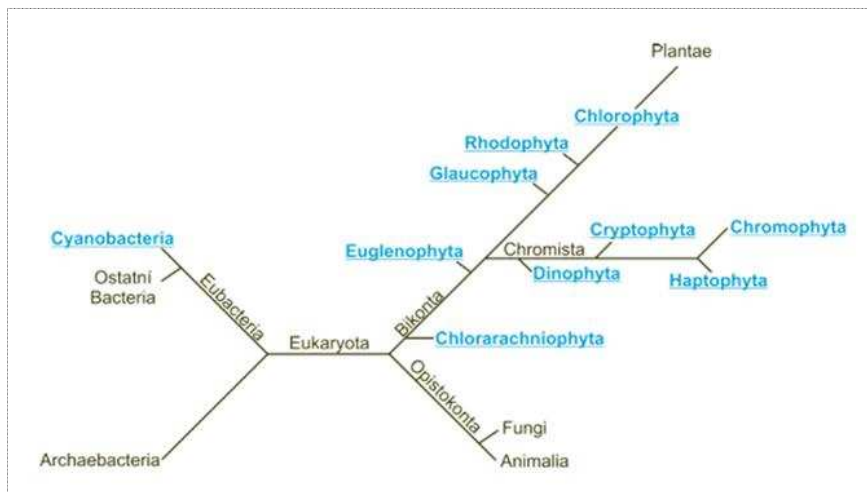
V buňkách zejména planktonních sinic se mohou nacházet aerotopy, které jsou složeny z ultramikroskopických plyných tělísek s glykoproteinovou stěnou propustnou pro plyny rozpuštěné ve vodě. Aerotopy mohou měnit svou velikost v závislosti na poloze ve vodním sloupci a tím i regulovat polohu sinic. [1]

U vláknitých sinic se ještě mohou vyskytovat zvláštní buňky heterocyty a akinety (Obr. 1). Heterocyty jsou větších rozměrů než klasické vegetativní buňky. Jsou obklopeny tlustou buněčnou stěnou, vyplněnou homogenním obsahem a slouží k fixaci vzdušného dusíku za anaerobních podmínek za účasti nitrogenázy. Akinety jsou také obklopeny tlustou buněčnou stěnou, ale jejich obsah je heterogenní a obsahují granula. Zpravidla bývají ještě větších rozměrů než heterocyty. Akinety slouží k přežití sinic v nepříznivých podmínkách. [1, 5]



Obr. 1. Vlákno vláknité sinice s vegetativními buňkami, heterocytem a akinetou [6]

Z vývojového hlediska nemají sinice přímou morfologickou návaznost na řasy (Obr. 2), avšak v mnohém jsou podobné ruduchám. Sinice bývají pro své zbarvení často označovány jako modrozelené řasy.



Obr. 2. Postavení sinic a řas v taxonomickém systému [5]

1.2 Rozmnožování sinic

Rozmnožování u sinic je pouze nepohlavní (tj. nevytvářejí se specializované pohlavní buňky). Jednobuněčné sinice se rozmnožují dělením. Vlákňité sinice se rozmnožují hormogoniemi (tj. kousky vláken sinic schopné samostatného života) anebo odškrfováním jednotlivých buněk (tzv. exocytů). [2, 3]

1.3 Systém sinic

Skutečný počet žijících taxonů sinic nelze přesně určit, protože doposud nebyly důkladně prozkoumány tropické oblasti. Dle Van den Hoeka byl v roce 1995 znám počet přibližně 150 rodů a 2 000 druhů. Tato čísla jsou ale dle odborníků poměrně nízká. Sinice obsahují pouze jednu třídu *Cyanophyceae* a 4 řády (*Chroococcales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales* a *Stigonematales*). [1]

Impérium: *PROKARYOTA*

Říše: *Bacteria*

Oddělení: *Sinice (Cyanobacteria)*

Třída: *Cyanophyceae*

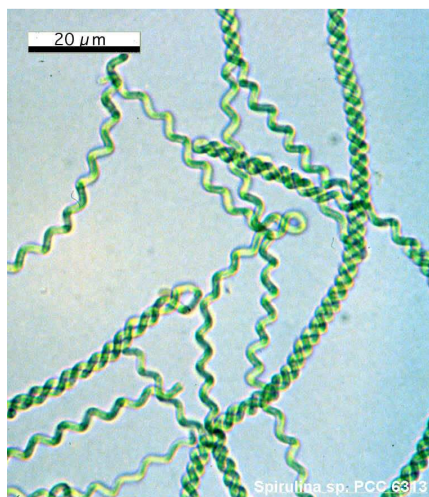
Řád: *Oscillatoriales*

Rod: *Spirulina*

Druh: *Spirulina platensis* [1, 5]

1.3.1 *Spirulina platensis*

Spirulina je vláknitá nevětvená sinice bez heterocytů a akinet s cylindrickými buňkami (Obr. 3). Vlákná jsou hustě spirální a příčné přehrádky mezi buňkami jsou špatně viditelné. *Spirulina* je řazena mezi bentické druhy a fakultativní halofyty. [5]



Obr. 3. *Spirulina* sp. [6]

Spirulina obsahuje vysoký podíl proteinů, které tvoří 55 – 70 % sušiny v závislosti na okolních fyzikálně chemických podmínkách růstu. Pro porovnání, v masu a rybách se nachází průměrně 15 – 20 % proteinů, v sóji 35 % a ve vejcích 12 %. Tyto proteiny jsou plnohodnotné, tzn., že obsahují všechny esenciální aminokyseliny. Ve srovnání se zdroji klasických bílkovin, jako jsou maso a mléko, se zde metionin, cystein a lyzin vyskytují v nižší koncentraci. [7, 8]

Spirulina vykazuje také vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin (PUFAs) a to 1,5 – 2 % z celkového obsahu lipidů, který se pohybuje mezi 5 – 14,3 %. Tato sinice je obzvláště bohatá na γ -linolenovou kyselinu (GLA), která zaujímá až 36 % z celkových PUFAs. Dále obsahuje kyselinu α -linolenovou (ALA), kyselinu linolovou (LA), kyselinu stearovou (SDA), kyselinu eikosapentaenovou (EPA), dokosahexaenovou kyselinu (DHA) a arachidonovou kyselinu (AA). [7, 8]

Spirulina obsahuje vitaminy B₁ (thiamin), B₂ (riboflavin), B₃ (nikotinamid), B₆ (pyridoxin), B₉ (kyselinu listovou), B₁₂ (kyanokobalamin), C, D a E a je také bohatým zdrojem draslíku. Kromě draslíku je zde zastoupen vápník, chrom, měď, železo, hořčík, mangan, fosfor, selen, sodík a zinek. [7]

Spirulina obsahuje mnoho pigmentů jako chlorofyl *a*, xantofyl, β -karoten, echinenon, myxoxantofyl, zeaxantin, allofykokyanin a jiné. Další výhodou této sinice je, že v buněčné stěně neobsahuje celulózu, a proto je snadno stravitelná. Za 18 hodin je stráveno více než 85 % proteinů. [7, 8]

Tato sinice je uměle pěstována po celém světě a nachází nejrůznější uplatnění. *Spirulina* může být sbírána, sušena a používána přímo jako pokrm (např. v Asii a Africe pokrm zvaný dihé) anebo jsou z ní, vzhledem k obsahu vysoce cenných látek, tyto biologicky aktivní látky extrahovány a přidávány do vybraných potravin (např. polévky, těstoviny). *Spirulina* je také prodávána ve formě tablet a kapslí jako doplněk stravy. Obvyklé složení komerčních preparátů obsahujících sinici *Spirulina* je 60 % proteinů, 20 % sacharidů, 5 % lipidů a 7 % minerálních látek (Obr. 4). Díky tomuto složení jsou tyto preparáty dokonalým zdrojem bílkovin a jejich pozitivem je, že jsou bez cholesterolu, nízkokalorické a nízkotučné. [7, 9]



Obr. 4. Doplněk stravy Bio Spirulina [11]

Mnohé klinické testy ukazují, že *Spirulina* může být používána i jako doplňkový preparát při léčbě různých onemocnění. Používá se při léčbě hypercholesterolemie, aterosklerózy, ke snížení premenstruačního napětí, artritidy a ke snižování váhy. Dále potom působí pozitivně na snižování množství bílých krvinek po radioterapii či chemoterapii a celkově zlepšuje odolnost imunitního systému. Sloučeniny zodpovědné za tyto léčebné účinky jsou především látky s antioxidačními vlastnostmi jako PUFAs, fykokyanin a fenoly. [7, 10]

Od 80. let je *Spirulina* využívána také jako krmivo pro zvířata jako jsou ryby a drůbež. Další možné využití sinice *Spirulina* je na polích, kdy lze v kombinaci s jinými hnojivy

dosáhnout mnohem vyšších výtěžností plodin. Fykokyanin extrahovaný ze sinice *Spirulina* je používán jako potravinářské nebo kosmetické barvivo a také jako netoxické barvivo pro sledování metabolických procesů v lékařství. [1, 7]

1.4 Význam sinic pro člověka

Kromě výše uvedených jednoznačných pozitiv sinic lze jmenovat i některá negativa spojená s jejich výskytem i samotnou konzumací.

Negativní význam sinic pro člověka spočívá v tvorbě vodního květu, který vzniká při přemnožení planktonních sinic a řas jako důsledek eutrofizace vod. Eutrofizace vod je způsobena zvyšujícím se vyplavováním dusíkatých a fosforečných hnojiv z přehnojených polí, používáním polyfosforečnanů v syntetických detergentech a rostoucím množstvím splaškových vod obsahujících fosforečnany z fekálií. Některé druhy sinic (např. *Microcystis aeruginosa* a *Aphanizomenon flos-aquae*) jsou také schopné produkovat toxiny, což způsobuje značné vodohospodářské problémy a při kontaktu s kůží člověka mohou vyvolat silné alergické reakce. [1, 2, 12]

Jako další negativní vlastnost sinic ve vztahu k výživě lze označit vysoký obsah nukleových kyselin, které jsou metabolicky transformovány na kyselinu močovou. Ta se ukládá v kloubech a může způsobovat dnu. Dále potom látka feoforbitin, produkt rozpadu chlorofylu, může způsobovat fotoalergické reakce. Navíc v preparátech užívaných jako doplňky stravy se mohou vyskytovat patogenní mikroorganismy. Dalším problémem při využití sinice *Spirulina* ve výživě by mohla být přítomnost lipopolysacharidů v buněčné stěně sinic, které mohou způsobovat nepřiměřené reakce imunitního systému teplokrevných živočichů (puchýře, otoky, žaludeční nevolnosti a poruchy imunitního systému). [1]

2 ŘASY

Řasy jsou nejjednodušší rostlinné organizmy s eukaryotickou stavbou buňky. Jsou převážně fotoautotrofní. Některé druhy řas jsou schopny kromě anorganických látek přímo využívat i látky organické (tzv. mixotrofní výživa). [1, 2]

Dříve byly řazeny spolu s houbami a lišejníky mezi nižší, vývojově starší rostliny. Dnes již bylo od tohoto systému upuštěno. Je to poměrně nejednotná a velmi pestrá skupina rostlin. Zástupci se liší kombinací fotosyntetických barviv, chemickým složením zásobních látek i buněčných stěn a submikroskopickou stavbou některých organel. Řasy představují předchůdce rostlin vyšších, suchozemských.

Vyskytují se ve sladkých i slaných vodách, v půdě, na kamenech, rostlinách i v prostředích s velkými teplotními extrémy. [1, 3]

Řasy tvoří tři vývojové větve, červenou, hnědou a zelenou. Jako zdroj lidské potravy jsou využívány především hnědé a červené řasy.

Studiem řas se zabývá algologie (z latinského *Algae* – řasy) nebo též fykologie (z řeckého *Phykos* – řasy). [1, 2]

2.1 Anatomie a morfologie řas

Jejich tělo je tvořeno stélkou, která není rozlišena na kořen, stonek a list a nejsou zde přítomna vodivá pletiva. U řas se vyskytuje jednobuněčná nebo i mnohobuněčná stélka. Velikost jednotlivých druhů řas se pohybuje od mikroskopických rozměrů neviditelných pouhým okem až po několik metrů dlouhé chaluhy žijící v mořích. Důležitým determinačním znakem je organizační stupeň stélky. Jsou rozlišovány následující typy stélek:

- a) Kokální stélka – jednobuněčná, jednojaderná nebo mnohojaderná; buňky se mohou seskupovat do kolonií či cenobií (tj. zvláštní typ kolonie, kde jsou všechny organizmy stejně staré); buněčná stěna je často vrstevnatá.
- b) Monadoidní stélka – jednobuněčná, jednojaderná bičíkatá stélka; polární stavba stélky – přední zúžený konec nese bičíky a zadní konec je zaoblený; výskyt pulzujících vakuol (tj. buněčné organely vyrovnávající koncentrační spád) a stigmat (tj. světločivná skvrna).
- c) Kapsální stélka – jednobuněčná, jednojaderná stélka ve slizu; polární stavba, výskyt stigmat, pulzujících vakuol a pseudocilií (tj. nepohyblivé bičíky).

- d) Rhizopodiiová stélka – jednobuněčná, jedno i mnohoaderná stélka s panožkami; vyskytují se stigmata i pulzující vakuoly.
- e) Trichální stélka – mnohobuněčná vláknitá stélka jednoduchého či rozvětveného tvaru; vyskytují se vlákna pravá, kde jsou buňky spojeny plazmodezmaty, i vlákna nepravá.
- f) Heterotrichální stélka – je odvozena od trichální a rozlišují se zde hlavní a postranní větévky.
- g) Pseudoparenchymatická stélka – je odvozena od heterotrichální stélky; tvoří se zde primitivní pletiva.
- h) Sifinokladální stélka – vláknitá či vakovitá stélka složená z mnohoaderných buněk.
- i) Sifonální stélka – tvořena jednou mnohoadernou buňkou diferenciovanou na rhizoid (přichycení k podkladu), kauloid (připomínající stonek) a fyloid (připomínající list). [1, 2, 3]

2.2 Rozmnožování řas

Celá skupina řas je natolik rozsáhlá a rozmanitá, že sice existují některé typy rozmnožování, které se dají označit jako obecné, ale téměř každá ze tříd má svá výrazná specifika. Rozmnožování lze obecně rozdělit do dvou skupin:

- 1) Nepohlavní rozmnožování:
 - a) Nejjednodušším příkladem nepohlavního rozmnožování je dělení, kdy je mateřská buňka rozdělena na dvě buňky dceřiné (mitózou). Při vícenásobném rozdělení mateřské buňky mohou vznikat dva typy spor. Jednak pohyblivé zoospory a nepohyblivé spory označované jako tzv. autospory.
 - b) Dalším možným typem rozmnožování je vegetativní rozmnožování pomocí odštěpených částí vláken, která pak dorůstají v nového jedince. [1, 3]
- 2) Pohlavní rozmnožování: Při pohlavním rozmnožování dochází ke splnutí dvou buněk za vzniku zygoty.
 - a) Splývat mohou jednak buňky vegetativní, potom je toto rozmnožování označováno jako hologamie. Jedná se o nejjednodušší způsob pohlavního rozmnožování.

- b) Pokud dochází ke splynutí gamet (tj. pohlavních buněk), které se tvoří v gametangíích (tj. útvar, v němž se vytváří pohlavní buňky), jedná se o gametogamii.

Gametogamii lze rozdělit dále dle charakteristiky splývajících gamet následovně:

- Izogamie, kdy obě gamety jsou stejně velké a mají stejný tvar.
- Anizogamie, kdy obě gamety mají stejný tvar, ale liší se velikostí.
- Oogamie je jednou z nejvyspělejších rozmnožovacích metod u řas, kdy samčí pohyblivá androgameta oplodňuje nepohyblivou samičí buňku oosféru, která se vyvíjí v oogoniu. Obecně se samčí gamety buď mohou pohybovat pomocí bičků, (tzv. spermatozoidy) anebo mohou být nepohyblivé, (tzv. spermacie).

- c) Při gametangiogamii splývají celá gametangia. [1, 2, 3]

U řas se v jejich životním cyklu většinou vyskytuje jak nepohlavní tak i pohlavní rozmnožování. Po oplození vzniká zygota. Po zesílení buněčné stěny zygospora a ta může přečkávat nepříznivé období.

Řasy prodělávají životní cykly, což jsou strukturální a funkční změny od mladého jedince k dospělému organismu schopného nového rozmnožování. [3]

Znalosti o typu rozmnožování řas jsou využívány při umělé kultivaci řas. Některé mořské řasy mohou být kultivovány vegetativně, jiné musí projít odděleným reprodukčním cyklem zahrnujícím střídání generací sporofytu a gametofytu.

2.3 Systém řas

Stáří hnědých řas je odhadováno na zhruba 7 – 15 milionů let. Fylogenetický strom byl tvořen na základě sekvencí DNA genomu pro ribozomální RNA a genu pro velkou podjednotku RUBISCO. Třída hnědých řas obsahuje 265 rodů, 1 500 – 2 000 druhů a 14 řádů. [1]

Fosilní nálezy ruduch jsou datovány až do období před 1,2 miliardy let a jsou srovnatelně staré jako některé zelené řasy. Podle stavby stélky a dalších znaků jsou ruduchy rozdělovány do 3 tříd, z nichž každá je charakteristická jinými vlastnostmi. Do první třídy *Cyanidiphyceae* jsou řazeny jednobuněčné ruduchy bez většího významu. Druhou třídou je třída

Bangiophyceae s vývojově primitivnějšími ruduchami a třetí třídou je třída *Florideophyceae* s ruduchami se složitější stavbou stélky. Celkový počet druhů ruduch je odhadován na 5 500. [1]

Systém zelených řas se stále vyvíjí. Na konci 20. století doznal značných změn a i nyní jsou dále intenzivně studovány možnosti fylogeneze metodami molekulární fylogeneze. Značně používanou metodou je analýza sekvencí 18S rDNA. Systém se pak následně dále upravuje. Systém vychází z průběhu mitózy, cytokineze (tj. dělení cytoplazmy) a stavby bičíkového aparátu. Zelené řasy jsou děleny do 7 tříd. [1]

Impérium: *PROKARYOTA*

Říše: *Chromista*

Podříše: *Chromobiotae*

Oddělení: *Heterokontophyta*

Třída: *Phaeophyceae*

Řád: *Laminariales*

Rod: *Laminaria*

Druh: *Laminaria japonica* (Kombu)

Rod: *Eisenia*

Druh: *Eisenia bicyclis* (Arame)

Rod: *Undaria*

Druh: *Undaria pinnatifida* (Wakame)

Řád: *Fucales*

Rod: *Hizikia*

Druh: *Hizikia fusiformis* (Hiziki)

Říše: *Plantae*

Podříše: *Biliphytae*

Oddělení: *Rhodophyta*

Třída: *Bangiophyceae*

Podtřída: *Bangiophycideae*

Řád: *Bangiales*

Rod: *Porphyra*

Druh: *Porphyra tenera* (Nori)

Třída: *Florideophyceae*

Podtřída: *Florideophycideae*

Řád: *Palmariales*

Rod: *Palmaria*

Druh: *Palmaria palmata* (Dulse)

Oddělení: *Chlorophyta*

Třída: *Trebouxiophyceae*

Řád: *Chlorellales*

Rod: *Chlorella*

Druh: *Chlorella pyrenoidosa*

[1, 2, 4, 13]

2.4 Hnědé řasy (*Phaeophyceae*)

Hnědé řasy se ve většině případů vyskytují v moři a brakických vodách a to v oblasti litorálu a sublitorálu do hloubky asi 50 m. Jsou vždy mnohobuněčné a přirostlé k podkladu. Jejich rozměry se pohybují od několika centimetrů až po několik metrů dlouhé pletivé stélky. V chladnějších vodách produkují větší množství biomasy. Hnědé řasy mohou být jednoleté anebo se dožívat až 15 let. [1, 2, 5, 13]

Stélka hnědých řas je odvozena od heterotrichálního typu stélky a nazývá se stichoblast. Tyto řasy rostou za pomoci specializované dělicí buňky anebo pletiva. U některých druhů hnědých řas dochází k funkční i histologické diferenciaci pletiva a stélka je dokonce diferencována na rhizoid, kauloid a fyloid.

Buněčná stěna hnědých řas je tvořena fibrilární celulózní složkou a amorfní složkou (tj. alginové kyseliny a algináty). Alginové kyseliny a algináty tvoří 20 – 40 % sušiny řas.

Hnědé řasy produkují velké množství slizu, jehož hlavní složkou je polysacharid fukoidan s obsahem až 38 % síry.

Chloroplasty mají terčíkovitý nebo páskovitý tvar, jsou žlutohnědé barvy s pyrenoidem (tj. bílkovinné tělísko oválného nebo kulovitého tvaru obsahující enzymy). Na povrchu chloroplastu se nacházejí čtyři membrány a vnitřní prostor je vyplněn rovnoběžnými lamelami tvořenými trojicemi tylakoidů (tj. membránová struktura, v níž je uložen fotosyntetický aparát a probíhá fotosyntéza). Pod povrchem chloroplastu se nachází věncová lamela.

Jádro obsahuje jadérko. Hnědé řasy produkují těkavé organobromidy, které se mohou negativně podílet na stavu ozonové díry. Mimo to, produkují i fukosan, baktericidní fenol, který působí odpudivě na potencionální konzumenty řas a také zbarvuje stélku dohněda. [1, 2, 5, 13]

Hnědé řasy obsahují fotosyntetická barviva chlorofyl *a*, *c*₁, *c*₂ a *c*₃, β-karoten, fukoxantin a violaxantin. Zásobními látkami jsou laminaran (β-1,3-glukan), mannitol a olej, které jsou uloženy v plazmě a vakuolách.

U hnědých řas dochází k rodozměně (tj. střídání pohlavní a nepohlavní generace). Nepohlavně se rozmnožují pomocí zoospor a vegetativně. Pohlavně se rozmnožují izogamií, anizogamií a oogamií. [1, 2, 5, 13]

2.4.1 *Laminaria japonica* (Kombu)

Tato řasa roste spíše v chladnějších zónách moří do hloubky kolem 10 m nebo i hlouběji v závislosti na zákalu vody. *Laminaria japonica* je přichycena k podkladu silným rhizoidem a fyloid je až přes 1 metr dlouhý a 10 – 20 cm široký se zvlněným okrajem. Pokud teplota vody přesáhne 23 °C, řasa začne hnít. Pokud se teplota opět sníží pod 23 °C, řasa svůj růst obnoví. Druhově původní jsou v Asijsko-Pacifickém regionu. [14]

Tato řasa je spíše známá pod komerčním označením Kombu. Přes 90 % těchto řas je pěstováno uměle. Mladé rostliny jsou přichyceny k lanům (Obr. 5) upevněným na plovácích v mořích u Japonska a Koreji. Japonsko produkuje dvě třetiny Kombu přirozenou cestou. Ve 20. století začal stoupat význam této řasy jako potraviny a od roku 1960 je vyvážena do celého světa. Kombu se používá v čínské kuchyni jako jedna z ingrediencí na přípravu polévky. V Japonsku je konzumována běžně se sledi anebo lososem. Lze z ní připravit i čaj. Hektarový výnos je v současné době asi 26 tun mokré řasy na hektar. Největším producentem je Čína (zodpovídá asi za 90 % světové produkce), dále pak Korea a Japonsko.

V roce 2000 Čína dosáhla produkce 4 mil. tun za rok a v dnešní době 5 mil. tun ročně. Jakmile teplota vody dosáhne 21 °C, řasy musí být sklizeny a usušeny. Mohou být usušeny rovnou na slunci anebo nejprve prosoleny a pak následně usušeny. *Laminaria* je surovinou pro výrobu mannitolu, jodu a alginátů. Výhodou použití uměle pěstovaných řas je stabilní přísun těchto řas o kontrolovatelné kvalitě. [14, 15]

Laminaria sp. obsahuje 15 – 39 % popelovin, 38 – 61 % polysacharidů, 0,3 – 2,9 % mastných kyselin a 3 – 21 % proteinů a jsou zde zastoupeny veškeré esenciální aminokyseliny, které jsou dostupné po celý rok. *Laminaria* obsahuje i vitaminy a minerální látky ovšem v nižších koncentracích, než je tomu například u Nori. Hnědé řasy také obecně obsahují jod, který v červených řasách chybí. Fukoidan obsažený v řase *Laminaria japonica* se využívá i v lékařství jako prostředek proti ateroskleróze. [16]



Obr. 5. Pěstování řasy *Laminaria japonica* [17]

2.4.2 *Eisenia bicyclis* (Arame)

Tato řasa roste nejčastěji v mělkých vodách v hloubce 8 – 10 m. Je rozšířena v mírných pobřežních oblastech od centrálního po jižní Japonsko. Fyloid je dlouhý od několika desítek centimetrů až po několik metrů (Obr. 6) v závislosti na lokálních podmínkách. *Eisenia* je často využívána jako součást potravy nejen v Japonsku, ale stále častěji i mimo něj (Obr. 7). Fukoidan obsažený v této řase je využíván jako inhibitor adheze nádorových buněk na různé substráty. [16, 18]

Mezi nejvíce zastoupené prvky patří K, Na, Mg a Ca. Nejvíce obsaženými vitaminy jsou A, C, E, D₃, B₂ a B₁ a největší aminokyselinový podíl tvoří kyselina glutamová, kyselina asparagová a leucin. [19]

Obr. 6. *Eisenia bicyclis* [20]

Obr. 7. Sušená Arame [21]

2.4.3 *Undaria pinnatifida* (Wakame)

Undaria pinnatifida (Obr. 8) je druhově původní v mořích poblíž Japonska, Číny a Koreji. V Japonsku je také označována jako Wakame. Později byla introdukována do moře Středozemního a v dnešní době se běžně vyskytuje i při pobřeží Itálie, Španělska a dalších. *Undaria* roste na krytých skalách a útesech v sublitorální zóně do hloubky 15 – 20 metrů. Rychlost jejího růstu je až 1 cm za den a při teplotě nad 25 °C zastavuje růst. [15, 22]

V Japonsku a Koreji je ročně sklizeno kolem 500 000 tun této řasy a o něco méně v Číně, protože zde není tolik populární jako např. *Laminaria*. V Japonsku jsou také šlechtěny hybridy s vyšší rychlostí růstu a příznivějším nutričním složením. Tato řasa je také uměle pěstována na lanech v jihovýchodní Asii a nachází využití jako čerstvá či sušená potravina. Je sklizena od února do června, stélky jsou opláchnuty sladkou vodou a usušeny. [22]

Undaria pinnatifida vykazuje vysoký obsah vlákniny, ale jak je tomu u všech ostatních hnědých řas má poměrně nízký obsah lipidů. Tato řasa je bohatá na obsah vitaminů skupiny B, zejména niacinu. Bohužel usušením Wakame ztrácí část svých vitaminů a cenných látek. Obsahuje značné množství mikroelementů jako mangan, měď, kobalt, železo, nikl a zinek.

Nasekaná Wakame je velmi populární a přidává se do instantních potravin, jako jsou nudle polévky anebo může být součástí salátů (Obr. 9). Je připravována z blanšírované, solené a následně usušené řasy. Takto upravená má dlouhou trvanlivost a po rehydrataci svěží zelenou barvu. [15]



Obr. 8. *Undaria pinnatifida* [23]



Obr. 9. Salát připravený z *Wakame* [24]

2.4.4 *Hizikia fusiformis* (Hiziki)

Hizikia fusiformis je hnědá řasa s jemně vějířovitými listy. V Japonsku je sbírána ve volné přírodě a uměle kultivována v Koreji. Roste na dně eulitorálu a v horní části sublitorálu. Až 90 % produkce Koreje je vyváženo do Japonska. Vzhledem k tomu, že jsou i v dnešní době problémy s produkcí semen této řasy, jsou místo toho sbírány mladé rostlinky přímo z přírody. Ty jsou poté umísťovány po třech až čtyřech na lana ve vzdálenosti asi 10 cm (Obr. 10). Kultivace probíhá od listopadu do května a po ní následuje sklizeň. Po sklizni je řasa promyta mořskou vodou a sušena na slunci. Vzhledem k tomu, že *Hizikia* obsahuje velké množství pigmentů a ty jí dodávají mírně hořkou chuť, je dále nutné řasu upravit. Řasa je vařena až 5 hodin ve vodě společně s dalšími hnědými řasami jako *Eisenia bicyclis* a jiné. Po povaření je dále řasa pařena 5 hodin, krájena na malé kousky a sušena na slunci. [13]

Obsah proteinů, lipidů, sacharidů a vitamínů je obdobný jako u řasy *Laminaria japonica*. Bohužel část vitamínů je zpracováním zničena. Obsah železa, mědi a hořčíku je vyšší než u řasy *Laminaria*. Jakožto i u ostatních hnědých řas je obsah tuku relativně nízký, asi jen kolem 1,5 %, ale až 25 % z mastných kyselin tvoří kyselina eikosapentaenová (EPA). [13]



Obr. 10. *Hizikia fusiformis* [25]

2.4.5 Význam hnědých řas pro člověka

Hnědé řasy jsou obzvláště v přímořských oblastech, ale dnes už i mimo ně, využívány jako potraviny, doplňky stravy, krmivo pro zvířata, palivo, anebo i materiál na kompost. Z hnědých řas se také dříve vyráběla soda (uhličitan sodný), potaš (uhličitan draselný) a jod. Čerstvé stélky těchto řas mají také schopnost v sobě zakoncentrovávat jod, ten se zde vyskytuje v koncentraci až 0,3 %. [1]

Algináty obsažené v buněčných stěnách řas jsou částečně zodpovědné za jejich pružnost, a proto řasy rostoucí v méně klidných vodách obsahují více alginátů. Hlavní použití alginátů spočívá v zahušťování vodných roztoků a tvorbě gelu. Vhodnými druhy hnědých řas na výrobu alginátů jsou *Laminaria*, *Ecklonia*, *Sargassum* a jiné. Při extrakci jsou vyzískávány sodné soli alginátů rozpustné ve vodě a to v suché, práškové podobě. Hořečnaté a vápenaté soli alginátů jsou ve vodě nerozpustné. Algináty nacházejí uplatnění v potravinářském, farmaceutickém, textilním a papírenském průmyslu. V potravinářství se dají využít jako zahušťovadla do zmrzlin, jogurtů, omáček a jiné. Algináty jsou pro člověka nestavitelné, ale dodávají mu pocit sytosti a tak nacházejí využití v nejrůznějších preparátech na hubnutí. Algináty jsou také využívány jako imobilizační preparáty, které umožňují pomalou difuzi látek, např. léčiv. Algináty je také možné využít k impregnaci látek, zvýšení barvitelnosti textilií, zahušťování barvy, jako pojidlo při výrobě kartonů nebo k výrobě umělých vláken. Algináty jsou získávány již od 20. let 20. století. V současné době jejich produkce zahrnuje asi 21 500 tun. Algináty jsou spolu s agary a karagenany získávány z ruduch a jsou označovány jako fykokoloidy. [1, 15]

V oblasti zdravotnictví jsou zkoumány látky s cytostatickým účinkem objevené u druhů *Bifurcaria galapagensis*, *Stylopodium zonale* a jiné. Dále u některých druhů hnědých řas jako *Laminaria japonica* či *Ecklonia cava* jsou zkoumány enzymatické extrakty, které vykazují antioxidační vlastnosti. Z druhu *Laminaria japonica* je také extrahován fukoidan, který vykazuje i antikoagulační vlastnosti. [26]

2.5 Ruduchy (*Rhodophyta*)

Ruduchy se vyskytují převážně v mořích v oblasti litorálu a sublitorálu a v menší míře ve sladkých vodách. Ruduchy jsou organizmy s jednobuněčnou i mnohobuněčnou pletivnou a vláknitou stélkou a nevyskytují se zde bičíkaté formy. [26]

Buňky ruduch kryje buněčná stěna z mikrofibril celulózy. U některých zástupců jsou mikrofibrily složeny z 1,3-xylanu. U třídy *Bangiophyceae* je buněčná stěna tenčí než u třídy *Florideophyceae*. Významnou a vysoce zastoupenou složkou buněčné stěny jsou hydrofilní polygalaktany, jejichž podjednotky jsou spojeny sulfátovými můstky. Jsou to polymery β -(1,4)-galaktózy a α -(1,3)-anhydrogalaktózy. Tyto fykolooidy se za přítomnosti K^+ a Ca^{2+} iontů mění v trojrozměrnou síť s vlastnostmi koloidů. Na povrchu stélek a reprodukčních buněk se vyskytuje sliz. Ten slouží k připevnění k substrátu a také k vyvrstvení reprodukčních buněk při hydrataci. [1, 3, 27]

Chloroplasty vykazují jednotnou stavbu u celého oddělení. Jsou uloženy v cytoplazmě bez spojení s jádrem nebo endoplazmatickým retikulem. Na povrchu se nachází dvě obalné membrány a uvnitř leží tylakoidy, které na svém povrchu nesou fykobilizomy. V buňce ruduch třídy *Bangiophyceae* se vyskytuje pouze jediný hvězdicovitý chloroplast s kulovitým pyrenoidem. U třídy *Florideophyceae* se vyskytují kruhové nebo páskovité chloroplasty bez pyrenoidu. Fotosyntetické pigmenty jsou uloženy v tylakoidech a jedná se o chlorofyl *a* a u některých druhů se vyskytuje i chlorofyl *d*. Z dalších pigmentů jsou v tylakoidech uloženy α -karoten, β -karoten, zeaxantin a lutein. Převažujícím zbarvením sinic je červená a je za ni zodpovědný především fykoerytrin. [1, 27]

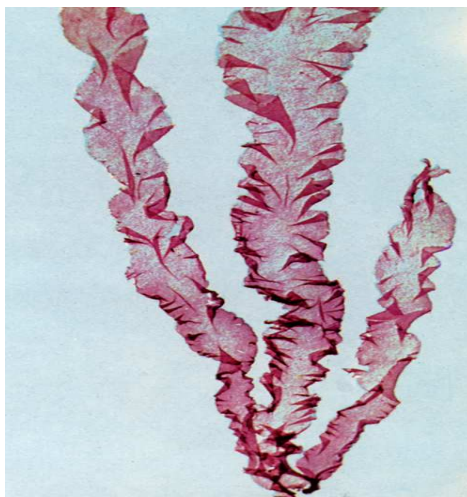
Zásobní látkou ruduch je florideový škrob (α -1,4-glukan) uložený v cytoplazmě ve formě zrn. [1]

Ruduchy se rozmnožují nepohlavně sporami a pohlavně oogamií. Typická je pro ně rodověna. [1]

2.5.1 *Porphyra tenera* (Nori)

Porphyra tenera je neodmyslitelnou součástí pokrmů v Japonsku, Číně a Koreji. Tyto řasy se vyskytují přirostlé ke kamenitému podkladu v oblasti litorálu a stélka dosahuje až 1,5 m (Obr. 11). Jsou poměrně často kultivovány uměle a v dnešních podmínkách je možné dosáhnout až čtyř sklizní za chladnou část roku. Čerstvé stélky jsou zpracovávány na jemnou drť, lisovány do tenkých plátů o hmotnosti 3 g. V Japonsku je tato řasa pěstována a prodávána pod označením Nori a v Číně Zikai. Významný je vysoký obsah snadno stravitelných aminokyselin a vysoký podíl vitaminů B₃, C a B₁₂. Největším producentem Nori je Čína, následovaná Japonskem a Koreou. Japonsko vyprodukuje až 400 000 tun mokré řasy za rok. [1, 15, 28]

Porphyra sp. patří mezi jedny z nejvíce výživných mořských řas. Je bohatá na bílkoviny a volné aminokyseliny, které jí dodávají typickou chuť. Jsou to především alanin, kyselina glutamová a glycin. Obsahuje 7 – 50 % proteinů, a jejich stravitelnost dosahuje až 75 %. Obsah cukrů je velmi nízký, jen 0,1 %. Obsah vitaminu A, C, kyseliny listové a niacinu je poměrně vysoký. Je často používána jako součást sushi (Obr. 14). Sushi je připravováno tak, že je vařená rýže položena na plátek syrové ryby či masa a obalena plátkem Nori. Dále může být Nori krájena na kousky a používána jako součást sušenek, anebo do instantních jídel. [1, 15]



Obr. 11. *Porphyra tenera* [29]

2.5.2 *Palmaria palmata* (Dulse)

Dulse, jak je někdy tato řasa označována, má kožovité listy a vyskytuje se především v zóně eulitorálu (Obr. 12). Vyskytuje se hlavně v oblasti Irska, u východního pobřeží

Kanady a USA. Je sklízena ručně při odlivu a to od května do října. Po sklizni jsou řasy sušeny na slunci a v celku baleny do pytlů. Pokud došlo během sušení k rozlámání řasy, jsou z nich připravovány vločky anebo prášek. Nachází využití jako koření, přísádek do kukuřičných lupínků, jako součást polévek, slaný snack anebo v syrové podobě na žvýkání. *Palmaria* je bohatým zdrojem minerálních látek, zvláště železa. [15]



Obr. 12. *Palmaria palmata* [30]

2.5.3 Význam ruduch pro člověka

Ke konzumaci řas jsou nejčastěji využívány druhy *Porphyra*, *Iridea*, *Chondrus* a jiné. Fykokoloidy, které jsou z ruduch získávány, nachází uplatnění ve farmaceutickém i potravinářském průmyslu. Mezi hlavní zástupce, z nichž je agar získáván patří *Gelidium*, *Phylophora*, *Gelidiella* a jiné., u nichž stélka obsahuje až 40 % agaru a jsou označovány jako agarofyty. Agar se z chemického hlediska skládá z agarózy a agaropektinu, jejichž hlavní složkou jsou sulfátované polygalaktany. Agar při zahřívání tvoří koloidní roztok a po zchlazení průzračný pevný gel. Agar je získáván z promytých řas, které jsou vařeny ve vodě několik hodin. Agar se rozpustí ve vodě a směs je zfiltrována. Filtrát se ochladí a vytvoří gel o obsahu asi 1 % agaru. Voda z gelu musí být odstraněna buď opětovným rozmražením a následným zmražením anebo stlačením za použití tlaku a zbylá voda je vysušena. Potom dochází k mletí částic na požadovanou velikost. Agar je hojně využíván v potravinářství, farmacii i pro mikrobiologickou činnost (živné půdy). [1, 15, 27]

Karagenany jsou složeny také z polygalaktanů a jsou získávány z ruduch označovaných jako karagenofyty tj. *Chondrus*, *Iridea* a jiné. Existují různé karagenany lišící se chemickými vlastnostmi, strukturou a následným použitím. Komerčně jsou označovány iota, kap-

pa a lambda. Lambda karagenany netvoří gel, ale jen silně viskózní roztoky. Při výrobě je nutné vše z řas vymýt rozpuštěním ve zředěném hydroxidu. Nerozpuštěný zbytek karagenanu a celulózy je pak sušen a prodáván jako částečně rafinovaný. Pro výrobu rafinovaného karagenanu jsou řasy promyty, vařeny několik hodin v hydroxidu a filtrovány. Rafinovaný karagenan obsahuje asi 1 – 2 % karagenanu. Karagenan nalézá využití jako zahušťovač a stabilizátor potravinářských produktů (např. šlehačka, zmrzlina), jako emulgační činidlo ve farmaceutickém průmyslu, přísada do krmení pro zvířata a v kosmetickém průmyslu jako gelový osvěžovač vzduchu a součást past na zuby. [1, 15, 27]

V lékařství jsou používány druhy *Digenea simplex* a *Corallina officinalis*, které obsahují kainovou kyselinu, která je účinná proti parazitickým červům. Dalším možným využitím v lékařství je léčba zánětů a zástava krvácení. [1]

2.6 Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Zelené řasy patří mezi jedny z druhově nejbohatších a také nejrozšířenějších řas. Vyskytují se zde všechny typy stélek kromě rhizopodiové.

Na povrchu buňky se nachází buněčná stěna, která chrání buňku, udržuje její tvar a je permeabilní. Je vícevrstevná, složená z celulózních mikrofibril a pektinu. Někdy může být buňka nahá anebo ji kryjí šupiny. U pohyblivých buněk se na povrchu vyskytují bičíky. Jsou stejně dlouhé, tzv. izokontní, většinou jich je sudý počet a jsou na povrchu hladké. [1, 2, 3]

V buňce se nachází chloroplasty, v nichž probíhá fotosyntéza (tj. přeměna sluneční energie na chemickou a její následné zakomponování do sacharidů a jiných organických látek, např. škrobu). Chloroplast má na povrchu dvě obalné membrány a uvnitř 2 – 6 tylakoidů v jedné lamele bez spojení s buněčným jádrem. Tylakoidy srůstají v lamely. Ve většině případů se zde vyskytují pyrenoidy. Na povrchu pyrenoidů bývají škrobová zrna, která vytváří souvislý obal. V chloroplastu se nevyskytují grana (jsou to tylakoidy seřazené na sebe a tvořící jeden celek), jaká známe u vyšších rostlin. U bičíkovců se v chloroplastech vyskytují načervenalá stigmata. [1, 2, 3]

Řídicím ústředím buňky je jádro. Je nositelem genetické informace a navíc v něm probíhá např. syntéza RNA. Zhruba uprostřed jádra se nachází jadérko. V jadérku dochází k syntéze r-RNA. V buňce se dále nachází vakuola, která slouží k ukládání zásobních

a odpadních látek. Energetickým a dýchacím centrem jsou mitochondrie. Poslední významnou organelou je Golgiho aparát, v němž dochází k úpravě a transportu bílkovin.

Fotosyntetickými pigmenty jsou u zelených řas chlorofyl *a*, chlorofyl *b*, α -, β -karoten a několik xantofylů (např. zeaxantin, lutein aj.).

Zásobní látkou zelených řas je škrob (α -1,4-polyglukan). Jeho zrna se shromažďují uvnitř chloroplastu mezi tylakoidy nebo na povrchu pyrenoidu. Některé sifonální zelené řasy (např. *Caulerpa*), si škrob ukládají do zvláštních leukoplastů. Jako doplňkové zásobní látky se vyskytují monosacharidy a disacharidy a jejich deriváty (alkoholy aj.) a polyfosfátová zrna (volutin). Některé skupiny mají ještě další specifické zásobní látky (např. mannan, xylan aj.). [1, 2, 3]

Zelené řasy se rozmnožují nepohlavně dělením a pohlavně gametogamií i gametangiogamií.

2.6.1 *Chlorella pyrenoidosa*

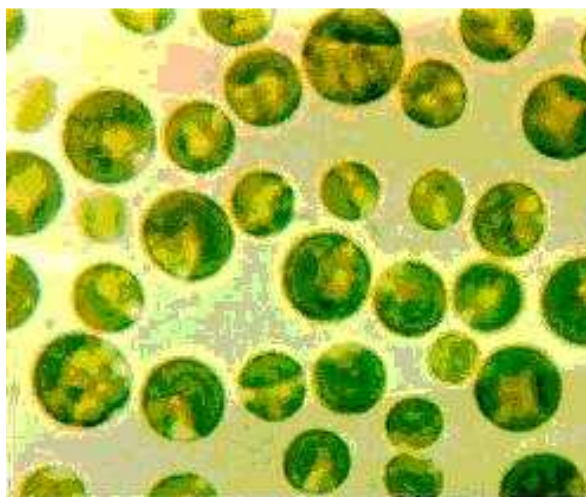
Chlorella pyrenoidosa je jednobuněčná zelená kokální řasa s kulovitým tvarem buněk o velikosti 1 – 10 μm (Obr. 13). Má vrstevnatou hladkou buněčnou stěnu, nástěnný chloroplast a miskovitý pyrenoid. [1]

Růst této řasy je při ideálních podmínkách velmi rychlý, dokáže zdvojnásobit svou hmotu za 3 – 6 hodin. *Chlorella* je uměle pěstována především v Japonsku, ale i v České republice. V Japonsku je uplatňováno pěstování v kruhových bazéncích s míchadly. V Třeboni je pěstována na nakloněných plochách, po nichž suspenze pomalu stéká. Po sklizni je suspenze zahuštěna, promyta opakovaně čistou vodou a dezintegrována. Dezintegrací řas je zvýšena stravitelnost až třikrát. Posledním krokem je sušení. Celý proces je poměrně šetrný, takže zůstávají zachovány všechny cenné složky. *Chlorella* obsahuje 57 % proteinů, 26 % sacharidů a 2 % lipidů. [31, 32]

Chlorella je využívána jako zdroj potravinářských barviv nebo přímo jako složka potravy lidí i hospodářských zvířat. Řasová sušina se přidává do krmiva např. kuřatům či selatům, aby bylo dosaženo zvýšených přírůstků masa. Nevýhodou je jejich vysoký obsah nukleových kyselin a určitých alergizujících látek vznikajících při zpracování. *Chlorella* je také používána jako modelový organizmus v genetice či toxikologii. [1, 2, 3]

Dnes jsou v lékárnách běžně dostupné preparáty sloužící jako doplněk stravy s obsahem řasy *Chlorella* (Obr. 14). Z ní lze extrahovat látku zvanou chlorellin, která má zřetelné antibiotické účinky na některé bakterie.

Vědci dnes studují další možné využití zelených řas a to především *Chlorella* při výrobě bioetanolu. V liberecké spalovně odpadů, která spolupracuje s Mikrobiologickým ústavem AV ČR, již tyto pokusy začaly. Při spalování odpadů spalovna produkuje CO₂, který je zaváděn do bioreaktorů s řasami. Ty jej využívají a rostou dokonce lépe, než když se k jejich pěstování využívá potravinářský CO₂. I když je používán odpadní CO₂, řasy splňují veškeré parametry a bylo by možné je případně využít i ke konzumaci. Otázkou zůstává ekonomická náročnost při pěstování řas. Řasy mají velký potenciál na to stát se novými zdroji na výrobu biopaliv. Velmi rychle rostou, nemají nároky na zemědělskou půdu, výnosy jsou až 15 krát vyšší než je tomu např. u dnes používané kukuřice a sklizně jsou celoroční. U nás je realizována zatím pouze první fáze procesu, tj. pěstování řas. Pokud by se začala uskutečňovat i následná výroba biolihu, jednalo by se o bezodpadovou technologii, protože odpad při výrobě biolihu lze efektivně využít jako krmná směs pro hospodářská zvířata. [33]



Obr. 13. *Chlorella pyrenoidosa* [34]



Obr. 14. Doplněk stravy [35]

2.6.2 Význam zelených řas pro člověka

Kromě výše uvedených využití nachází řasa *Chlorella* uplatnění i jako bioindikátor. Některé řasy mají obecně vlastnost bioindikace. Bioindikace je schopnost určitých organismů průkazně reagovat na faktory z vnějšího prostředí jako jsou např. znečišťující látky. Řasy reagují specificky buď svým výskytem, složením, změnou vitality či vývojovými zvlášt-

nostmi. Například řasa *Enteromorpha sp.*, společně s dalšími druhy hnědých řas a ruduch, byla použita na studium kontaminace vod z průlivu Magellan v Chile stopovými prvky (Ag, Hg, Ni, V, Zn, Sb a Pb). Nejvíce obsaženým prvkem v řasách byl zinek. Tyto výzkumy jsou samozřejmě ovlivňovány salinitou vody, hodnotou pH, živinami, stářím řas a časovém období sběru rostlin. Ale i přes to se řasy hojně využívají po celém světě k biomonitoringu. [36]

2.7 Chemické složení řas

Řasy jsou známy svým vysokým obsahem polysacharidů, minerálních látek a některých vitaminů. Obsahují také bioaktivní látky jako proteiny, lipidy a polyfenoly s antibakteriální, antivirovou a antimykotickou aktivitou. Řasy navíc z nutričního hlediska obsahují málo kalorií. [16]

Chemické složení řas je ovlivněno mnoha faktory, jako jsou druh řasy, její geografický výskyt, okolní klimatické podmínky, intenzita světla, roční období, chemismus vody, použitá část rostliny a jiné. [15, 16]

2.7.1 Vlhkost, popel, sušina

Vlhkost čerstvých řas je poměrně vysoká, může tvořit až 94 % biomasy. Obsah popela je v řasách ve srovnání se zeleninou vysoký a skládá se z makrobiogenních a mikrobiogenních prvků. Obsah popela u řasy *Laminaria spp.* je nejnižší na podzim a naopak na jaře je nejvyšší. U obsahu sušiny jsou hodnoty na jaře nejnižší a naopak na podzim nejvyšší. Obsah vlhkosti, sušiny a popela ve vybraných druzích řas je uveden v tabulce 1. [16]

Tab. 1. Obsah vlhkosti (V), sušiny (S) a popela (P) v [%] u vybraných druhů řas [16, 19, 37, 38, 39, 40]

Řasy	Hnědé			Červené		Zelené
Druh	<i>L. sp.</i>	<i>U. pinnatifida</i>	<i>H. fusiformis</i>	<i>P. sp.</i>	<i>P. palmata</i>	<i>Ch. sp.</i>
V [%]	73 – 94	88		77 – 91	84	
S [%]	91	89,3	89,4	93,1		
P [%]	15 – 45	18 – 40		7 – 24	12 – 37	1,5– 20

2.7.2 Polysacharidy, vláknina

Řasy obsahují velké množství polysacharidů a to především stavebních (např. agar, karagenan, algináty), které jsou využívány jako stabilizátory, zahušťovadla, emulgátory, krmino a potraviny. Obsah polysacharidů v řasách se pohybuje od 38 % do 74 % sušiny. Méně zastoupené polysacharidy, které se nachází v buněčné stěně hnědých mořských řas jsou fukoidany, xylany jsou obsaženy v některých červených a zelených mořských řasách a ulvany v zelených řasách. Řasy obsahují také zásobní polysacharidy jako laminaran (β -1,3-glukan) v hnědých mořských řasách a florideový škrob v červených mořských řasách. [16, 37]

Při průchodu některých polysacharidů, (např. agar, karagenan, fukoidan) trávicí soustavou, nedochází k jejich trávení, a proto jsou považovány za vlákninu. Fukoidan je také zkoumán v souvislosti s jeho protinádorovou, antikoagulační, antitrombotickou, protizánětlivou a antivirovou aktivitou. [37]

Vláknina v mořských řasách je tvořena rozpustnou frakcí tvořenou především agarem, algináty a laminarany. Mezi nerozpustnou frakcí řasové vlákniny je řazena celulóza, mannan, xylan a další. V Tab. 2 jsou uvedeny obsahy vlákniny ve vybraných druzích jedlých mořských řas, které se pohybují od 35 do 75 % sušiny.

Tab. 2. Obsah vlákniny v [%] sušiny u vybraných druhů řas [16, 38, 41, 42]

Řasy	Hnědé			Červené	
	<i>Laminaria</i> sp.	<i>Undaria</i> <i>pinnatifida</i>	<i>Eisenia</i> <i>arborea</i>	<i>Hizikia</i> <i>fusiformis</i>	<i>Porphyra</i> sp.
Vláknina [%]	36	35 – 46	74,6	49,2 – 62,3	35 – 49,8

Pro srovnání obsah vlákniny u fazolí je 36,5 % v sušině, u broskví 66,8 % v sušině a 72,3 % v sušině u sojových bobů. [16]

Doporučená denní dávka je 24 g vlákniny na den. V ČR je obecně příjem vlákniny nižší než udává denní doporučená dávka. [41, 42]

2.7.3 Proteiny, aminokyseliny

Zastoupení proteinů v mořských řasách je značně závislé na druhu. Obecně je nejnižší u hnědých řas, 3 – 15 % sušiny v porovnání se zelenými a červenými řasami, které obsahují 10 – 47 % proteinů v sušině. Například u řasy *Palmaria palmata* proteiny tvoří až 44 % sušiny, což je srovnatelný obsah proteinů jako v sojových bobech. V Tab. 3 jsou uvedeny obsahy proteinů ve vybraných druzích řas, které dokládají velkou variabilitu jejich proteinového složení.

Tab. 3. Obsah proteinů v [%] sušiny u vybraných druhů řas [16, 19, 32, 43]

Řasy	Hnědé			Červené		Zelené
Druh	<i>Laminaria</i> sp.	<i>Undaria</i> <i>pinnatifida</i>	<i>Eisenia</i> <i>bicyclis</i>	<i>Porphyra</i> sp.	<i>Palmaria</i> <i>palmata</i>	<i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>
Proteiny [%]	3 – 21	11 – 24	13,1	7 – 50	8 – 35	57

Většina druhů mořských řas obsahuje veškeré esenciální aminokyseliny a jsou bohatým zdrojem kyselých aminokyselin jako kyselina glutamová a asparagová. Ale podle některých výzkumů je tento obsah kyselých aminokyselin nižší u vývojové větve červených řas než u ostatních vývojových větví řas. [16, 43]

Nejvíce obsažené aminokyseliny řasy *Porphyra tenera* jsou alanin, glutamová kyselina a glycin. U řasy *Undaria pinnatifida* alanin, glycin a prolin. V některých druzích hnědých a červených řas byla zjištěna přítomnost veškerých esenciálních aminokyselin. Některé se vyskytují v nižších koncentracích, než udává standardní nebo vaječný protein. Limitujícími aminokyselinami v řasách jsou Trp, Leu, Ile, Met, Cys a Lys. Na základě obsahu esenciálních aminokyselin je vypočteno aminokyselinové skóre (AAS), které slouží pro hodnocení výživové hodnoty proteinů. U proteinů z červených mořských řas dosahuje AAS hodnot 40 – 90 %, u mořských hnědých řas je to pouze 20 – 70 %. [16]

Stravitelnost řasových proteinů se liší v závislosti na druhu řasy, ale také na použité metodě. Např. *in vitro* metodou byla stanovena stravitelnost u řasy *Porphyra tenera* 78 % a u druhu *Undaria pinnatifida* až 87 %. [16]

2.7.4 Minerální látky

Řasy mají velkou schopnost akumulovat z životního prostředí minerální prvky, jejichž zastoupení je až 36 % v sušině řas.

Pro vysoký obsah jodu jsou hnědé řasy tradičně používány na léčbu onemocnění štítné žlázy, především *Fucus vesiculosus* a *Laminaria*. *Laminaria* je hlavním zdrojem jodu a obsahuje 0,15 – 0,8 % jodu v sušině. Řasy jsou také důležitým rostlinným zdrojem vápníku, jehož obsah může tvořit 7 – 34 % sušiny. V závislosti na vyšším obsahu vápníku jsou řasy vhodné ke konzumaci pro děti, těhotné ženy, adolescenty a starší lidi, kteří jsou nejčastěji vystaveni riziku nedostatku vápníku. I když řasy obsahují vysoké koncentrace minerálních látek, vazbou některých minerálních látek na aniontové polysacharidy, (např. algináty), může dojít ke snížení jejich využitelnosti. [37]

Železo a měď jsou v řasách přítomny v mnohem vyšších koncentracích, než například ve špenátu nebo mase. 8 g sušené řasy *Palmaria palmata* obsahuje mnohem více železa – 6,4 mg, než 100 g čerstvého syrového hovězího steaku, který obsahuje 1,6 mg železa. Řasy jsou také výborným zdrojem hořčíku. [42]

Vzhledem k vysoké absorpční kapacitě mohou řasy obsahovat rizikové prvky (např. olovo, rtuť, kadmium, arzen) v toxických koncentracích. Tento fakt je nutné vzít v úvahu při používání řas jako krmiv a potravy a provádět na tyto látky testy. Vzhledem k tomu, že přítomnost těžkých kovů v řasách je dána jejich výskytem v okolí, může být obsah toxických kovů v řasách pouze lokální záležitostí. Koncentrace arzenu jsou podstatně vyšší u hnědých řas v důsledku obsahu sulfátovaných polysacharidů v buněčné stěně sloužících jako vazebná místa kovů, než u červených a zelených řas. [16, 42]

Řasy však musí splňovat určité parametry v obsahu těžkých kovů, toxických látek ale i mikrobiální kontaminace, aby bylo chráněno zdraví spotřebitele. První legislativní předpisy pro obsahy těžkých kovů a toxických látek v jedlých mořských řasách byly stanoveny ve Francii. Kritéria kvality pro jedlé mořské řasy prodávané ve Francii, regulace v USA a parametry pro řasové doplňky stravy v EU jsou uvedeny v příloze *PI*. [16]

2.7.5 Vitaminy

Řasy jsou bohatým zdrojem vitaminů skupiny B. Příkladem mohou být řasy mořské, které obsahují vitamin B₁₂. Ten je doporučován při léčbě známek stárnutí, proti chronickému únavovému syndromu a anemii. [37]

Čerstvé řasy také poskytují hodnotný zdroj vitamínu C, jehož obsah se pohybuje mezi 500 – 3000 mg/kg v sušině zelených a hnědých řas. Tento obsah vitamínu C je srovnatelný s petrželkou, černým rybízem či paprikou. Červené řasy obsahují méně vitamínu C – 100 až 800 mg/kg v sušině. Tento vitamin je důležitý pro posilování obranyschopnosti organismu, aktivuje absorpci železa ve střevě, vychytává volné radikály a podílí se na regeneraci vitamínu E. [37]

Vitamin E zabraňuje svou antioxidační aktivitou oxidaci lipoproteinů nízké hustoty. Hnědé řasy vykazují vyšší koncentrace tohoto vitamínu, než řasy zelené a červené. Z hnědých řas je nejvyšší obsah u *Fucaceae* a to 200 – 600 mg/kg sušiny. Hnědé řasy také obsahují α , β a γ tokoferoly, zelené a červené řasy jen α tokoferoly. [37]

2.7.6 Polyfenoly, karotenoidy

Polyfenoly obsažené v řasách se liší od polyfenolů obsažených u suchozemských rostlin. Je to velmi heterogenní skupinou molekul poskytující variabilní možnosti potencionální biologické aktivity. Nejvyšší obsah polyfenolů se vyskytuje v hnědých řasách, kde tvoří 5 – 15 % sušiny. Antioxidační aktivita polyfenolů hnědých a červených řas již byla prokázána testy *in vitro* a v dnešní době je stále intenzivně zkoumána. [37]

Hnědé mořské řasy jsou obzvláště bohaté na β -karoten, fukoxantin a violaxantin. Hlavními karotenoidy u červených řas jsou α -karoten, β -karoten a jejich dihydroxylované deriváty lutein a zeaxantin. Zastoupení karotenoidů u zelených řas je obdobné jako u vyšších rostlin. Karotenoidy jsou považovány za silné antioxidanty a i u karotenoidů z řas byla tato vlastnost prokázána. [37]

3 LIPIDY

Lipidy (řecky *Lipos*) jsou značně heterogenní skupinou sloučenin. Jejich společnou vlastností je relativní nerozpustnost ve vodě a naopak dobrá rozpustnost v nepolárních rozpouštědlech jako je chloroform, hexan a jiné. Mezi lipidy jsou tedy řazeny tuky, oleje, vosky a příbuzné sloučeniny, které se vyskytují v přítomnosti vlastních lipidů a jsou označovány jako doprovodné látky lipidů (steroly, vitaminy, barviva, přírodní antioxidanty aj.).

Lipidy, zvláště neutrální, tj. mastné kyseliny, estery glycerolu, steroly atd., jsou významnou složkou potravy díky své vysoké energetické hodnotě. Dále jsou nepostradatelným zdrojem esenciálních mastných kyselin a lipofilních vitaminů. V lidském těle je tuk uložen do zásob v tukové tkáni v podkoží a podílí se i na ochraně vnitřních orgánů před mechanickým poškozením. Tuk dále potom slouží jako tepelný izolátor a nepolární lipidy se podílí na šíření depolarizačních vln podél myelinových nervových vláken. Lipidy jsou hlavní funkční a strukturální složky buněčných a mitochondriálních membrán a podílí se na transportu vitaminů A, D, E, K v lipoproteinových částicích. V neposlední řadě lipidy dotvářejí organoleptické vlastnosti pokrmů. [44, 45, 46, 47]

3.1 Klasifikace lipidů

- 1) Jednoduché lipidy (tzv. homolipidy) – estery mastných kyselin s různými alkoholy, dále jsou děleny dle struktury vázaného alkoholu.
 - a) Tuky – estery mastných kyselin s glycerolem. Tuky v kapalném skupenství jsou označovány jako oleje.
 - b) Vosky – estery mastných kyselin s vyššími jednosytnými alkoholy.
- 2) Složené lipidy (tzv. heterolipidy) – estery obsahující mimo mastnou kyselinu a alkohol ještě další kovalentně vázané skupiny.
 - a) Fosfolipidy – lipidy obsahující mimo mastnou kyselinu a alkohol i zbytek kyseliny fosforečné. Tato skupina je dále dělena na glycerolfosfolipidy (alkoholem je zde glycerol) a sfingofosfolipidy (alkoholem je zde sfingosin).
 - b) Glykolipidy – lipidy obsahující mastnou kyselinu, sfingenin a sacharidovou složku.
 - c) Ostatní složené lipidy – např. sulfolipidy, aminolipidy, lipoproteiny aj.
- 3) Prekurzory a odvozené lipidy – jsou zde řazeny mastné kyseliny, glycerol, steroidy, alkoholy včetně glycerolu a sterolů. Mastné aldehydy a ketolátky, v tučích rozpustné vitaminy a hormony. [44, 46]

3.2 Výskyt lipidů

Lipidy se vyskytují téměř ve všech buňkách a mikroorganismech a tzn., že jsou obsaženy i v potravinách. Obsah lipidů se pohybuje mezi 1 – 5 % v klasických tkáních a pletivech. Pokud se jedná o pletiva a tkáně se zásobní funkcí, je obsah přítomných lipidů vyšší a to až 90 % v sušině.

V potravinách je obsah lipidů proměnlivý. Lipidy se nevyskytují v cukru, vybraných cukrovinkách a nápojích. Nízký obsah lipidů se vyskytuje např. u brambor, vaječného bílku, ovocných šťáv. Střední obsah lipidů v rozmezí 1 – 5 % v sušině vykazují obiloviny, luštěniny a zelenina. Vyšší obsah lipidů se nachází v mase, mléce a vaječném žloutku. Vysoký obsah lipidů je obsažen v ořechách, máku a slanině. [48]

3.3 Výživová hodnota lipidů

Volných mastných kyselin přijímá člověk v potravě poměrně málo. Lipidy konzumované člověkem jsou enzymaticky štěpeny částečně již v žaludku a dokonaleji pak v tenkém střevě na 2-monoacylglyceroly a mastné kyseliny a ty jsou následně vstřebávány střevní stěnou. Tuky, které obsahují krátké a středně dlouhé mastné kyseliny jsou vstřebávány lépe např. mléčný tuk. Naopak tuky obsahující delší mastné kyseliny jsou vstřebávány hůře např. řepkový olej, rybí tuk. Nenasycené tuky jsou resorbovány lépe, než je tomu u nasycených. Mastné kyseliny člověk získává jednak z potravy, ale dokáže si je i sám syntetizovat. Na rozdíl od rostlin si člověk neumí syntetizovat polyenové mastné kyseliny řady ω -3 a ω -6, tzv. esenciální mastné kyseliny. Tyto kyseliny anebo jejich prekurzory musí v dostatečné míře přijímat z potravy a poměr ω -6/ ω -3 by měl být maximálně 5 : 1, ideálně 1 : 1. [44, 48, 49]

Je doporučeno, aby maximálně 30 % z celkového energetického příjmu tvořily tuky. Přičemž až pět šestin přijatých lipidů tvoří živočišné nasycené lipidy a zbylá jedna šestina jsou polynenasycené lipidy rostlinného původu. Energie získaná příjmem 1 g tuku je 37 kJ (9 kcal). Lipidy přijímané potravou by měly obsahovat nasycené, monoenové a polyenové mastné kyseliny v poměru 1 : 1,4 : 0,6. Polyenové mastné kyseliny řady ω -6 by se měly podílet na celkovém energetickém příjmu 5 – 8 % a kyseliny řady ω -3 1 – 2 %. Do celkového množství přijatého tuku se musí započítat nejen tzv. tuky zjevné, které jsou při přípravě do pokrmů přidávány, ale i tzv. tuky skryté, které jsou přirozenou součástí suroviny. Například pro muže ve věku 19 – 59 let s doporučeným energetickým příjmem 10 000 kJ by denní dávka lipidů měla představovat 80 g. [44, 45, 48, 49, 50]

3.4 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny FAs (z angl. *Fatty acids*) jsou nejdůležitější složkou lipidů a jsou definovány jako karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. FAs se vyskytují především jako estery v přírodních tucích a olejích, ale mohou se vyskytovat i v podobě neesterifikované jako tzv. volné FAs. Zpravidla se zde vyskytuje sudý počet uhlíkových atomů, protože jsou většinou syntetizovány spojením C_2 jednotek.

Mastné kyseliny jsou děleny:

- a) Nasycené mastné kyseliny – neobsahují žádnou dvojnou vazbu.
- b) Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (tzv. monoenové kyseliny).
- c) Nenasycené mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami (tzv. polyenové kyseliny).
- d) Mastné kyseliny s trojnými vazbami a s různými substituenty (rozvětvené, cyklické, s kyslíkatými, sirnými nebo dusíkatými funkčními skupinami). [44, 46]

3.4.1 Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny SFAs (z angl. *Saturated fatty acids*) se běžně vyskytují v přírodních lipidech a někdy bývají také označovány jako satureované. Obsahují 4 až 60 atomů uhlíku a řetězec je většinou nerozvětvený. V příloze *P II* je uveden přehled základních nasycených FAs vyskytujících se v lipidech. V potravinách se nejčastěji vyskytuje kyselina palmitová a stearová. Kyselina palmitová je přítomna téměř ve všech lipidech, ale zpravidla nebývá převládající mastnou kyselinou. Kyseliny s lichým počtem atomů uhlíku se vyskytují ve stopových množstvích např. v tuku přežvýkavců. SFAs jsou odvozeny od kyseliny octové. [41, 44, 46, 48]

Obecný vzorec SFA: $C_nH_{2n+1}COOH$.

Volné nasycené FAs s více než 10 atomy uhlíku jsou za pokojové teploty tuhé krystalické bezbarvé látky. FAs s více než 8 atomy uhlíku jsou ve vodě jen nepatrně rozpustné. SFAs jsou chemicky velmi stálé a mění se buď při dlouhodobém zahřívání anebo při vysokých teplotách. [48]

SFAs jsou dobře stravitelné za předpokladu, že se vyskytují v lipidech ve směsi s nenasycenými FAs.

3.4.2 Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové)

Nenasycené mastné kyseliny MUFAs (z angl. *Monounsaturated fatty acids*) se od sebe navzájem liší počtem atomů uhlíku, polohou dvojně vazby a prostorovou konfigurací. Prostorová konfigurace bývá u přirozeně se vyskytujících MUFAs většinou *cis*. MUFAs s *trans* izomerem se vyskytuje např. v mléčném tuku přežvýkavců a běžně v hydrogenovaném tuku. Přehled základních monoenových FAs vyskytujících se v lipidech je uveden v příloze P III. [44]

Obecný vzorec monoenových FAs: $C_nH_{2n-1}COOH$.

Nejběžněji se vyskytují MUFAs s 18 atomy uhlíku a nachází se téměř ve všech tucích. Kyseliny s trojnými vazbami se v jedlých tucích nevyskytují. V přírodních lipidech je nejrozšířenější a nejvíce zastoupena kyselina olejová. [44, 48]

MUFAs mají ve srovnání s SFAs nižší bod tání. *Cis* kyseliny jsou za pokojové teploty většinou kapalné a *trans* kyseliny tají při teplotě přibližně o 20 – 25 °C vyšší, než je tomu u *cis* kyselin. MUFAs se nerozpouští ve vodě, ale v organických rozpouštědlech je rozpustnost lepší než u SFAs. MUFAs jsou také mnohem více reaktivní, než SFA. MUFAs na vzduchu samovolně oxidují. Za přítomnosti katalyzátoru se vodíkem hydrogenují a také adují halogeny. Adice se využívá na stanovení obsahu dvojných vazeb, tzv. jodového čísla. Ozonem se MUFAs štěpí v místě dvojně vazby a toho se využívá při stanovení polohy dvojně vazby. Štěpnými produkty jsou aldehydy anebo dikarboxylové kyseliny. Se stříbrnými kationty tvoří MUFAs komplexy, čehož je využíváno v chromatografii při dělení FAs. [48]

MUFAs jsou dobře stravitelné. Význam a účinky *trans* kyselin jsou dosud ve výživě zkoumány a jsou závislé na jejich konkrétním chemickém složení. Jejich příjem by neměl překročit 1 % z celkově přijaté energie. Je ale patrné, že *trans* FAs do jisté míry interferují se saturací a elongací esenciálních mastných kyselin ω -3 a ω -6. Palmitolejová kyselina se vyskytuje téměř ve všech tucích. Kyselina eruková se nejčastěji vyskytuje v řepkovém a hořčicovém oleji. A kyselina nervová se nachází v cerebrosidech. [46, 50]

3.4.3 Mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami (polyenové)

Polyenové mastné kyseliny PUFAs (z angl. *Polyunsaturated fatty acids*) jsou velmi významné ve výživě, ale v přírodních lipidech se v dostatečném množství vyskytuje pouze několik z nich. U PUFAs se vyskytují jak prostorové, tak i polohové izomery. Přehled zá-

kladných polyenových FAs vyskytujících se v lipidech je uveden v příloze P IV. Nejvýznamnější dienovou mastnou kyselinou je kyselina linolová. Ta je v organismu přeměňována na kyselinu arachidonovou. Kyselina linolová se vyskytuje převážně v rostlinných olejích, jako je slunečnicový, sojový a podzemnicový olej a v menší míře se vyskytuje i v živočišných tucích. Odlišnou skupinu mohou tvořit PUFAs s konjugovanými dvojnými vazbami, které se mohou lišit svou reaktivitou a fyziologickými vlastnostmi. Nejvýznamnější trienovou kyselinou je kyselina linolenová, která se vyskytuje často společně s kyselinou linolovou v rostlinných lipidech. Výskyt kyseliny linolenové není příliš žádoucí, protože podléhá rychlé zkáze a tím zhoršuje organoleptické vlastnosti. Vzácně se vyskytují FAs se čtyřmi až šesti dvojnými vazbami. [44]

Obecný vzorec dienové kyseliny: $C_nH_{2n-3}COOH$.

Podle polohy první dvojné vazby od metylové skupiny se PUFAs dělí na ω -3 a ω -6 FAs. Označení ω může být nahrazeno i písmenkem n . Kyselina linolová, γ -linolenová (pupalkový olej) a arachidonová náleží mezi ω -6 kyseliny. Označení ω -6 znamená, že se první dvojná vazba vyskytuje na šestém uhlíku od konce řetězce. Naopak mezi ω -3 jsou řazeny kyselina α -linolenová (lněný olej), timnodonová (rybí tuk, vejce), klupanodonová (rybí tuk, fosfolipidy v mozku) a DHA (rybí tuk, fosfolipidy v mozku). [46, 49]

PUFAs jsou látky nažloutlé barvy (tj. způsobeno oxidačními produkty), viskózní kapaliny rozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech a alkoholech. Bodem varu se příliš neliší od MUFAs. Ve srovnání s MUFAs oxidují PUFAs na vzduchu mnohem snáze. Za působení volných radikálů dochází u PUFAs k jejich izomeraci na příslušné konjugované deriváty. Konjugované FAs mají absorpční maximum v UV oblasti, této reakce se využívá na stanovení PUFAs. [48]

Mezi PUFAs se vyskytují i tzv. esenciální mastné kyseliny EFAs (z angl. *Essential fatty acids*). Mezi EFAs jsou řazeny především prekurzory EFAs, kyselina linolová a linolenová, z nichž jsou následně syntetizovány kyselina arachidonová, EPA a DHA. Ty jsou charakteristické výskytem dvou dvojných vazeb na 6. a 9. uhlíku (počítáno od metylové skupiny) v *cis* konfiguraci. V EFAs mohou být přítomny ještě i další dvojné vazby. Pokud se dvojná vazba nachází mezi výše zmiňovanými dvojnými vazbami a karboxylem (např. kyselina arachidonová) biologická aktivita se nemění anebo je dokonce ještě zvýšena. Pokud se ale další dvojné vazby nacházejí směrem ke koncovému metylu (např. linolenová kyselina), biologická účinnost je značně snížena. Pokud je konfigurace *cis* zaměněna

za konfiguraci *trans*, ztrácí se biologická účinnost. Lipidy jsou jediným zdrojem EFAs, které jsou stavebními prvky buněčných membrán a jsou důležitými prekurzory biologicky aktivních látek v těle označovaných jako eikosanoidy. Hrají také důležitou roli v orgánech jako je srdce, ledviny, játra a jiné. Nejdůležitější EFA pro člověka je kyselina arachidonová, která se v potravě vyskytuje v nepatrném množství a je přítomna především v játrech. Prekurzory EFAs, hlavně kyselina linolová a α -linolenová, jsou přijímány z potravy. V těle jsou prodlouženy o 2 – 4 atomy uhlíku systémem enzymů elongáz a následnou desaturací jsou vytvářeny další dvojně vazby. Výsledkem je vznik FAs obsahujících 20 – 22 atomů uhlíku a 4 – 6 dvojných vazeb. Z kyseliny linolové se takto v organismu syntetizuje kyselina arachidonová, kyselina α -linolenová může být přetransformována na kyselinu eikosa-pentaenovou nebo dokosahexaenovou. [16, 46, 48, 50]

EFAs jsou bezbarvé kapaliny nebo nízkotající voskovité látky. V potravinách podléhají autooxidaci působením alkalických hydroxidů za zvýšené teploty. Za vyšších teplot EFAs podléhají dienovým adicím. Enzym lipoxygenáza oxiduje EFAs na hydroperoxydy příslušné konjugované kyseliny a toho se využívá při stanovení obsahu EFAs v potravinách. [38, 44, 48]

3.4.4 Alkinové, rozvětvené a cyklické mastné kyseliny

Tato skupina FAs je ve srovnání s výše uvedenými FAs v potravinářství jen málo významná.

Alkinové FAs jsou nejčastěji reprezentovány FA s jednou trojnou vazbou anebo i FA obsahujícími současně dvojně i trojně vazby. U rozvětvených FAs je tvořen boční řetězec jedním uhlíkem a jedná se metylderiváty.

Mezi cyklické FAs patří nejčastěji alicyklické sloučeniny s cyklopropanovým, cyklopropanovým a cyklopentenovým kruhem. Cyklické FAs vznikají také při autooxidaci PUFAs. [44]

3.4.5 Mastné kyseliny s další kyslíkatou funkční skupinou

Hydroxykyseliny se v přírodě vyskytují poměrně hojně, ale ve většině případů se nejedná o významnější FAs. Z nenasycených hydroxykyselin je neznámější ricinolejová kyselina řady D vyskytující se v ricinovém oleji. Dalšími kyslíkatými substituenty může být keto nebo epoxidová skupina.

Vyskytují se i FAs, které mají vázán dusík nebo síru v uhlovodíkovém řetězci. [44]

3.4.6 Vlastnosti mastných kyselin

FAs jsou bezbarvé kapaliny nebo tuhé látky. Nižší FAs jsou kapalné. Od dekanové FAs jsou pak při pokojové teplotě tuhé. Bod tání je ovlivněn počtem atomů uhlíku a se zvyšujícím se počtem atomů uhlíku roste. Je-li ale počet atomů uhlíku 20 a více, bod tání se již se zvyšujícím se počtem atomů uhlíku nemění. FAs s lichým počtem atomů uhlíku mají nižší bod tání, než je tomu u FAs se sudým počtem atomů uhlíku. Nenasycené FAs mají bod tání nižší než FAs nasycené. Tekutost lipidů se zvyšuje se stupněm nenasyčenosti mastných kyselin v nich obsažených.

Nižší FAs jsou za atmosférického tlaku těkavé, vyšší FAs jsou netěkavé. Bod varu se zvyšuje se zvyšujícím se počtem atomů uhlíku. Přítomnost dvojných vazeb bod varu příliš neovlivňuje.

FAs s krátkým uhlovodíkovým řetězcem jsou s vodou mísitelné, další jsou pak alespoň ve vodě rozpustné, i když rozpustnost se vzrůstajícím počtem atomů uhlíku klesá. Vyšší mastné kyseliny se ve vodě rozpouští pouze částečně, ale na hladině mohou tvořit monomolekulární filmy. [44]

4 STANOVENÍ LIPIDŮ

Lipidy se dají kvantitativně stanovit různými metodami. Jsou to metody extrakční, refraktometrické, acidobutyrometrické, nefelometrické a jiné.

Mezi nejhojněji používané patří metody extrakční, které lze rozdělit do dvou skupin. První skupina metod je založena na extrakci vzorku rozpouštědlem a to tak dlouho, než zůstane ve vzorku zanedbatelné množství lipidů. Poté je rozpouštědlo od extraktu odstraněno a vzorek může být zvážen.

Druhou skupinu tvoří extrakce, kdy je používáno k extrakci určité množství rozpouštědla za určitých podmínek a to tak, aby se objem rozpouštědla odpařováním nezměnil. V alikvotním podílu je po oddestilování rozpouštědla určen obsah tuku vážením. [52]

4.1 Metody stanovení lipidů

Cílem všech extrakčních postupů je oddělit lipidy od ostatních komponent buňky jako jsou proteiny, polysacharidy aj. a přitom tyto lipidy nepoškodit, aby s nimi bylo možné pracovat při další analýze. Pokud se jedná pouze o určení celkových lipidů nemusí být metoda extrakce příliš šetrná. Potřebujeme-li vyextrahované látky dále analyzovat, je nutné provádět šetrnou extrakci. Existuje velká diverzita metodik, protože biologické tkáně i pletiva nejsou stejná a je nutné brát ohled na jejich strukturu, texturu, citlivost a obsah lipidů. V ideálním případě by extrakční činidlo dokázalo extrahovat pouze všechny přítomné lipidy, avšak ne ostatní složky buňky. V praxi je účinnost extrakce dána polaritou lipidů přítomných ve vzorku, ale i polaritou zvoleného rozpouštědla. Etyleter a petroleter jsou obecně nejčastěji používanými rozpouštědly. Pro extrakci lipidů z potravin jsou zpravidla užívána rozpouštědla jako pentan a hexan. [53, 54]

4.1.1 Soxhletova extrakční metoda

Princip této metody spočívá v extrakci lipidů z rozmělněného vzorku příslušným rozpouštědlem, např. hexan, etyleter a jiné ve speciálním extraktoru se zpětným chladičem. Tukem se zde rozumí veškeré netěkavé látky vyextrahované za podmínek metody z analyzovaného materiálu relativně nepolárním rozpouštědlem. Po odstranění rozpouštědla lze potom zvážením určit hmotnost tuku. Tato metoda je vhodná pro vzorky s nízkým obsahem vody a lze ji modifikovat dle daného vzorku. [52, 54]

4.1.2 Metoda podle Folche

Pro extrakci lipidů byla navržena různá rozpouštědla, ale většinou je používána směs chloroformu a metanolu v poměru 2 : 1.

Tato metoda spočívá v extrakci vzorků směsí chloroformu a metanolu v poměru 2 : 1 a následné homogenizaci vzorku za studena. Doba homogenizace je závislá na povaze vzorku, minimálně však 3 minuty. Poté je suspenze zfiltrována nebo centrifugována, aby bylo dosaženo oddělení nerozpuštěných podílů. Extrakt je následně promyt roztokem NaCl, čímž je dosaženo výsledného finálního poměru 8 : 4 : 3 chloroform/metanol/voda. Nakonec je přidán metanol a extrakt naředěn do požadovaného objemu chloroformem a metanolem opět v poměru 2 : 1. Následuje oddestilování rozpouštědla ve vakuové rotační odparce při teplotě nepřevyšující 40 °C a následné zvážení produktu. [53, 54]

4.1.3 Metoda Bligh & Dyer

Tato metoda je adaptací metody podle Folche a byla vyvinuta jako rychlý, ale efektivní způsob extrakce lipidů z tkání, které neobsahují příliš mnoho lipidů. Pokud se provádí kvantitativní analýza, je nutné provést reextrakci zbytku tkání a pletiv samotným chloroformem. Ke vzorku obsahujícímu 1 ml vody je přidáno 3,75 ml směsi chloroform/metanol v poměru 1 : 2. Následně vortexováno minimálně 10 – 15 minut. Poté přidáno 1,25 ml chloroformu a mícháno minutu, poté přidáno 1,25 ml vody a opět mícháno minutu. Dále je oddělena horní vrstva směsi a použita spodní vrstva směsi. Po odpaření spodní vrstvy extraktu je extrakt rozpuštěn v malém objemu směsi chloroform/metanol v poměru 2 : 1. Aby bylo dosaženo vyšší výtěžnosti lipidů, je často voda nahrazována 1 M roztokem chloridu sodného. [53, 55]

4.1.4 Stanovení lipidů podle Grossfelda

Tato metoda spočívá v extrakci vzorku práškové konzistence hydrolyzovaného koncentrovanou či zředěnou kyselinou chlorovodíkovou pod zpětným chladičem trichlorethylenem. Do předem zvážené baňky je odměřen určitý objem trichlorethylenového extraktu a po oddestilování a vysušení je zjištěna váha zbytku. Následně pak lze z váhy zbytku a příslušných tabulek určit množství tuku. Touto metodou lze získat dobré výsledky v případech, že je zabráněno odpařování rozpouštědla při extrakci. Lze ji použít např. pro cereální materiály nebo jiné vzorky s vysokým obsahem sacharidů. [52]

4.1.5 Stanovení lipidů podle Röseho a Gottlieba

Tato metoda se používá pro stanovení lipidů v mléce a mléčných výrobcích. Jedná se o přesnou rozhodčí metodu. Bílkoviny mléka jsou rozpuštěny v amoniaku a tuk je následně vyextrahován etanolem, dietylerem a petroleterem. Po odstranění rozpouštědel je tuk stanoven vážkově. [54]

4.1.6 Stanovení lipidů metodou Weibullovou - Stoldtovou

Vzorek je nejprve hydrolyzován koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a tuk je poté vyextrahován etyleterem. Rozpouštědlo je následně oddestilováno, vzorek vysušen a zvážen. Výtěžnost této metody je oproti ostatním extrakčním metodám vyšší, protože zde lze stanovit i lipidy vázané. [52]

4.1.7 Stanovení lipidů metodou Schmid – Bondzynski – Ratzlaff

Vzorek je hydrolyzován kyselinou chlorovodíkovou, tuk je z hydrolyzátu vyextrahován etanolem, dietylerem a petroleterem a nakonec je stanoven vážkově. Tato metoda je vhodná pro stanovení lipidů převážně v živočišných materiálech a sýrech. [54]

4.1.8 Stanovení lipidů ze změny hustoty rozpouštědla metodou C. N. T. A.

Zhomogenizovaný vzorek je extrahován *o*-dichlorbenzenem a zfiltrován odsávačkou. Ve filtrátu je poté zjištěna hustota extraktu proti hustotě původního rozpouštědla. Z lineárních kalibračních grafů pak lze zjistit obsah tuku. [52]

4.1.9 Refraktometrická metoda Leithova

Vzorek je rozdrcen v misce a smíchán s α -bromnaftalenem. Tuk je vyextrahován do rozpouštědla, následně je určena refrakce extraktu oproti refrakci rozpouštědla a tím i zjištěno množství tuku. [52]

4.1.10 Stanovení lipidů metodou butyrometrickou

Tato metoda byla původně určena pro stanovení tuku v mléce a mléčných výrobcích. Později byla tato metoda modifikována na další suroviny a potraviny. Typickou butyrometrickou metodou je metoda Gerberova. Ta spočívá v tom, že kyselinou sírovou jsou rozpuštěny bílkoviny a především obaly tukových kuliček mléka. Uvolněný objem tuku je po odstředění odečten na stupnici butyrometru v hmotnostních procentech. Viditelné oddělení tukové vrstvy zajišťuje přídavek amylakoholu. [52, 54]

4.1.11 Denzitometrická metoda

Vzorek je rozmělněn ve speciálním přístroji za přítomnosti 1,2-dichlorbenzenu a následně je stanovena hustota filtrátu. Obsah tuku v semenech je určen odečtením z empirické kalibrační křivky. Metoda je vhodná pro olejninu, ale pro každý druh semen je nutné sestavit kalibrační křivku. [54]

4.1.12 Stanovení obsahu lipidů nukleární magnetickou rezonancí

Zde je měřen signál protonů kapalné fáze. Podíl signálu příslušející přítomnosti vody je eliminován kalibrací, vysušením a převedením vody do tuhé fáze nebo odečtením signálu při různém zeslabení. Koncentrace tuku je odečtena z kalibrační křivky. Metoda je vhodná pro semena, olejninové extrakční šroty, tukové emulze, margarín a jiné materiály s obsahem tuku vyšším než 0,2 %. Pro každý materiál musí být sestrojena kalibrační křivka. [54]

4.2 Metody stanovení mastných kyselin

Zastoupení mastných kyselin v lipidech je dobré znát, protože je možné určit jak biologickou tak i nutriční hodnotu tuku, identifikovat druh tuku, posoudit oxidační stabilitu lipidů a také upravovat technologické procesy.

4.2.1 Stanovení mastných kyselin s konjugovanými a izolovanými dvojnými vazbami

Kyseliny obsahující konjugované dvojně vazby vykazují v UV oblasti určitá charakteristická absorpční maxima. U konjugovaných dienů je to 233 nm a u konjugovaných trienů 268 nm. Polohy maxim a velikost extinkčního koeficientu jsou závislé na počtu konjugovaných dvojných vazeb a jejich konfiguraci.

Mastné kyseliny obsahující izolované dvojně vazby nevykazují v UV oblasti charakteristická absorpční maxima. Lze ale využít toho, že při zahřátí v alkalickém prostředí dochází k přesmyku dvojně vazby do konjugované polohy a tyto FA lze již stanovit.

Stanovit *trans* vazby lze opět za pomoci charakteristických absorpčních maxim v IČ oblasti obvykle v roztoku sulfanu. [52]

Tyto metody jsou vhodné pro přírodní tuky, oleje, mastné kyseliny a z nich vytvořené estery. Výsledek však může být ovlivněn přítomností oxidačních produktů lipidů. [52, 54]

4.2.2 Stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií (GC)

Objev plynové chromatografie (z angl. *Gas Chromatography*), v polovině minulého století, způsobil revoluci v analýze mastných kyselin. Tato technika je bezesporu nejčastěji využívána. Společně s dalšími technikami, jako jsou nukleární magnetická rezonance nebo hmotnostní spektrometrie, je plynová chromatografie jednou z neúčinnějších metod na separaci a analýzu lipidů. Chromatografická analýza zahrnuje průchod směsi molekul přes kolonu obsahující stacionární fázi, která zpomaluje tok molekul. Molekuly jsou ze směsi rozděleny na základě jejich odlišné afinity ke stacionární fázi kolony. Čím větší afinitu molekuly ke stacionární fázi vykazují, tím více jsou zbrzděny a vycházejí z kolony opožděně. Poté, co je směs molekul na koloně rozdělena, jsou jednotlivé koncentrace molekul detekovány na vhodně zvolených detektorech (např. UV-VIS, FID aj.). GC poskytuje kompletní profil molekul obsažených v lipidech. Tato data mohou být použita pro určení počtu nasycených, nenasycených, polynenasycených mastných kyselin, cholesterolu, stupně oxidace lipidů a jiné. [53]

Triacylglyceroly a volné mastné kyseliny nejsou příliš těkavé a proto je obtížné je analyzovat pomocí GC. Z toho důvodu jsou lipidy obvykle upravovány, (tzv. derivatizace), před samotnou analýzou, aby se zvýšila jejich těkavost. Triacylglyceroly jsou nejprve zmýdelněny a esterifikovány metanolem za přítomnosti kyselého katalyzátoru. Vzniklé metylestery se extrahují především do hexanu. Mastné kyseliny jsou nejčastější skupinou analyzovaných lipidů a tato metoda je použitelná pro biologické vzorky obsahující sloučeniny s řetězcem o délce 14 – 24 uhlíků. Jednotlivé FAs jsou identifikovány na základě retenčních časů v porovnání s vhodným standardem. Platí závislost logaritmu retenčních časů a je přímo úměrná počtu atomů uhlíku. Tento fakt slouží k možnosti identifikovat i neznámé vzorky. Z hodnot ploch píků lze určit poměrné zastoupení jednotlivých kyselin ve směsi v hmotnostních procentech. Dále je důležité zkontrolovat odezvu detektoru ve srovnání s kalibrovanými standardy, což je důležité při stanovování nenasycených mastných kyselin zejména v mořských produktech. [53, 54]

Tato metoda je použitelná pro tuky a oleje, ale v případě přítomnosti oxidovaných kyselin, epoxykyselin a cyklických kyselin mohou být výsledky zkresleny. Metoda není vhodná pro tuky obsahující kyseliny s krátkým řetězcem. [54]

4.2.3 Stanovení *trans*-nenasycených mastných kyselin

Tuky, oleje a FAs jsou nejprve převedeny na metylestery mastných kyselin, následně je proměřena absorbance esterů při 970 cm^{-1} . Toto maximum je dáno deformační vibrací C-H na uhlíku vázaného izolovanou *trans* dvojnou vazbou. Obsah složek s izolovanou *trans* dvojnou vazbou je vyjádřen jako procento metylelaidátu v celkových metylesterech. Tato metoda je použitelná pro všechny přírodní, rafinované, hydrogenované tuky a oleje, mastné kyseliny a jejich metylestery. [53]

4.2.4 Stanovení mastných kyselin tenkovrstevnou chromatografií

K tenkovrstevné chromatografii je zapotřebí stacionární fáze imobilizované na skleněné nebo plastové destičce a příslušné rozpouštědlo. Vzorek v kapalném skupenství anebo rozpuštěný ve vhodném rozpouštědle je aplikován na start na destičce obsahující stacionární fázi. Jeden okraj destičky je ponořen do nádoby s rozpouštědlem vzlínajícím směrem nahoru. Oddělené skvrny lze zviditelnit buď UV zářením anebo parami jodu. Složky vzorku lze identifikovat podle porovnání neznámých složek se standardem. [53]

5 LIPIDY V ŘASÁCH

Obsah a složení lipidů v mořských řasách v poslední době budí velký zájem vědců, protože mořské řasy jsou schopny produkovat velké množství PUFAs včetně EFAs. Tyto FAs jsou významné pro výživu zvířat i samotného člověka. Použití FAs je studováno i v kosmetice anebo potravinářském průmyslu a výsledky těchto výzkumů jsou důležité i pro taxonomické začlenění příslušných příbuzných druhů. [55]

Lipidy představují asi jen 1 – 5 % sušiny řas. Tento obsah je mnohem nižší než u většiny mořských organismů. Až polovinu z obsahu lipidů tvoří PUFAs. Řasy vykazují zajímavé složení polynenasycených mastných kyselin, zejména pokud jde o ω -3 a ω -6 kyseliny. Tyto kyseliny mají významný podíl při prevenci kardiovaskulárních onemocnění, osteoartritidy a cukrovky. Zelené řasy vykazují vysokou hladinu kyseliny α -linolenové (ALA). Červené a hnědé řasy jsou bohaté na kyseliny obsahující 20 uhlíků, jako jsou kyselina eikosapentaenová (EPA) a arachidonová (AA). Obsah nenasycených mastných kyselin se může lišit v závislosti na různých okolních vlivech. Je známo, že řasy dokážou akumulovat PUFAs, pokud dojde k poklesu okolní teploty. Druhy žijící v chladnějších vodách obecně obsahují větší množství PUFAs. [16, 37, 42]

V tabulce 4 je uveden obsah lipidů v hnědých mořských řasách *Laminaria* sp., *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiformis*, v červených mořských řasách *Porphyra tenera* a *Palmaria palmata* a ve sladkovodní zelené řase *Chlorella pyrenoidosa*.

Tab. 4. Obsah lipidů v [%] sušiny u vybraných druhů řas [16, 19, 32, 38, 59]

Řasy	Hnědé			Červené		Zelené
Druh	<i>L.</i> sp.	<i>U.</i> <i>pinnatifida</i>	<i>H.</i> <i>fusiformis</i>	<i>P.</i> sp.	<i>P.</i> <i>palmata</i>	<i>Ch.</i> <i>pyrenoidosa</i>
Lipidy [%]	0,3 – 2,9	1 – 4,5	1,4	0,12 – 2,8	0,2 – 3,8	2 – 11,9

Jak již bylo zmiňováno dříve, na chemické složení řas má vliv řada okolností a přestože se jedná o řasy stejného rodu či druhu, mohou se vyskytovat značné rozdíly v obsahu celkových lipidů a také v zastoupení jednotlivých mastných kyselin. Skutečnost rozdílného lipidového složení vyplývá i z údajů uvedených v Tab. 4. Dále je pro obsah lipidů v řasách důležitá také použitá analytická metoda.

V Tab. 5 je uvedeno lipidové složení modrozelené řasy *Spirulina platensis* a vybraných druhů hnědých řas *Laminaria* sp., *Laminaria japonica* a *Hizikia fusiformis*.

Tab. 5. Obsah FAs v [%] z celkových FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny sladkovodní modrozelené řasy *S. platensis* a vybraných druhů hnědých mořských řas [8, 38, 57]

Řasy	Modrozelené		Hnědé		
	FAs [%]	<i>S. platensis</i> ⁸	<i>L. sp.</i> ³⁸	<i>L. japonica</i> ⁵⁷	<i>H. fusiformis</i> ³⁸
C14:0		0,8	2,9	5,3	0,3
C16:0		44,9	36,0	12,3	26,8
C18:0		2,2	1,5	1,0	0,8
C16:1 _{n7}		2,3	1,7	3,9	0,2
C18:1 _{n9}		10,1	12,8	8,4	7,7
C20:1 _{n9}			1,6		4,1
C18:2 _{n6}		11,1	5,5	8,4	3,6
C18:3 _{n6}		17,1	1,6	4,2	0,4
C18:4 _{n3}			1,2	13,9	
C20:4 _{n6}			12,4	14,0	5,3
C20:5 _{n3}			16,2	14,0	42,4
ω -6/ ω -3			1,3 : 1,0	0,8 : 1,0	0,3 : 1,0
Lipidy [%]		14,3	1,0	0,6*	1,4

* obsah lipidů v % čerstvé řasové hmoty.

Jak vyplývá z výše uvedené tabulky nejvíce zastoupenou FA u vzorku modrozelené řasy *S. platensis* byla kyselina palmitová (C16:0), jejíž obsah činil 44,9 % z FAMES a druhou nejvíce obsaženou FA byla kyselina linolenová (C18:3_{n6}) – 17,1 % z FAMES.

Zastoupení FAs v hnědých řasách uvedených v Tab. 5 dokládá variabilitu složení lipidů i v rámci jednoho rodu *Laminaria*. Nejvíce zastoupenou FA byla u *L. sp.* kyselina palmitová (C16:0) a její obsah činil 36,0 % z FAMES, přičemž u *L. japonica* to bylo jen 12,3 % z FAMES. Naopak nejvíce zastoupenou FA u řasy *L. japonica* byla kyselina arachidonová (C20:4_{n6}) a eikosapentaenová (C20:5_{n3}) a to v obsahu 14,0 % z FAMES. U *L. sp.* tyto dvě kyseliny představovaly 12,4 % a 16,2 % z FAMES, v uvedeném pořadí.

U vzorku hnědé řasy *H. fusiformis* byla nejvíce zastoupena kyselina eikosapentaenová (C20:5_{n3}), která tvořila 42,4 % z FAMES a druhou nejvíce obsaženou FA byla kyselina palmitová (C16:0) – 26,8 % z FAMES.

Velkou variabilitu lipidového složení v rámci jednoho druhu je možné dokumentovat na lipidovém složení u druhu hnědé mořské řasy *U. pinnatifida*, které je uvedeno v Tab. 6.

Tab. 6. Obsah FAs v [%] z FAMES, $\omega6/\omega3$ a celkový obsah lipidů v [%] sušiny hnědé mořské řasy *U. pinnatifida* [38, 39, 56, 57]

Hnědé řasy				
FAs [%]	<i>U. pinnatifida</i> ³⁸	<i>U. pinnatifida</i> ³⁹	<i>U. pinnatifida</i> ⁵⁶	<i>U. pinnatifida</i> ⁵⁷
C14:0	2,3	3,2	3,6	4,4
C16:0	13,5	16,5	23,9	26,8
C18:0	0,9	0,7	1,7	2,9
C16:1 _{n7}	0,4	3,7	1,2	0,1
C18:1 _{n9}	6,0	6,8	9,7	17,9
C18:2 _{n6}	7,4	6,2	9,9	6,2
C18:3 _{n3}	11,2	12,0	5,8	5,8
C18:4 _{n3}	25,8	22,6	10,8	8,7
C20:4 _{n6}	13,3	15,9	15,5	12,7
C20:5 _{n3}	13,2	9,4	12,5	7,5
$\omega-6/\omega-3$	0,5 : 1	0,5 : 1	0,9 : 1	0,9 : 1
Lipidy [%]	4,5	1,05	0,38*	1,09*

* obsah lipidů v % čerstvé řasové hmoty.

Podobně jako u předcházejících vzorků rodu *Laminaria*, byl ve dvou vzorcích hnědé řasy *U. pinnatifida* dokumentován nejvyšší obsah kyseliny palmitové (C16:0) 23,9 % a 26,8 % z FAMES, ale u dalších dvou vzorků byla nejvíce zastoupenou FA kyselina stearidonová (C18:4_{n3}) 25,80 % a 22,60 % z FAMES.

V Tab. 7 je uvedeno lipidové složení vybraných druhů červených mořských řas *Porphyra* sp. a *Palmaria palmata*. Podobně jako u předcházejících vzorků modrozelených a hnědých řas rodu *Laminaria*, byl ve všech třech vzorcích červené řasy *Porphyra* sp. zaznamenán

nejvyšší obsah kyseliny palmitové (C16:0) 30,8 – 63,2 % z FAMES. Druhou nejvíce obsaženou FA byla u obou vzorků *Porphyra* sp. kyselina eikosapentaenová (C20:5_{n3}) 10,4 – 20,9 % z FAMES.

U vzorku další červené mořské řasy *Palmaria* sp. byla nejvíce zastoupena také kyselina palmitová (C16:0), která tvořila 45,4 % z FAMES a druhou nejvíce obsaženou FA eikosapentaenová (C20:5_{n3}) s obsahem 24,1 % z FAMES.

Tab. 7. Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%]sušiny červených mořských řas *Porphyra* sp. a *Palmaria* sp. [38, 39]

Červené řasy				
FAs	<i>Porphyra</i> sp. ^{38a}	<i>Porphyra</i> sp. ^{38b}	<i>Porphyra</i> sp. ³⁹	<i>Palmaria</i> sp. ³⁹
C14:0	2,7	4,1	0,5	13,8
C16:0	30,8	37,1	63,2	45,4
C18:0	0,7	1,9	1,2	1,3
C16:1 _{n7}	2,2	1,8	6,2	5,3
C18:1 _{n9}	15,3	7,2	6,7	3,1
C22:1 _{n11}	3,0	1,9		0,7
C18:2 _{n6}	0,5	0,9	1,2	0,7
C18:3 _{n3}	5,7	0,9	0,2	0,6
C18:4 _{n3}	3,4	1,5	0,2	0,7
C20:4 _{n6}	8,0	9,8	6,8	1,5
C20:5 _{n3}	20,9	10,4	6,0	24,1
ω -6/ ω -3	0,6 : 1	1,8 : 1	1,2	0,13
Lipidy [%]	2,8	1,0	1,03	1,80

a) vzorek z Japonska a Koreji, b) vzorek z Číny.

Z tabulek 5 – 7 také vyplývá, že ve všech sledovaných vzorcích sladkovodních a mořských řas byl velmi příznivý poměr ω -6/ ω -3, který nepřevyšoval poměr 2 : 1, což je příznivé zejména pro vysoký příjem ω -6 mastných kyselin ve vyspělých zemích včetně České republiky, kde tento poměr může dosahovat 15 až 20 : 1. Tento poměr je podle některých autorů jedním z klíčových faktorů vyššího rizika kardiovaskulárních chorob. [61]

V Tab. 8 je uvedeno lipidové složení vzorků sladkovodní zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa*. U obou vzorků byl zaznamenán nejvyšší obsah kyseliny palmitové (C16:0) 22,0 a 19,7 % z FAMES. Druhou nejvíce obsaženou FA byla kyselina linolenová (C18:3), i když její obsah se u obou vzorků lišil (27,0 – 39,3 % z FAMES).

Tab. 8. Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny sladkovodní zelené řasy *Ch. pyrenoidosa* [58, 59]

Zelené řasy		
FAs	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> ⁵⁸	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> ⁵⁹
C14:0	0,50	1,5
C16:0	22,00	19,7
C18:0	0,80	1,2
C16:1	2,00	0,8
C18:1	6,50	3,6
C16:2	7,00	6,9
C18:2	18,00	18,3
C16:3	14,00	8,5
C18:3	27,00	39,3

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo stanovení lipidů a mastných kyselin ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas. Extrakce lipidů byla provedena pomocí rozdílných rozpouštědlových soustav a pro vlastní stanovení byla použita Soxhletova metoda.

Kvalitativní zastoupení i kvantitativní obsah jednotlivých mastných kyselin byl stanoven po převedení mastných kyselin ve vzorcích na metylestery za použití plynového chromatografu s plamenově ionizačním detektorem.

7 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

7.1 Použitý materiál

Pro analýzu byly použity vzorky sušených modrozelených a zelených sladkovodních řas a hnědých a červených mořských řas. Názvy vzorků a jejich charakteristiky jsou uvedeny v tabulce 9. Vzorky byly před použitím zhomogenizovány v mixeru pro dosažení rovnoměrné velikosti částic do 1 mm.

Tab. 9. Použité vzorky řas a jejich charakteristika

Řasy	Druh	Produkt	Vzorek	Země původu
Modrozelené	<i>Spirulina platensis</i>	Spirulina Bio	SB	Indie
	<i>Laminaria japonica</i>	Kombu	K	Japonsko
Hnědé	<i>Eisenia bicyclis</i>	Arame	A	Japonsko
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame	W	Japonsko
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame-instant	WI	Japonsko
	<i>Hizikia fusiformis</i>	Hiziki	H	Japonsko
Červené	<i>Porphyra tenera</i>	Nori vločky	NV	Japonsko
	<i>Palmaria palmata</i>	Dulce vločky Bio	D	USA
Zelené	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Chlorella Tabs	C	Taiwan

7.2 Použité chemikálie, pomůcky a přístroje

7.2.1 Chemikálie

- Chlorid sodný p.a.; Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod
- Hydroxid sodný p.a.; Penta
- n-Heptan rein (purum); Veb Laborchemie Apolda
- Metylalkohol p.a.; Penta
- Síran sodný bezvodý Ph. Eur.; Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod
- Hexan p.a.; Lach-Ner, s.r.o.
- Chloroform p.a.; Lachema, o. p, Chemapol
- Bortrifluorid-Diethylether-Komplex zur Synthese; Merc

7.2.2 Standardy

- U 0220 Metyl-undekanoát; Sigma Aldrich – vnitřní standard
- FAME Mixture R 35077; Restek – kvantitativní analýza
- Neat FAME R 35060 (C20:4, metyl-arachidonát); Restek – kvalitativní analýza
- FAME #13 Fatty Acid Metyl Ester (FAME) Mixtures, 35034; Restek – kvalitativní analýza

7.2.3 Pomůcky

- Běžné laboratorní pomůcky a sklo
- Soxhletův extraktor
- Extrakční patrony, Extraktionshülsen für Soxhlet-Apparate, ø 22x100 mm, Filtrak

7.2.4 Přístroje a zařízení

- Analytické váhy Explorer EP 214, Switzerland
- Topné hnízdo LTHS 250, Brněnská Drutěva
- Odparka rotační vakuová Laborota 4010 digital, Heidolph
- Plynový chromatograf Shimadzu GC-2010 s FID detektorem
- Sušárna Venticell 111 – Komfort, BMT

7.3 Stanovení celkových lipidů

Celkové lipidy byly stanoveny pomocí Soxhletovy extrakce probíhající 4 hodiny v příslušných rozpouštědlech. U první analýzy byl jako rozpouštědlo použit hexan. Ve druhém případě byla rozpouštědlem směs metanol/chloroform/voda v poměru 1 : 2 : 1.

Byl zjištěn rozdíl mezi předem zvažovanou prázdnou baňkou a baňkou s obsahem lipidů po extrakci a oddestilování příslušného rozpouštědla. Z rozdílu byl vypočítán podle vzorce (1) obsah celkových lipidů ve sladkovodních a mořských řasách.

Vzorec pro výpočet obsahu celkových lipidů [%]:

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

x hmotnost celkových lipidů [%]

m_1 hmotnost baňky s vyextrahovaným tukem po oddestilování rozpouštědla [g]

m_2 hmotnost prázdné baňky [g]

m hmotnost navážky [g]

7.3.1 Extrakce lipidů hexanem

Varné kamínky byly vloženy do prázdné vysušené 250 ml baňky se zábrusem a ta byla zvážena s přesností na 0,0001 g. Do extrakční patry bylo naváženo 3 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Do baňky bylo odměřeno 100 ml hexanu. Soxhletova extrakce (Obr. 15) probíhala 4 hodiny při současném zahřívání baňky na topném hnízdě. Po ukončení extrakce bylo rozpouštědlo oddestilováno na vakuové rotační odparce při 40 °C po dobu 20 minut a baňka byla následně po vysušení zvážena. [54]



Obr. 15. Aparatura na Soxhletovu extrakci

7.3.2 Extrakce lipidů směsí metanol, chloroform, voda 1 : 2 : 1

Varné kamínky byly vloženy do prázdné vysušené 250 ml baňky se zábrusem a ta byla zvážena s přesností na 0,0001 g. Do extrakční patry bylo naváženo 3 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Do baňky bylo odměřeno 25 ml metanolu, 50 ml chloroformu a 25 ml destilované vody. Soxhletova extrakce probíhala 4 hodiny při současném zahřívání baňky na topném hnízdě. Po ukončení extrakce byl obsah baňky převeden do 100 ml dělicí nálevky se zábrusem a spodní vrstva směsi byla oddělena do 250 ml baňky. Rozpouštědlo bylo oddestilováno na vakuové rotační odparce při 40 °C po dobu 20 minut a baňka byla následně po vysušení zvážena. [54]

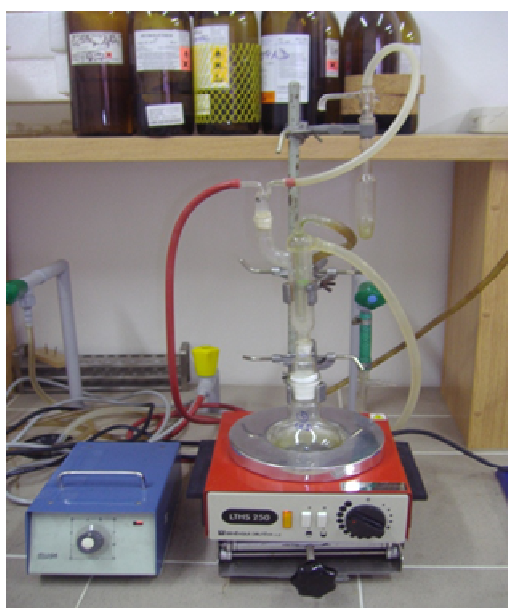
7.4 Úprava vzorků pro plynovou chromatografii

Po Soxhletově extrakci byly vyextrahované lipidy převedeny na metylestery (FAMEs), které lze již plynovou chromatografií lépe stanovit.

Před samotnou přípravou metylesterů bylo nejprve nutné připravit 15% metanolický roztok BF_3 , který sloužil jako katalyzátor. BF_3 byl připraven v 25 ml odměrné baňce. Nejprve bylo na dno aplikováno několik kapek metanolu předestilovaného přes vpichovou kolonu nad molekulové síto. Potom bylo přidáno 3,75 ml bortrifluorid-dietyler-komplexu a následně doplněno předestilovaným metanolem na objem 25 ml.

7.4.1 Příprava metylesterů

Vyextrahované lipidy v 250 ml baňce se zábrusem byly zmýdelňovány 4 ml 0,5 M metanolickeho roztoku NaOH za neustálého zahřívání na topném hnízdě pod zpětným chladičem (Obr. 16).



Obr. 16. Aparatura na přípravu metylesterů

Zmýdelňování probíhalo pod inertní atmosférou tvořenou dusíkem až do vymizení kapiček tuku po dobu přibližně 30 minut. Poté bylo přidáno 5 ml 15% metanolickeho roztoku BF_3 přes chladič do baňky a po 2 minutách varu bylo přidáno přes zpětný chladič 5 ml heptanu a dále se vařilo 1 minutu. Po částečném ochlazení a odejmutí chladiče byly přidány 2 ml nasyceného vodného roztoku NaCl. Obsah baňky byl převeden do 100 ml dělicí nálevky. Baňka byla promyta 15 ml heptanu, které byly následně přidány k prvnímu podílu. Dále

bylo do dělicí nálevky přidáno 40 ml nasyceného vodného roztoku NaCl a obsah byl protřepán. Heptanová fáze byla oddělena a vodná fáze byla promyta 15 ml heptanu. Heptanová fáze byla opět oddělena a spojena s předchozí heptanovou fází. Spojené heptanové fáze byly promyty 20 ml nasyceného vodného roztoku NaCl. Heptanová fáze byla oddělena a vysušena bezvodým síranem sodným. Vzorky byly následně zakoncentrovány na vakuové rotační odparce a kvantitativně převedeny do 10 ml odměrných baněk. [54]

7.4.2 Metoda vnitřního standardu

U metody vnitřního standardu je ke vzorku přidáváno určité množství známé látky, která není ve vzorku přítomna a neinteraguje se složkami vzorku. Navíc vnitřní standard musí tvořit samostatný pík v blízkosti stanovované složky. Díky této metodě není nutno znát objem nástřiku a navíc jsou eliminovány změny pracovních podmínek, protože vnitřní standard i stanovované složky vzorku jsou jimi ovlivněny stejně.

V případě vzorků sladkovodních a mořských řas byl jako vnitřní standard zvolen metylester kyseliny undekanové. Po převedení lipidů na metylestery byl ke každému vzorku přidán 1 ml vnitřního standardu (metyl-undekanoát) o koncentraci 5 μ l. Poté byla odměrná baňka doplněna do 10 ml hexanem. [60]

7.5 Kvalitativní a kvantitativní analýza mastných kyselin

Ve vzorcích sladkovodních a mořských řas byla provedena jak kvalitativní tak i kvantitativní analýza FAs a to z důvodu dostupných standardů. Pro kvalitativní analýzu byl použit standard, který obsahoval směs FAMES pro dosažení širokého spektra stanovených FAs. Pro kvantitativní stanovení byl použit standard se směsí FAMES pro kvantitativní stanovení, který obsahoval pouze vybrané FAs.

Na plynovém chromatografu s plamenově ionizačním detektorem (FID) byla proměřena použitá rozpouštědla, standardy a příslušné vzorky. FID poskytuje odezvu téměř na všechny organické látky kromě většiny anorganických plynů a par. U uhlovodíků je odezva úměrná počtu atomů uhlíku v molekule.

Pro identifikaci látky je podstatné umístění maxima píku v chromatogramu. Pro stanovení byl používán retenční čas, což je celkový čas, po který se příslušný analyt nachází v separační koloně. Byly srovnávány retenční časy analyzovaného vzorku a standardu za stejných podmínek měření. [60]

Pro kvantitativní analýzu tří FAs – palmitové (C16:0), stearové (C18:0) a olejové (C18:1) byly sestrojeny kalibrační křivky, ze kterých byly odečteny koncentrace příslušných FAs ve vzorku.

Pro kvantitativní vyhodnocení ostatních FAs ve vzorcích byla provedena integrace vybraných píků FAs. Plocha píků byla následně znormalizována na obsah vnitřního standardu (C11:0) a přepočítána na zastoupení FA v % z celkových FAMES podle vzorce (2).

Vzorec pro výpočet zastoupení FA v [%] z celkových FAMES:

$$x = \frac{P_1}{\Sigma P} \cdot 100 \quad (2)$$

x zastoupení FA v [%] z celkových FAMES

P_1 plocha daného normalizovaného píku FA

ΣP plochy všech normalizovaných píků vybraných FAs daného vzorku

7.5.1 Analýza na plynovém chromatografu

Stanovení FAs probíhalo na plynovém chromatografu Shimadzu GC-2010 s FID detektorem, kolonou Supelco SPBTM – PUFA 30 m x 0,25 mm x 0,2 μ m. Objem nástřiku byl 1 μ l, teplota nástřikového prostoru byla 220 °C. Nosný plyn dusík, splitovací poměr 50,0. Analýzy byly prováděny lineární rychlostí 26,8 cm/s po dobu 90 minut. Teplotní program 50 °C/2 min, 150 °C/0 min, 210 °C/75,60 min.

Dále byly proměřeny příslušné standardy na kvantitativní analýzu – FAME Mixture a standardy na kvalitativní analýzu FAME #13 a Neat FAME (C20:4, metyl-arachidonát). K FAME#13 byl ještě přidán metyl-arachidonát, protože ve směsném standardu nebyla tato důležitá mastná kyselina přítomna.

Z každého vzorku byl do vialky odebrán objem 1,5 ml, který byl použit pro analýzu na plynovém chromatografu. Vzorky byly proměřeny za stejných pracovních podmínek jako standardy.

Na plynovém chromatografu byla proměřena také rozpouštědla použitá při přípravě vzorků za stejných pracovních podmínek jako vzorky, z důvodu eliminace ovlivnění analýzy vlivem znečištění použitých rozpouštědel.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Celkový obsah lipidů

Obsahy celkových lipidů byly stanoveny dle metodiky popsané v kapitole 7.3. Stanovené hodnoty obsahů celkových lipidů zkoumaných sladkovodních a mořských řas jsou uvedeny v tabulkách 10 – 11.

8.1.1 Celkové obsahy lipidů – hexan

V tabulce 10 jsou znázorněny celkové obsahy lipidů ve vzorcích sladkovodních a mořských řas, které byly stanoveny po extrakci vzorků v hexanu. Obsahy jsou vyjádřeny jako průměry (\bar{x}) ze tří paralelních stanovení v % z hmotnosti vzorku.

Tab. 10. Celkový obsah lipidů ve vzorcích sladkovodních a mořských řas

Řasy	Druh	Obsah lipidů \bar{x} [%]	S. D.
Modrozelené	<i>Spirulina platensis</i>	3,50	0,17
	<i>Laminaria japonica</i>	1,83	0,24
	<i>Eisenia bicyclis</i>	1,58	0,51
Hnědé	<i>Undaria pinnatifida</i>	0,73	0,17
	<i>Undaria pinnatifida</i> instant	1,11	0,25
	<i>Hizikia fusiformis</i>	1,17	0,17
Červené	<i>Porphyra tenera</i>	0,93	0,42
	<i>Palmaria palmata</i>	0,64	0,62
Zelené	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	3,71	0,50

Sladkovodní řasy obsahovaly vyšší podíl lipidů než řasy mořské. Z vybraných skupin řas byl nejnižší obsah lipidů v červených řasách a naopak nejvyšší obsah lipidů byl ve skupině zelených řas.

Nejvyšší obsahy lipidů vykazovaly zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa* 3,71 % a modrozelená řasa *Spirulina platensis* 3,50 %. Naopak nejnižší zastoupení lipidů se vyskytovalo u červené řasy *Palmaria palmata* 0,64 % a hnědé řasy *Undaria pinnatifida* 0,73 %.

Stanovené obsahy celkových lipidů jsou v převážně v souladu s údaji uvedenými v odborné literatuře, viz Tab. 4. Na rozdíl od námi stanovené hodnoty obsahu celkových lipidů u modrozelené řasy *Spirulina platensis*, podle Habib *et al.* (2008) Babadzhanov *et al.* (2004), byly zjištěny hodnoty v rozpětí 5 – 14,3 %, což může být způsobeno rozdílnými životními podmínkami testované sinice. Analyzovaná sinice *Spirulina platensis* pocházela z Indie, publikované údaje se vztahovaly na stejný druh modrozelené řasy, který byl kultivován v Uzbekistánu.

8.1.2 Celkový obsah lipidů – metanol, chloroform, voda

V tabulce 11 jsou znázorněny celkové obsahy lipidů ve vzorcích sladkovodních a mořských řas, které byly stanoveny po extrakci v rozpouštědlové soustavě tvořené metanolem, chloroformem a vodou (1 : 2 : 1). Obsahy jsou vyjádřeny jako průměry (\bar{x}) ze tří paralelních stanovení v % z hmotnosti vzorku.

Tab. 11. Celkový obsah lipidů ve sladkovodních a mořských řasách

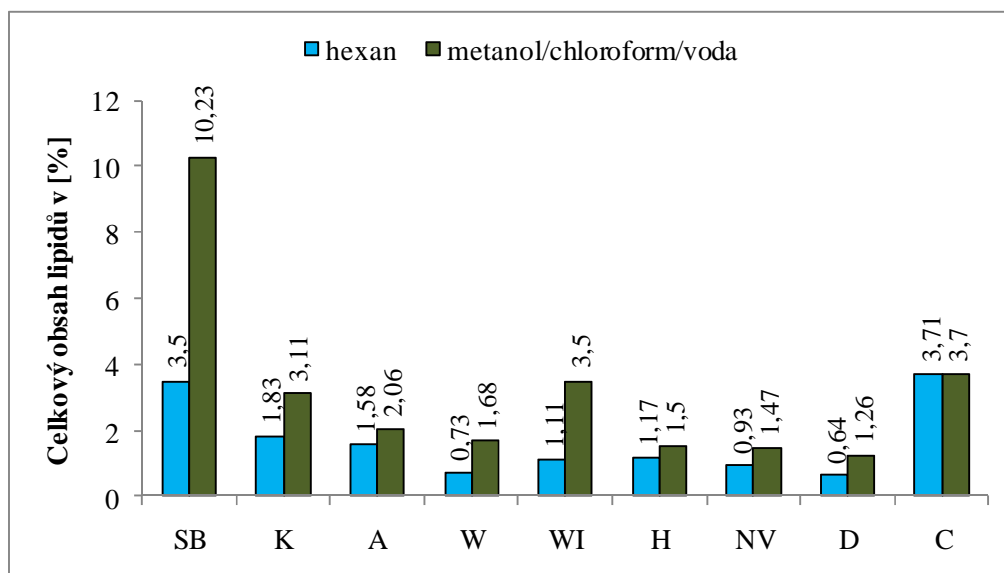
Řasy	Druh	Obsah lipidů	S. D.
		\bar{x} [%]	
Modrozelené	<i>Spirulina platensis</i>	10,23	0,48
	<i>Laminaria japonica</i>	3,11	0,16
	<i>Eisenia bicyclis</i>	2,06	0,13
Hnědé	<i>Undaria pinnatifida</i>	1,68	0,05
	<i>Undaria pinnatifida</i> instant	3,50	0,57
	<i>Hizikia fusiformis</i>	1,50	0,17
Červené	<i>Porphyra tenera</i>	1,47	0,42
	<i>Palmaria palmata</i>	1,26	0,19
Zelené	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	3,70	0,12

I v případě rozpouštědlové soustavy methanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1) sladkovodní řasy obsahovaly vyšší podíl lipidů než řasy mořské. Z vybraných skupin řas byl nejnižší obsah lipidů v červených řasách a naopak nejvyšší obsah lipidů se vyskytoval ve skupině modrozelených řas.

Nejvyšší obsah lipidů vykazovala sinice *Spirulina platensis* 10,23 %. Naopak nejnižší zastoupení lipidů bylo zaznamenáno u červených řas *Palmaria palmata* 1,26 % a *Porphyra tenera* 1,47 %.

Stanovené obsahy celkových lipidů jsou v souladu s údaji nalezenými v odborné literatuře, viz Tab. 4. U řasy *Laminaria japonica* byl celkový obsah lipidů mírně vyšší, než je udáváno v literatuře (0,3 – 2,9 %), podle Holdt a Kraan (2011).

Při porovnání obou metod extrakce lze jednoznačně říci, že vyšší obsahy lipidů byly vyextrahovány rozpouštědlovou soustavou metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1), (Obr. 17). Vyšší výtěžnost při použití této rozpouštědlové soustavy vykazovaly všechny řasy kromě zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa*, kdy byl celkový obsah lipidů stejný u obou použitých rozpouštědel.



Obr. 17. Hodnoty celkových lipidů ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas

Lze říci, že metoda Soxhletovy extrakce při použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 je pro stanovení celkového obsahu lipidů v mořských a sladkovodních řasách vhodnější.

Další možnou metodou stanovení obsahu celkových lipidů v řasách může být metoda Bligh & Dyer nebo Folch metoda, které jsou také některými autory používány. Porovnání účinnosti těchto metod bylo prováděno na základě extrakce lipidů z tkáně mořských ryb. Z výsledků vyplynulo, že pokud se jedná o vzorky s obsahem lipidů do 2 %, jsou výsledky

obou metod srovnatelné. Pokud ale vzorky obsahují nad 2 % lipidů, metoda Bligh & Dyer vykazuje nižší výsledky než je tomu u Folch metody. Se vzrůstajícím obsahem lipidů jsou tyto rozdíly ještě prohlubovány. [55]

8.2 Stanovení mastných kyselin v řasách

Mastné kyseliny byly stanoveny dle metodiky popsané v kapitole 7.4 a 7.5. Kvalitativní stanovení FAs bylo provedeno za použití standardu FAME #13 Mixtures a Neat FAME R 35060 – metyl-arachidonát, k dosažení co nejširšího spektra FAs. Tento standard však neumožňoval kvantitativní analýzu, pro niž byl použit další standard určený pro kvantitativní analýzu FAME Mixture R 35077. Vlastní kvantitativní stanovení bylo provedeno za použití vnitřního standardu (metyl-undekanoát).

8.2.1 Kvalitativní stanovení mastných kyselin

V tabulkách 12 – 14 je znázorněno kvalitativní zastoupení FAs ve vzorcích sladkovodních a mořských řas, které byly stanoveny po extrakci hexanem (E_1) a v rozpouštědlové soustavě tvořené metanolem, chloroformem a vodou v poměru 1 : 2 : 1 (E_2).

Z výsledků vyplývá, že extrakce v rozpouštědlové soustavě E_2 byla mnohem účinnější než extrakce v hexanu E_1 .

FAs C23:0, C24:0, C24:1 a C20:4 byly nejčastěji stanovenými FAs u sladkovodních modrozelených řas pouze za použití rozpouštědlové soustavy E_2 – metanol, chloroform voda (1 : 2 : 1).

Výjimku tvořila zelená sladkovodní řasa *Chlorella pyrenoidosa*, kdy za použití rozpouštědla hexanu – E_1 , bylo stanoveno více FAs než za použití rozpouštědlové soustavy E_2 – metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1). Jednalo se o následující FAs: C22:0, C24:0, C20:1, C20:2, C22:2 a C20:4. Z toho je možné usuzovat na efektivnější použití rozpouštědla hexan při extrakci lipidů u této zelené sladkovodní řasy.

U červených mořských řas byly pouze při extrakci E_2 nejčastěji stanovenými FAs: C22:0, C23:0, C24:0, C22:1, C24:1, C20:2, C22:2 a C20:4.

U hnědých mořských řas bylo za použití extrakce E_2 identifikováno také více FAs než za použití hexanu – E_1 jako rozpouštědla. Byly to tyto FAs: C22:0, C23:0, C24:0, C22:1, C24:1, C20:2 a C22:2.

Většina FAs, které nebyly za použití rozpouštědla hexanu zjištěny, se ale ve vzorcích vyskytovaly pouze v nízkých koncentracích, jak bylo zjištěno z kvantitativní analýzy.

Tab. 12. Kvalitativní zastoupení SFAs u sladkovodních modrozelených a zelených řas a červených mořských řas

		Řasy							
		Modrozelené		Zelené		Červené			
		SB		C		NV		D	
R _t	FA	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
16,199	C14:0	+	+	+	+	+	+	+	+
17,090	C15:0	+	+	+	+	+	+	+	+
18,165	C16:0	+	+	+	+	+	+	+	+
19,509	C17:0	+	+	+	+	+	+	+	+
21,284	C18:0	+	+	+	+	+	+	+	+
26,816	C20:0	+	+	+	+	+	+	+	+
36,972	C22:0	+	+	+		+	+		+
44,895	C23:0		+				+		+
55,790	C24:0		+	+			+		+

R_t je retenční čas jednotlivých mastných kyselin standardu [min]

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

+ znamená přítomnost FA

Ve vzorcích sladkovodních modrozelených, zelených a mořských červených řas byly nasycené FAs od C14:0 až po C20:0 stanoveny při použití obou extrakčních postupů. V případě nasycených FAs s vyšším počtem uhlíků C22:0, C23:0 a C24:0 byla pro kvalitativní analýzu účinnější extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1). Po extrakci v hexanu nebyly tyto FAs identifikovány vyjma vzorku zelené sladkovodní řasy *Chlorella pyrenoidosa*, kdy naopak kyseliny C22:0 a C24:0 byly stanoveny pouze po extrakci v hexanu.

Tab. 13. Kvalitativní zastoupení MUFAs a PUFAs u sladkovodních modrozelených a zelených řas a červených mořských řas

		Řasy							
		Modrozelené		Zelené		Červené			
		SB		C		NV		D	
R _t	FA	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
16,452	C14:1 cis 9	+	+	+	+	+	+	+	+
17,396	C15:1 cis 10	+	+	+	+	+	+	+	+
18,408	C16:1 cis 9	+	+	+	+	+	+	+	+
19,828	C17:1 cis 10	+	+	+	+	+	+	+	+
21,584	C18:1 cis 9 + trans 9	+	+	+	+	+	+	+	+
22,418	C18:2 cis 9,12	+	+	+	+	+	+	+	+
23,811	C18:3	+	+	+	+	+	+	+	+
27,23	C20:1 cis 11	+	+	+		+	+	+	+
28,841	C20:2 cis 11,14	+	+	+			+		+
30,429	C20:4 cis 5,8,11,14		+	+			+		+
37,786	C22:1 cis 13	+	+				+	+	+
40,696	C22:2 cis 13,16	+	+	+			+		+
57,246	C24:1 cis 15		+				+		+

R_t je retenční čas jednotlivých mastných kyselin standardu [min]

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

+ znamená přítomnost FA

Ve vzorcích sladkovodních modrozelených a zelených řas a mořských červených řas byly MUFAs od C14:1 do C18:1 kvalitativně stanoveny v obou extrakčních postupech. Kyselina eikosenová (C20:1) nebyla identifikována pouze ve vzorku zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* při použití extrakční směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1). Pro kvalitativní analýzu PUFAs byla účinnější extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1), kdy po extrakci v hexanu nebyly tyto FAs identifikovány vyjma vzorku zelené sladkovodní řasy *Chlorella pyrenoidosa*, kde byla extrakce hexanem pro kvalitativní stanovení PUFAs výhodnější.

Tab. 14. Kvalitativní zastoupení SFAs v hnědých mořských řasách

		Hnědé řasy									
		K		A		W		WI		H	
R _t	FA	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
16,199	C14:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,09	C15:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18,165	C16:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19,509	C17:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21,284	C18:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,816	C20:0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36,972	C22:0		+		+		+		+		+
44,895	C23:0		+		+		+		+		+
55,79	C24:0		+		+		+		+		+

R_t je retenční čas jednotlivých mastných kyselin standardu [min]

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

+ znamená přítomnost FA

Podobně jako u předchozích druhů i v hnědých mořských řasách byly oběma způsoby extrakce identifikovány SFAs od C14:0 do C20:0. V případě mastných kyselin s vyšším počtem uhlíků C23:0 až C24:0 nebyly identifikovány po extrakci v hexanu v žádném vzorku hnědé mořské řasy. Pouze v řase *Hizikia fusiformis* byla identifikována i kyselina dokosanová (C22:0) za použití obou extrakčních metod.

Tab. 15. Kvalitativní zastoupení MUFAs a PUFAs v hnědých mořských řasách

R _t	FA	Hnědé řasy									
		K		A		W		WI		H	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
16,452	C14:1 cis 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,396	C15:1 cis 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18,408	C16:1 cis 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19,828	C17:1 cis 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21,584	C18:1 cis 9 + trans 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22,418	C18:2 cis 9,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23,811	C18:3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27,23	C20:1 cis 11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28,841	C20:2 cis 11,14	+	+		+		+	+	+	+	+
30,429	C20:4 cis 5,8,11,14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,786	C22:1 cis 13		+		+						+
40,696	C22:2 cis 13,16		+		+		+	+	+		+
57,246	C24:1 cis 15		+						+		

R_t je retenční čas jednotlivých mastných kyselin standardu [min]

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

+ znamená přítomnost FA

Ve vzorcích hnědých mořských řas byly MUFAs od C14:1 do C20:1 kvalitativně stanoveny v obou extrakčních postupech. Pro kvalitativní analýzu PUFAs byla účinnější extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1), kdy po extrakci v hexanu nebyly tyto FAs identifikovány.

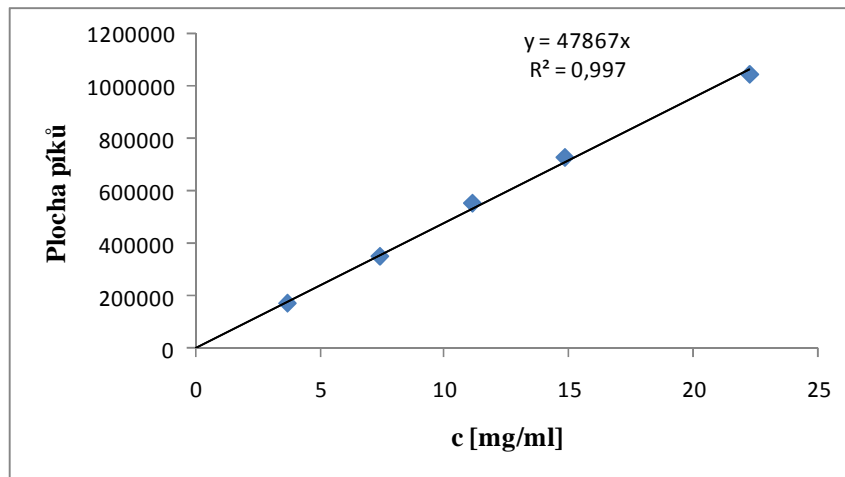
Při použití hexanu jako rozpouštědla bylo ve vzorcích řas méně stanovených FAs než tomu bylo v porovnání při použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1).

8.2.2 Kvantitativní stanovení mastných kyselin

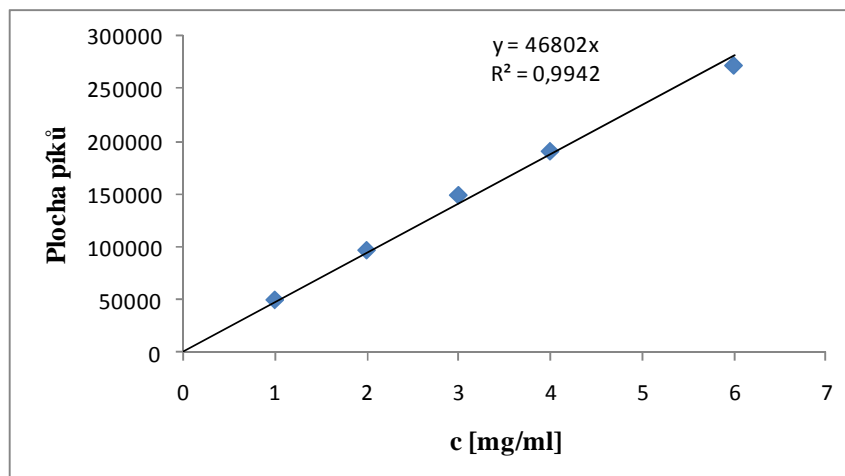
Pro kvantitativní analýzu byl použit standard určený pro kvantitativní analýzu FAME Mixture R 35077. Vlastní kvantitativní stanovení bylo provedeno za použití vnitřního standardu (metyl-undekanoát).

- *Kvantitativní stanovení kyseliny palmitové, stearové a olejové ve vzorcích sladkovodních a mořských řas*

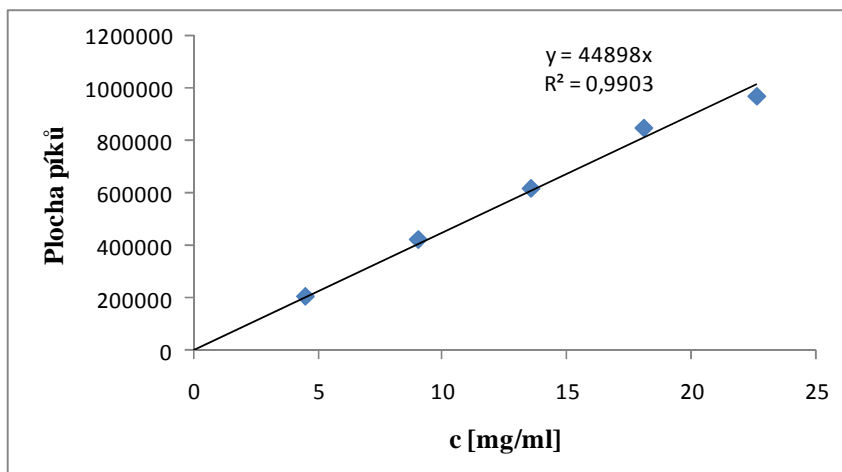
Pro ověření lineární závislosti ploch píků na koncentraci [c] byly sestaveny pětibodové kalibrační křivky pro standardy metylesterů kyseliny palmitové, stearové a olejové (Obr. 18 – 20).



Obr. 18. Kalibrační křivka pro metyl-stearat



Obr. 19. Kalibrační křivka pro metyl-palmitát



Obr. 20. Kalibrační křivka pro metyl-oleát

Příslušné koncentrace vybraných FAs byly vypočteny podle rovnic jednotlivých kalibračních přímků uvedených v Obr. 18 – 20. Tyto hodnoty pak byly porovnány s hodnotami stanovenými bez kalibrace v rozpouštědle hexan a jsou uvedeny v Tab. 16.

Tab. 16. Srovnání koncentrací vybraných FAs stanovených výpočtem z plochy píků ve srovnání s plochou píku standardu (C_1) a z rovnic kalibračních přímků (C_2)

Vzorky	c [mg/ml]					
	C16:0		C18:0		C18:1	
	C_1	C_2	C_1	C_2	C_1	C_2
SB	9,711	10,119	2,207	2,367	0,494	0,544
C	5,621	5,857	4,185	4,489	0,746	0,822
NV	0,373	0,389	0,023	0,024	0,105	0,116
D	0,306	0,319	0,047	0,050	0,028	0,031
K	4,908	5,114	0,847	0,909	4,453	4,909
A	0,773	0,806	0,040	0,043	0,428	0,472
W	0,567	0,591	0,040	0,043	0,227	0,251
WI	0,714	0,745	0,089	0,096	0,232	0,256
H	0,952	0,992	0,059	0,064	0,373	0,411

C_1 je koncentrace vybraných standardů FAs stanovená z ploch píků ve srovnání s plochou píku standardu dané FAs

C_2 je koncentrace vybraných FAs vypočtená podle příslušných rovnic kalibračních přímků

Jak vyplývá z výše uvedené tabulky, hodnoty zvolených FAs nevykazovaly významné rozdíly v koncentracích při výpočtu z rovnic kalibračních přímek (C_2) a při vyhodnocení plochy píků vzhledem k ploše píku standardu dané mastné kyseliny (C_1).

▪ **Kvantitativní stanovení FAs ve vzorcích sladkovodních a mořských řas**

Za předpokladu lineárních závislostí ploch píků na koncentraci stanovovaných FAs, byly zbývající FAs stanoveny pouze vyhodnocením ploch píků vzhledem k ploše píků standardu dané mastné kyseliny a vyjádřeny jako procentuální podíl z celkových metylesterů mastných kyselin (FAMES).

V tabulkách 17 – 20 jsou uvedeny výsledky kvantitativního zastoupení FAs ve vzorcích sladkovodních a mořských řas, které byly stanoveny po extrakci hexanem (E_1) a v rozpouštědlové soustavě (E_2) tvořené metanolem, chloroformem a vodou (1 : 2 : 1).

Tab. 17. Obsahy jednotlivých SFAs v [%] z FAMES u modrozelených a zelených sladkovodních a červených mořských řas

FA	Řasy							
	Modrozelené		Zelené		Červené			
	SB		C		NV		D	
	E_1	E_2	E_1	E_2	E_1	E_2	E_1	E_2
C14:0	1,54	12,8	1,06	1,10	2,93	13,1	9,67	10,8
C15:0	0,14	1,34	0,12	0,15	1,44	1,37	2,21	2,44
C16:0	53,1	38,0	29,4	30,3	47,6	36,6	54,1	57,5
C17:0	1,69	0,81	0,30	0,32	4,78	0,77	0,76	0,71
C18:0	12,1	11,3	22,0	22,8	2,91	11,3	8,28	8,70
C20:0	0,12	0,18	0,60	0,28	4,94	0,19	8,48	4,89
C22:0	0,03	0,08	0,03	---	3,17	0,10	---	0,02
C23:0	---	0,05	---	---	---	0,05	---	0,04
C24:0	---	0,07	0,16	---	---	0,08	---	0,01

E_1 je extrakce v hexanu

E_2 je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

Ve všech analyzovaných vzorcích modrozelených, zelených a červených řas byla nejvíce zastoupena nasycená FA kyselina palmitová (C16:0) v rozsahu 29,4 až 57,5 % z FAMES při použití obou extrakčních postupů. Nasycené mastné kyseliny s vyšším počtem uhlíků od C22:0 do C 24:0 se ve všech vzorcích vyskytovaly v malém množství, které nepřevýšilo 1 %, případně nebyly stanoveny vůbec.

Jak vyplývá z výše uvedené tabulky nejvíce zastoupenou SFA u vzorku *Spirulina platensis* byla kyselina palmitová (C16:0) za použití hexanu jako rozpouštědla (E₁) – 53,1 % z FAMES a za použití rozpouštědlové soustavy (E₂) metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1) také kyselina palmitová – 38,0 % z FAMES.

Nejvíce zastoupenou SFA u vzorku *Chlorella pyrenoidosa* byla kyselina palmitová (C16:0). Tentokrát však byl rozdíl mezi extrakčními postupy minimální. V případě extrakce hexanem E₁ – 29,4 % a 30,3 % při extrakci E₂.

V obou vzorcích červených mořských řas také převažovala kyselina palmitová (C16:0), přičemž ve vzorku *Porphyra tenera* byl její obsah 47,6 % u extrakce E₁ a při extrakci E₂ – 36,6 % z FAMES.

Nejvíce zastoupenou SFA byla ve vzorku *Palmaria palmata* při obou extrakcích kyselina palmitová – 54,1 % při extrakci E₁ a při extrakci E₂ – 57,5 % z FAMES.

Tab. 18. Obsahy jednotlivých MUFAs a PUFAs v [%] z FAMEs u modrozelených a zelených sladkovodních a červených mořských řas

FA	Řasy							
	Modrozelené		Zelené		Červené			
	SB		C		NV		D	
	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
C14:1 cis 9	0,31	1,04	0,04	0,44	3,57	1,06	1,19	0,69
C15:1 cis 10	0,01	0,01	0,009	0,04	1,72	0,01	0,24	0,36
C16:1 cis 9	3,27	2,06	1,72	1,80	2,77	2,22	2,66	3,53
C17:1 cis 10	0,45	0,35	0,40	0,40	4,28	0,37	0,60	0,36
C18:1 cis 9 + trans 9	2,68	25,3	3,87	3,68	13,3	26,3	4,98	7,69
C20:1 cis 11	0,16	0,15	0,08	---	2,25	0,10	0,45	0,66
C22:1 cis 13	0,10	0,01	---	---	---	0,01	---	0,04
C24:1 cis 15	---	0,01	---	---	---	0,01	---	0,01
C18:2 cis 9,12	12,6	3,41	15,3	15,9	3,13	2,93	1,47	1,17
C20:2 cis 11,14	0,11	0,56	0,12	---	---	0,58	---	0,04
C22:2 cis 13,16	11,6	1,99	2,56	---	---	1,67	4,73	0,22
C18:3	0,02	0,55	22,2	22,8	1,20	0,66	0,20	0,09
C20:4 cis 5,8,11,14	---	0,15	0,05	---	---	0,46	---	0,03

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

U nenasycených FAs byly zjištěny v některých případech velké rozdíly mezi jejich obsahy při použití různých extrakčních činidel.

Nejvíce zastoupenou MUFA u vzorku *Spirulina platensis* byla při extrakci E₁ kyselina palmitolejová (C16:1) – 3,27 % z FAMEs a u extrakce E₂ kyselina olejová (C18:1) – 25,3 % z FAMEs. Z PUFAs to byla při obou extrakčních postupech kyselina linolová (C18:2) – 12,6 % při extrakci E₁ a u extrakce E₂ – 3,41 % z FAMEs. U této modrozelené řasy se vyskytl rozdíl v zastoupení FAs při extrakci hexanem a rozpouštědlovou soustavou metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1). Při extrakci E₁ byl stanovený obsah kyseliny palmiové téměř dvojnásobný, kyseliny linolové trojnásobný a jako nejvíce zastoupenou MUFA

zde byla stanovena kyselina palmitolejová. Při extrakci E₂ byla nejvíce zastoupenou MUFA kyselina linolová.

Z MUFAs převažovala ve vzorku *Chlorella pyrenoidosa* při použití obou extrakčních metod kyselina olejová – 3,87 % při extrakci E₁ a 3,68 % z FAMES při extrakci E₂. Z PUFAs v tomto vzorku převažovala kyselina linolenová (C18:3) – 22,2 % při extrakci E₁ a 22,8 % z FAMES při extrakci E₂. U této zelené sladkovodní řasy bylo procentuální zastoupení jednotlivých FAs shodné při použití obou extrakčních rozpouštědel.

Z MUFAs byla u vzorku *Porphyra tenera* nejvíce zastoupena kyselina olejová (C18:1) u obou použitých rozpouštědel. Při první extrakci E₁ – 13,3 % a při druhé extrakci E₂ – 26,3 % z FAMES. Z PUFAs byla nejvíce zastoupena po extrakci v E₁ kyselina linolová (C18:2) – 3,13 %, po druhé extrakci v E₂ také kyselina linolová (C18:2) – 2,93 % z FAMES. Výskyt nejvíce zastoupených FAs byl shodný u obou použitých rozpouštědel, ale při extrakci E₂ byl stanovený obsah kyseliny olejové dvojnásobný.

Také ve vzorku *Palmaria palmata* převažovala u obou extrakcí kyselina olejová (C18:1) – 4,98 % po extrakci E₁ a po extrakci E₂ – 7,69 % z FAMES. Z PUFAs byla nejvíce obsažena při extrakci E₁ kyselina dokosadienová (C22:2) – 4,73 % a při druhé extrakci E₂ kyselina linolová (C18:2) – 1,17 % z FAMES.

Tab. 19. Obsahy jednotlivých SFAs v [%] z FAMEs u hnědých mořských řas

FA	Hnědé řasy									
	K		A		W		WI		H	
	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
C14:0	6,84	12,2	8,48	13,3	7,83	13,1	8,22	12,8	7,19	13,2
C15:0	0,24	1,21	0,59	1,34	0,60	1,36	0,57	1,31	0,56	1,39
C16:0	35,4	36,1	34,3	37,0	43,2	36,9	40,7	36,8	41,4	37,4
C17:0	0,21	0,70	0,34	0,76	0,19	0,75	0,38	0,74	0,11	0,74
C18:0	6,15	10,7	1,81	11,5	3,05	11,2	5,12	10,7	2,60	11,3
C20:0	0,65	0,25	3,14	0,17	0,81	0,20	1,24	0,22	0,34	0,18
C22:0	---	0,08	---	0,10	---	0,09	---	0,09	0,98	0,13
C23:0	---	0,05	---	0,05	---	0,05	---	0,05	---	0,06
C24:0	---	0,07	---	0,06	---	0,07	---	0,08	---	0,07

E₁ je extrakce hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

Podobně, jako tomu bylo v případě modrozelených, zelených a červených řas, i u všech sledovaných druhů hnědých mořských řas byla po různých extrakcích stanovena kyselina palmitová (C16:0) v nejvyšších koncentracích ze všech zkoumaných nasycených FAs. Nasycené FAs s vyšším počtem uhlíků C22:0 až C24:0 se ve všech analyzovaných vzorcích vyskytovaly ve velmi malém množství, které nepřesahovalo 1 % při extrakci rozpouštědlovou směsí metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1). Po extrakci v hexanu nebyly tyto SFAs, kromě C22:0 ve vzorku *Hizikia fusiformis*, detekovány vůbec.

Při použití obou extrakčních postupů byla nejvíce zastoupenou SFA ve vzorku *Laminaria japonica* po extrakci E₁ kyselina palmitová (C16:0) – 35,4 % a při druhé extrakci E₂ – 36,1 % z FAMEs.

Nejvíce zastoupenou SFA byla u vzorku *Eisenia bicyclis* po obou extrakcích kyselina palmitová (C16:0) u extrakce E₁ – 34,3 % a u extrakce E₂ – 37,0 % z FAMEs.

Oba vzorky Wakame a Wakame instant ze stejného druhu hnědé mořské řasy *Undaria pinnatifida* obsahovaly podobné množství kyseliny palmitové (C16:0). U produktu Wakame to bylo při extrakci E₁ – 43,2 % a u extrakce E₂ – 36,9 % z FAMEs. U produktu

Wakame instant při první extrakci hexanem tvořil podíl kyseliny palmitové (C16:0) – 40,7 % a u extrakce E₂ 36,8 % z FAMES.

Nejvíce zastoupenou SFA byla u vzorku *Hizikia fusiformis* kyselina palmitová (C16:0) při použití obou rozpouštědel. Její obsah činil 41,4 % u hexanu – E₁ a 37,4 % z FAMES u E₂.

Tab. 20. Obsahy jednotlivých MUFAs a PUFAs v [%] z FAMES u hnědých mořských řas

FA	Hnědé řasy									
	K		A		W		WI		H	
	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
C14:1 cis 9	0,03	0,91	0,32	1,08	0,26	1,06	0,21	0,99	0,12	1,08
C15:1 cis 10	0,02	0,01	0,07	0,01	0,04	0,01	0,07	0,01	0,08	0,01
C16:1 cis 9	0,68	1,81	11,5	2,12	1,22	1,98	1,40	1,94	5,58	2,04
C17:1 cis 10	0,06	0,30	1,72	0,36	0,67	0,35	4,16	0,35	0,37	0,36
C18:1 cis 9 + trans 9	31,8	26,9	18,9	28,0	17,2	26,1	13,2	25,6	16,1	26,2
C20:1 cis 11	0,53	0,25	1,27	0,05	1,34	0,06	1,91	0,09	0,44	0,12
C22:1 cis 13	---	0,001	---	0,01	---	---	---	---	---	0,01
C24:1 cis 15	---	0,01	---	---	---	---	---	0,02	---	---
C18:2 cis 9,12	8,30	3,60	7,61	2,75	8,85	3,04	8,33	3,19	5,96	2,67
C20:2 cis 11,14	---	0,64	---	0,20	---	0,57	0,42	0,56	0,40	0,59
C22:2 cis 13,16	---	2,45	---	0,46	---	1,75	2,00	1,63	---	1,75
C18:3	2,37	0,71	2,41		7,57	0,77	7,31	1,69	7,40	0,65
C20:4 cis 5,8,11,14	6,65	1,08	7,69	0,16	7,12	0,62	4,78	1,21	10,4	0,17

E₁ je extrakce v hexanu

E₂ je extrakce ve směsi metanol, chloroform, voda (1 : 2 : 1)

U nenasycených FAs byly zjištěny v některých případech velké rozdíly mezi jejich obsahy při použití různých extrakčních činidel.

Z MUFAs převažovala u vzorku *Laminaria japonica* při obou extrakcích kyselina olejová (C18:1) – 31,8 % u extrakce E₁ a 26,9 % z FAMEs po extrakci E₂. Z PUFAs byla nejvíce zastoupena u obou extrakcí kyselina linolová (C18:2) – 8,3 % u extrakce E₁ a po extrakci E₂ – 3,60 % z FAMEs.

Z MUFAs převažovala u vzorku *Eisenia bicyclis* při extrakci E₁ kyselina olejová (C18:1) – 18,9 % a u extrakce E₂ také kyselina olejová – 28,0 % z FAMEs. Z PUFAs to byla při extrakci E₁ kyselina arachidonová (C20:4) – 7,69 % a při extrakci E₂ kyselina linolová (C18:2) – 2,75 % z FAMEs.

Oba vzorky produktů Wakame i Wakame instant ze stejného druhu hnědé mořské řasy *Undaria pinnatifida* vykazovaly při obou extrakcích nejvyšší obsah kyseliny olejové (C18:1) z MUFAs. Při extrakci E₁ u produktu Wakame – 17,2 % a při extrakci E₂ – 26,1 % z FAMEs. U produktu Wakame instant byl obsah kyseliny olejové stanoven při extrakci E₁ – 13,2 % a při extrakci E₂ – 25,6 % z FAMEs. Z PUFAs převažovala u této řasy v produktu Wakame kyselina linolová (C18:2) – 8,85 % u extrakce E₁ a při extrakci E₂ – 3,04 % z FAMEs. U produktu Wakame instant byla dominantní PUFA také kyselina linolová – 8,33 % při extrakci E₁ a 3,19 % z FAMEs při extrakci E₂.

Z MUFAs převažovala u vzorku *Hizikia fusiformis* při extrakci E₁ kyselina olejová (C18:1) – 16,1 % a při extrakci E₂ také kyselina olejová – 26,2 % z FAMEs. Z PUFAs to byla po extrakci E₁ kyselina arachidonová (C20:4) – 10,4 % a po extrakci E₂ kyselina linolová (C18:2) – 2,67 % z FAMEs.

Jak již bylo zmíněno, chemické složení řas je ovlivněno mnoha faktory, které je při výzkumu nutné zohlednit. Lze říci, že z SFAs byla vždy nejzastoupenější FA kyselina palmitová, kdy její obsahy při obou extrakčních postupech byly ve většině případů shodné. Na rozdíl od literárních údajů, v modrozelené řase *Spirulina platensis* byla kyselina palmitolejová obsažena v největším množství ze všech SFAs, zatímco podle Babadzhanov *et al.* (2004), to byla kyselina olejová.

Další rozdíl v obsahu FAs od publikovaných údajů se vyskytoval u červené řasy *Palmaria palmata*, kdy místo uváděné kyseliny palmitolejové jako nejvíce zastoupené MUFAs podle Sánchez-Machado *et al.* (2004), bylo stanoveno nejvíce kyseliny olejové. U červené řasy *Palmaria palmata* byla při E₁ jako nejvíce zastoupená PUFA stanovena kyselina dokosadi-

enová a při E₂ kyselina linolová. U hnědé řasy *Eisenia bicyclis* byla při E₁ jako nejvíce zastoupená PUFA stanovena kyselina arachidonová a při extrakci E₂ kyselina linolová.

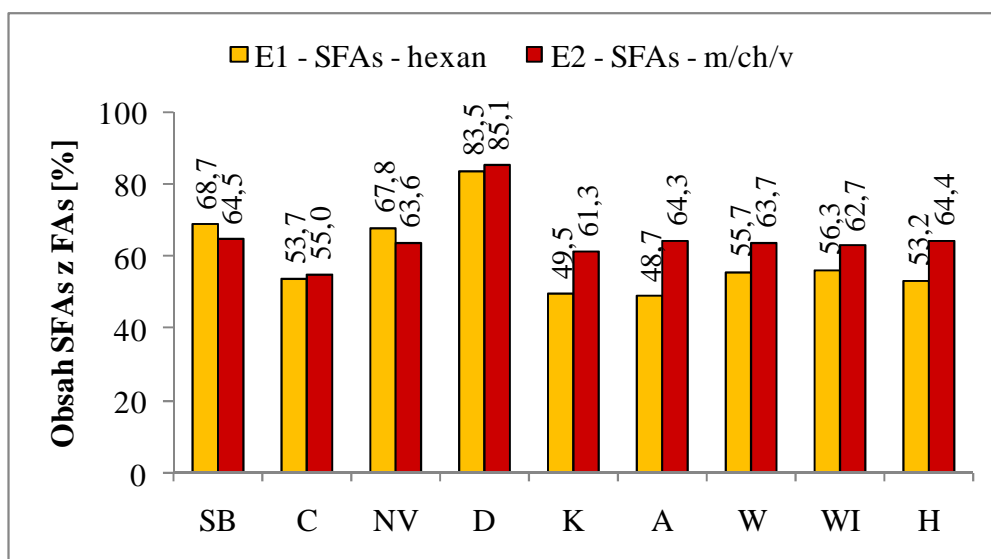
8.3 Vliv extrakce na obsahy mastných kyselin ve vzorcích řas

Byl zkoumán vliv různých způsobů extrakce lipidů na obsah mastných kyselin ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas.

Jednotlivé zastoupení SFAs, MUFAs a PUFAs ve vzorcích sladkovodních a mořských řas stanovených za použití rozpouštědla hexan (E₁) a rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 – E₂ je patrné z následujících grafů, viz Obr. 21 – 23.

8.3.1 Vliv extrakce na obsah SFAs v řasách

Jak vyplývá z Obr. 21, SFAs byly převažujícími FAs ve všech vzorcích sladkovodních a mořských řas.



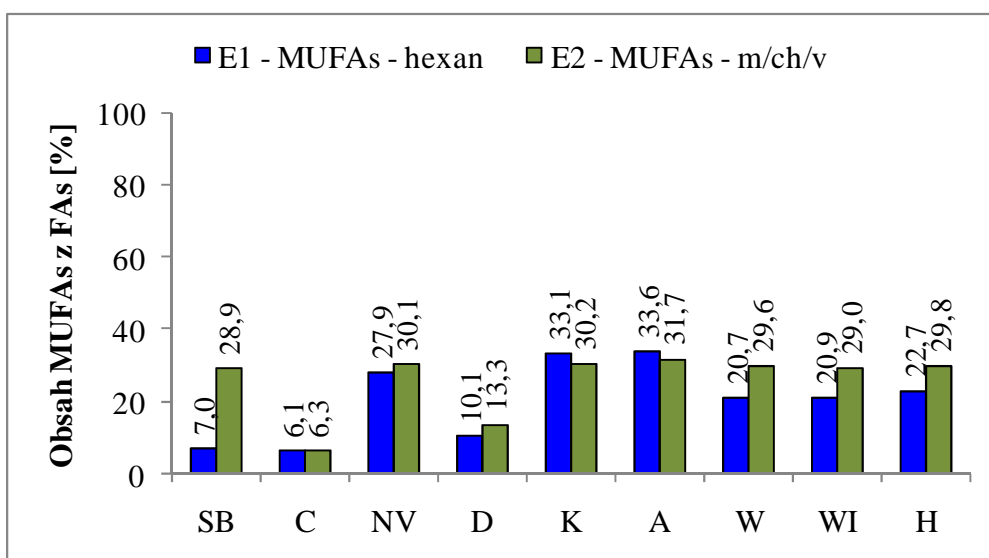
Obr. 21. Obsah SFAs v [%] z celkových FAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a v rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda

Nejvyšší obsah SFAs vykazovala červená řasa *Palmaria palmata* (D) – 83,5 % při extrakci E₁ a 85,1 % při extrakci E₂ z celkových FAs. Naopak nejnižší obsah SFAs byl stanoven u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A) při použití hexanu E₁ – 48,7 % z celkových FAs a nejnižší obsah SFAs při použití rozpouštědlové soustavy E₂ byl u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) 55,0 % z celkových FAs. Výtěžnost SFAs byla vyšší při použití hexanu pouze u modrozelené řasy *Spirulina platensis* (SB) a červené řasy *Porphyra tenera* (NV).

U ostatních vzorků *Chlorella pyrenoidosa*, *Palmaria palmata*, *Laminaria japonica*, *Eisenia bicyclis*, produktů Wakame a Wakame instant z druhu *Undaria pinnatifida* a také u *Hizikia fusiformis* byla výtěžnost vyšší při použití rozpouštědlové soustavy E₂.

8.3.2 Vliv extrakce na obsah MUFAs v řasách

Obsahy MUFAs u zkoumaných vzorků při různých extrakčních postupech nabývaly odlišných hodnot, jak dokládá Obr. 22.

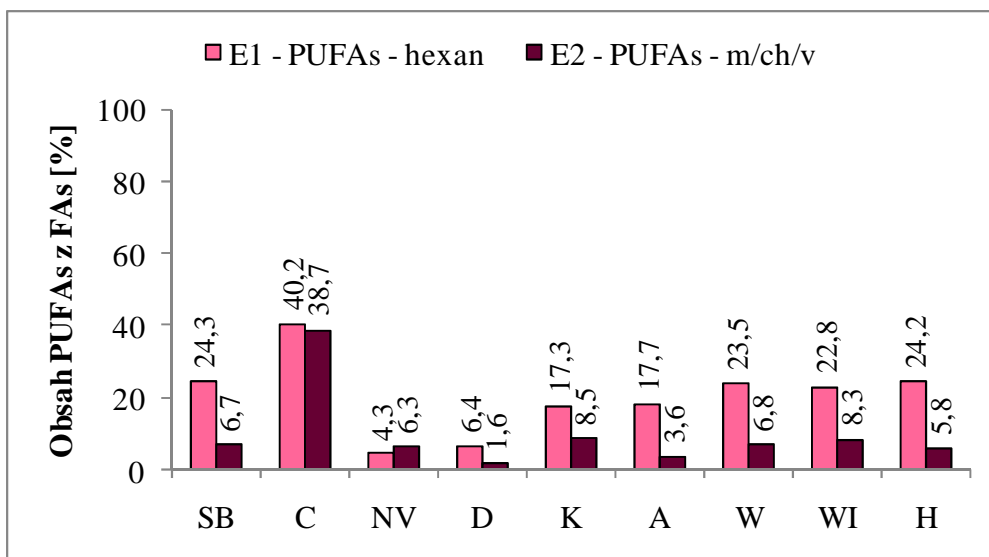


Obr. 22. Obsah MUFAs v [%] z celkových FAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a v rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda

Nejvyšší obsah MUFAs byl stanoven u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A) 33,6 % z celkových FAs při použití hexanu – E₁ a 31,7 % z celkových FAs při použití rozpouštědlové soustavy – E₂. Naopak nejnižší obsah MUFAs byl stanoven u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) a to za použití obou extrakčních postupů. Při použití hexanu 6,1 % a při použití rozpouštědlové soustavy 6,3 % z celkových FAs. Významné rozdíly obsahů MUFAs při použití rozdílných extrakčních činidel lze nalézt u modrozelené řasy *Spirulina platensis* (SB), kdy při použití hexanu MUFAs tvořily 7,0 % a při použití rozpouštědlové soustavy (E₂) 28,9 % z celkových FAs. Tento rozdíl mohl být způsoben tím, že hexanem nebyly vyextrahovány veškeré FAs, což bylo potvrzeno kvalitativním zastoupením FAs. Výtěžnost MUFAs byla vyšší při použití hexanu u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A) a *Laminaria japonica* (K). U ostatních vzorků *Spirulina platensis*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Porphyra tenera*, *Palmaria palmata* a produktů Wakame a Wakame instant z druhu *Undaria pinnatifida*, bylo vyšší výtěžnosti dosaženo při použití extrakční soustavy E₂.

8.3.3 Vliv extrakce na obsah PUFAs v řasách

Z obrázku 23 je patrné, že hodnoty PUFAs, podobně jako MUFAs, byly při použití různých extrakčních postupů značně nevyrovnané.



Obr. 23. Obsah PUFAs v [%] z celkových FAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a v rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda

Celkově nižší obsahy PUFAs ve srovnání s SFAs a MUFAs byly způsobeny faktem, že použitá kolona plynového chromatografu nebyla schopna rozlišit kyselinu eikosapentaenovou, která je u některých řas hojně zastoupenou FA. Nejvyšší obsah PUFAs se vyskytoval u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C) a to při použití obou rozpouštědel. Při použití hexanu E₁ činil – 40,2 % a při použití rozpouštědlové soustavy E₂ – 38,7 % z celkových FAs. Naopak nejnižší obsah PUFAs byl stanoven u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* (A) 3,6 % z celkových FAs při použití E₂ a u červené řasy *Palmaria palmata* (D) 1,6 % z celkových FAs při použití rozpouštědlové soustavy E₂. Vyrovnaných hodnot PUFAs při použití různých rozpouštědel bylo dosaženo u zelené řasy *Chlorella pyrenoidosa* (C).

Obecně lze říci, že vyšší výtěžnosti PUFAs bylo dosaženo při extrakci hexanem E₁, vyjma červené řasy *Porphyra tenera* (NV), kdy byla vyšší výtěžnost PUFAs při použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda – E₂. Nejnižší obsah PUFAs byl zjištěn v červených řasách.

ZÁVĚR

Sladkovodní i mořské řasy jsou známé obsahem látek, které jsou zdraví prospěšné. Jedná se především o vysoký obsah vlákniny, proteinů s esenciálními aminokyselinami, minerálních látek – vápník a železo, vitaminů skupiny B, C a E. V řasách lze nalézt ale i další biologicky aktivní látky jako polyfenoly a karotenoidy, které jsou považovány za silné antioxidanty.

Mořské řasy jsou uznávaným producentem ω -6 a obzvláště ω -3 mastných kyselin, které jsou esenciální pro výživu lidí i zvířat. EPA a DHA jsou dvě velmi důležité mastné kyseliny obsažené v lipidech mořských řas společně s α -linolenovou kyselinou. Dnešní společnost je charakterizována zvýšeným energetickým příjmem a sníženým energetickým výdajem. Dále pak zvýšeným příjmem nasycených a ω -6 mastných kyselin a sníženým příjmem ω -3 mastných kyselin. Hlavním zdrojem esenciálních mastných ω -3 kyselin jsou ryby, jejichž potravou jsou řasy, které jsou jejich hlavními producenty.

Pro stanovení celkového obsahu lipidů ve vzorcích sladkovodních a mořských řas je Soxhletova extrakce optimální metodou za použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. U všech zkoumaných vzorků sladkovodních a mořských řas byly celkové obsahy lipidů za použití tohoto extrakčního rozpouštědla mnohem vyšší, než při použití hexanu. Jedinou výjimku tvořila zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa*, u níž byly zjištěné obsahy celkových lipidů za použití obou rozpouštědel vyrovnané.

Sladkovodní řasy obsahovaly vyšší podíl lipidů než řasy mořské při použití obou rozpouštědlových soustav. Z vybraných skupin řas byl nejnižší obsah lipidů v červených řasách a naopak nejvyšší obsah lipidů byl stanoven ve skupině modrozelených a zelených řas u obou extrakčních postupů.

Nejvyšší obsahy lipidů při extrakci hexanem vykazovaly zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa* 3,71 % a modrozelená řasa *Spirulina platensis* 3,50 % v hmotnosti vzorku. Naopak nejnižší zastoupení lipidů se vyskytovalo u červené řasy *Palmaria palmata* 0,64 % a hnědé řasy *Undaria pinnatifida* 0,73 % v hmotnosti vzorku.

Nejvyšší obsah lipidů u extrakce v rozpouštědlové směsi methanol, chloroform voda (1 : 2 : 1) vykazovala sinice *Spirulina platensis* 10,23 %. Naopak nejnižší zastoupení lipidů bylo stanoven u červených řas *Palmaria palmata* 1,26 % a *Porphyra tenera* 1,47 %.

Pro zjištění kvalitativního zastoupení FAs se jeví extrakce za použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 také jako vhodnější. Při porovnání výsledků je patrné, že více FAs bylo stanoveno za použití této rozpouštědlové soustavy, než při použití hexanu. Jedinou výjimkou byla opět zelená řasa *Chlorella pyrenoidosa*, kdy bylo více FAs stanoveno při použití hexanu.

Pro kvantitativní stanovení FAs lze na základě výsledků také doporučit extrakci lipidové frakce do rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. Až na výjimky byly obsahy SFAs a MUFAs při extrakci za použití hexanu nižší, než tomu bylo při použití směsi metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. Naopak při kvantitativním stanovení PUFAs byla výtěžnost při extrakci hexanem vyšší, než při extrakci směsí metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1.

SFAs byly nejvíce zastoupenou frakcí z celkových FAs a výtěžnost byla vyšší při použití hexanu jako rozpouštědla u modrozelené řasy *Spirulina platensis* a červené řasy *Porphyra tenera*. U zbylých vzorků řas byla vyšší výtěžnost SFAs při použití rozpouštědlové soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. Obsah SFAs činil při použití hexanu – 48,7 až 83,5 % z celkových FAs a při použití směsí metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 – 55,0 až 85,1 % z celkových FAs. Nejvíce zastoupenou nasycenou kyselinou byla ve všech vzorcích kyselina palmitová (C16:0) v obsahu 29,4 % – 54,1 % při extrakci E₁ a 30,3 % – 57,5 % při extrakci E₂ z FAMEs.

Výtěžnost MUFAs byla vyšší při použití hexanu u hnědé řasy *Eisenia bicyclis* a *Laminaria japonica*. Jinak bylo vyšší výtěžnosti dosaženo při použití soustavy metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. Obsah MUFAs byl při použití hexanu – 6,12 až 33,6 % z celkových FAs a při použití směsí metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 – 6,34 až 31,7 % z celkových FAs. Nejvíce zastoupenou monoenoovou mastnou kyselinou ve většině vzorků byla kyselina olejová (C18:1) v obsahu 2,68 % až 31,8 % při extrakci E₁ a 3,68 až 28,0 % při extrakci E₂ z FAMEs.

Obecně lze konstatovat, že vyšší výtěžnosti PUFAs bylo dosaženo při použití rozpouštědlové soustavy hexan, vyjma červené řasy *Porphyra tenera*, kdy byla vyšší výtěžnost PUFAs zaznamenána při použití směsi metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1. Obsah PUFAs byl při použití hexanu – 4,33 až 40,2 % z celkových FAs a při použití směsí metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1 jeho obsah činil 1,55 – 38,7 % z celkových FAs. Nejzastoupenější PUFAs byla ve většině vzorků kyselina linolová (C18:2).

Bylo prokázáno, že sladkovodní řasy obsahují více lipidů než řasy mořské. Z pohledu polynenasycených mastných kyselin jsou ale sladkovodní řasy bohatším zdrojem těchto kyselin než řasy mořské.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KALINA, T.; VÁŇA, J.; *Sinice, řasy, houby, mechorošty a podobné organismy v současné biologii*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2005. 606 s. ISBN 80-246-1036-1.
- [2] URBAN, Z.; KALINA, T.; *Systém a evoluce nižších rostlin*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980. 416 s.
- [3] POULÍČKOVÁ, A.; JURČÁK, J.; *Malý obrazový atlas našich sinic s řas*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2001, 79 s. ISBN 80-244-0242-4.
- [4] HINDÁK, F.; CYRUS, Z.; MARVAN, P.; JAVORNICKÝ, P.; KOMÁREK, J.; Ettl, H.; ROSA, K.; SLÁDEČKOVÁ, A.; POPOVSKÝ, J.; PUNČOCHÁŘOVÁ, M.; LHOTSKÝ, O.; *Sladkovodné riasy*. 1. vyd. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1978. 724 s.
- [5] KAŠTOVSKÝ, J.; HAUER, T.; LUKAVSKÝ, J.; *Cyanobacteria* [online]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné z WWW: <<http://www.sinicearasy.cz/134/Cyanobacteria>>.
- [6] *Nitrogen Assimilation and Cellular Differentiation in Cyanobacteria* [online]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné z WWW: <http://www.ibvf.csic.es/cianobac_diferenciacion/Imagenes/Cianobacteria%20filamentosa.jpg>
- [7] HABIB, M. A. B., et al. *A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Circular, 2008. 33 s. ISBN 9789251061060.
- [8] BABADZHANOV, A. S., et al. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds*. 2004, vol. 40, no. 3, s. 276-279.
- [9] OLIVEIRA, M. A. C. L. De, et al. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International*. 1999, vol. 7, no. 4, s. 261–275.
- [10] COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty Acids Profile of *Spirulina platensis* Grown Under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations. *Z. Naturforsch.* 2004, vol. 59 c, no. 1/2, s. 55-59.

- [11] *Bio Spirulina* [online]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné z WWW: <http://www.healthlink.cz/fileadmin/user_upload/produkty/potravinove_doplanky/BIO_Spirulina_skupina_01.jpg>
- [12] ŠRAIER, Z.; SLÁDEK, T.; *Sinice a vodní květ*. [online]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné z WWW: <<http://www.stranypotapecske.cz/teorie/sinice.asp>>.
- [13] KAŠTOVSKÝ, J.; HAUER, T.; LUKAVSKÝ, J.; *Chromophyta* [online]. [cit. 2011-03-06]. Dostupné z WWW: <<http://www.sinicearasy.cz/134/Chromophyta>>.
- [14] CHEN, J.; *Cultured Aquatic Species Information Programme Laminaria japonica*. [online]. [cit. 2011-03-07]. Dostupné z WWW: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Laminaria_japonica/en>.
- [15] McHUGH, D. J. *A guide to the seaweed industry*. Rome: FAO, 2003. 105 s. ISBN 92-5-104958-0
- [16] HOLDT, S. L.; KRAAN, S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J Appl Phycol.* 2011, DOI: 10.1007/s10811-010-9632-5. Dostupné z WWW: <<http://www.springerlink.com/content/x2xj34726k636p58/>>.
- [17] *Saccharina cultivation in China* [online]. [cit. 2011-03-07]. Dostupné z WWW: <http://www.seaweed.ie/_images/Sac_japonica_ropes_small.jpg>.
- [18] MAEGAWA, M. Ecological Studies of *Eisenia bicyclis* (KJELLMA) SETCHELL and *Ecklonia cava* (KJELLMAN). *Bull. Fac. Biorsources, Mie Uni.* 1999, no. 4, s. 73-145.
- [19] HERNÁNDEZ-CARMONA, G., et al. Monthly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J.E. Areschoug. *J Appl Phycol.* 2009, vol. 21, no. 5, s. 607-616.
- [20] *Underwater forest* [online]. [cit. 2011-03-12]. Dostupné z WWW: <<http://www.fuyokaiyo.co.jp/aramé-oka.jpg>>.
- [21] *Bio-natural*. [online]. [cit. 2011-03-12]. Dostupné z WWW: <<http://www.bio-natural.cz/files/big/12b5a371a719f45510b0d64e04002b7d.jpg>>.
- [22] *Undaria pinnatifida* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.fao.org/fishery/species/2777/en>>.

- [23] *Undaria pinnatifida* [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.biosecurity.govt.nz/files/imagecache/sample/pests/undaria/undaria.jpg>>.
- [24] *Simple Wakame Salad* [online]. [cit. 2011-03-22]. Dostupné z WWW: <<http://epicself.com/wp-content/uploads/2007/08/simple-wakame-salad.jpg>>.
- [25] *Hizikia fusiformis* [online]. [cit. 2011-03-22]. Dostupné z WWW: <http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/korea/main_species/hizikia.files/image001.jpg>.
- [26] WANG, J., et al. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2008, vol. 42, no. 2, s. 127-132.
- [27] KAŠTOVSKÝ, J.; HAUER, T.; LUKAVSKÝ, J.; *Rhodophyta* [online]. [cit. 2011-03-24]. Dostupné z WWW: <<http://www.sinicearasy.cz/134/Rhodophyta>>.
- [28] CHEN, J.; XU, P.; *Cultured Aquatic Species Information Programme Porphyra spp.* [online]. [cit. 2011-03-24]. Dostupné z WWW: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Porphyra_spp/en>.
- [29] *The World's Marine life* [online]. [cit. 2011-03-24]. Dostupné z WWW: <http://download.nfrdi.re.kr/portal/program/fpb_data_img/008/Porphyra%20tenera.jpg>.
- [30] *Palmaria palmata* [online]. [cit. 2011-03-24]. Dostupné z WWW: <<http://www.habitas.org.uk/marinelife/algae/F1860.jpg>>
- [31] *Chlorella* [online]. [cit. 2011-03-27]. Dostupné z WWW: <<http://www.chlorella.cz/>>.
- [32] MIYAMOTO, K. *Renewable biological systems for alternative sustainable energy production*. Rome: FAO, 1997. 108 s. ISBN 92-5-104059-1.
- [33] KOČÁRKOVÁ, J.; *Liberecká spalovna využívá oxid uhličitý pro pěstování řas* [online]. [cit. 2011-03-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.techtydenik.cz/detail.php?action=show&id=4025&mark=libereck%20E1%20spalovna%20vyu%20vyu%20E1%20oxid%20uhli%20E8it%20FD>>.
- [34] *Chlorella* [online]. [cit. 2011-03-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.theherbprof.com/picChlorella.JPG>>.

- [35] *Svět vitamínů* [online]. [cit. 2011-03-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.theherbprof.com/picChlorella.JPG>>.
- [36] ASTORGA-ESPAÑA, M. S.; CALISTO-ULLOA, N. C.; GUERRERO, S. Baseline Concentrations of Trace Metals in Macroalgae from the Strait of Magellan, Chile. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2008, vol. 80, no. 2, s. 97-101.
- [37] BURTIN, P. NUTRITIONAL VALUE OF SEaweEDS. *EJEAFChe*. 2003, vol. 2, no. 4, s. 498-503. ISSN 1579-4377.
- [38] DAWCZYNSKI, Ch.; SCHUBERT, R.; JAHREIS, G. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*. 2007, vol. 103, no. 3, s. 891-899.
- [39] SÁNCHEZ-MACHADO, D. I., et al. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*. 2004, vol. 85, no. 3, s. 439-444.
- [40] SPOEHR, H. A.; MILNER, H. W. The chemical composition of *Chlorella*; Effect of environmental conditions. 1948, s. 120-149.
- [41] JIMENEZ-ESCRIG, A.; SANCHEZ-MUNIZ, F. J. Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*. 2000, vol. 20, no. 4, s. 585-598.
- [42] MACARTAIN, P., et al. Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutrition Reviews*. 2007, vol 65, no. 12, s. 535-543.
- [43] FLEURENCE, J. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*. 1999, vol. 10, no. 1, s. 25-28.
- [44] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 352 s. ISBN 80-902391-3-7.
- [45] NOVÁK, F. *Úvod do klinické biochemie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. 341 s. ISBN 80-246-0366-7.
- [46] MURRAY, R. K., et al. *Harperova Biochemie*. 2. vyd. Jinočany: H&H, 1998. 872 s. ISBN 80-85787-38-5.
- [47] VOET, D.; VOETOVÁ, J. G. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: Victoria publishing, 1995. 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.
- [48] DAVÍDEK, J.; JANÍČEK, G.; POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1983. 629 s.

- [49] VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I*. 3. vyd. . Tábor: OSSIS, 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [50] NOVÁK, V.; BUŇKA, F. *Základy ekonomiky výživy*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. 119 s. ISBN 80-7318-262-9.
- [51] HARPER, H. A. *Přehled fyziologické chemie*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1977. 639 s.
- [52] JANÍČEK, G.; ŠANDERA, K.; HAMPL, B. *Rukověť potravinářské analytiky*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1962. 740 s.
- [53] DHONT, J.; VANDEN BERGHE, E.; *Analytical Techniques in Aquaculture Research, Fats & Lipids*. [online]. [cit. 2011-04-09]. Dostupné z WWW: <<http://www.aquaculture.ugent.be/Education/coursematerial/online%20courses/ATA/analysis/lipids.htm>>.
- [54] DAVÍDEK, J., et al. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1981. 718 s.
- [55] IVERSON, S. J.; LANG, S. L.C.; COOPER, M. H. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. *Lipids*. 2001, vol. 36, no. 11, s. 1283-1287.
- [56] XIANCUI, L., et al. Fatty acids of some algae from the Bohai Sea. *Phytochemistry*. 2002, vol. 59, no. 2, s. 157-161.
- [57] KHOTIMCHENKO, S. V. Fatty acids of brown algae from the Russian Far East. *Phytochemistry*. 1998, vol. 49, no. 8, s. 2363-2369.
- [58] PETKOV, G.; GARCIA, G. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007, vol. 103, no. 5, s. 281-285.
- [59] D'OCA, M. G. M., et al. Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomass and Bioenergy*. 2011, vol. 35, no. 4, s. 1533-1538.
- [60] KLOUDA, P.; *Fyzikální chemie*. 2. vyd. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2002. 131 s. ISBN 80-86369-06-4.
- [61] SIMOPOULOS, A. P. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Exp Biol Med*. 2008, vol. 233, no. 6, s. 674-688.

- [62] RUBIO-RODRÍGUEZ, N., et al. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2010, vol. 11, no. 1, s. 1-12.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Kyselina arachidonová
AAS	Aminokyselinové skóre
ALA	Kyselina α -linolenová
DHA	Kyselina dokosahexaenová
EFAs	Esenciální mastné kyseliny
EPA	Kyselina eikosapentaenová
FAs	Mastné kyseliny
FAMEs	Metylestery mastných kyselin
GC FID	Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem
GLA	Kyselina γ -linolenová
LA	Kyselina linolová
MUFAs	Mononenasyčené mastné kyseliny
PUFAs	Polynenasycené mastné kyseliny
S. D.	Směrodatná odchylka
SDA	Kyselina stearová
SFAs	Nasyčené mastné kyseliny

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Vláknó vláknité sinice s vegetativními buňkami, heterocytem a akinetou</i>	14
<i>Obr. 2. Postavení sinic a řas v taxonomickém systému</i>	15
<i>Obr. 3. Spirulina sp.</i>	16
<i>Obr. 4. Doplněk stravy Bio Spirulina</i>	17
<i>Obr. 5. Pěstování řasy Laminaria japonica</i>	25
<i>Obr. 6. Eisenia bicyclis</i>	26
<i>Obr. 7. Sušená Arame</i>	26
<i>Obr. 8. Undaria pinnatifida</i>	27
<i>Obr. 9. Salát připravený z Wakame</i>	27
<i>Obr. 10. Hizikia fusiformis</i>	28
<i>Obr. 11. Porphyra tenera</i>	30
<i>Obr. 12. Palmaria palmata</i>	31
<i>Obr. 13. Chlorella pyrenoidosa</i>	34
<i>Obr. 14. Doplněk stravy</i>	34
<i>Obr. 15. Aparatura na Soxhletovu extrakci</i>	62
<i>Obr. 16. Aparatura na přípravu metylesterů</i>	63
<i>Obr. 17. Hodnoty celkových lipidů ve vybraných vzorcích sladkovodních a mořských řas</i>	68
<i>Obr. 18. Kalibrační křivka pro metyl-palmitát</i>	74
<i>Obr. 19. Kalibrační křivka pro metyl-stearát</i>	74
<i>Obr. 20. Kalibrační křivka pro metyl-oleát</i>	75
<i>Obr. 21. Obsah SFAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a v rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda</i>	83
<i>Obr. 22. Obsah MUFAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a v rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda</i>	84

Obr. 23. Obsah PUFAs ve vybraných druzích řas při extrakci v hexanu a rozpouštědlové soustavě metanol, chloroform, voda

85

SEZNAM TABULEK

Tab. 1.	Obsah vlhkosti (V), sušiny (S) a popela (P) v [%] u vybraných druhů řas	35
Tab. 2.	Obsah vlákniny v [%] sušiny u vybraných druhů řas	36
Tab. 3.	Obsah proteinů v [%] sušiny u vybraných druhů řas	37
Tab. 4.	Obsah lipidů v [%] sušiny u vybraných druhů řas	53
Tab. 5.	Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny sladkovodní modrozelené řasy <i>S. platensis</i> a vybraných druhů hnědých mořských řas	54
Tab. 6.	Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny hnědé mořské řasy <i>U. pinnatifida</i>	55
Tab. 7.	Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny červených mořských řas <i>Porphyra sp.</i> a <i>Palmaria sp.</i>	56
Tab. 8.	Obsah FAs v [%] z FAMES, ω -6/ ω -3 a celkový obsah lipidů v [%] sušiny sladkovodní zelené řasy <i>Ch. pyrenoidosa</i>	57
Tab. 9.	Použité vzorky řas a jejich charakteristika	60
Tab. 10.	Celkový obsah lipidů ve vzorcích sladkovodních a mořských řas	66
Tab. 11.	Celkový obsah lipidů ve sladkovodních a mořských řasách	67
Tab. 12.	Kvalitativní zastoupení SFAs u sladkovodních modrozelených a zelených řas a červených mořských řas	70
Tab. 13.	Kvalitativní zastoupení MUFAs a PUFAs u sladkovodních modrozelených a zelených řas a červených mořských řas	71
Tab. 14.	Kvalitativní zastoupení SFAs v hnědých mořských řasách	72
Tab. 15.	Kvalitativní zastoupení MUFAs a PUFAs v hnědých mořských řasách	73
Tab. 16.	Srovnání koncentrací vybraných FAs stanovených výpočtem z plochy píků ve srovnání s plochou píku standardu (C_1) a z rovnic kalibračních přímků (C_2)	76
Tab. 17.	Obsahy jednotlivých SFAs v [%] z FAMES u modrozelených a zelených sladkovodních a červených mořských řas	76

<i>Tab. 18. Obsahy jednotlivých MUFAs a PUFAs v [%] z FAMEs u modrozelených a zelených sladkovodních a červených mořských řas</i>	78
<i>Tab. 19. Obsahy jednotlivých SFAs v [%] z FAMEs u hnědých mořských řas</i>	80
<i>Tab. 20. Obsahy jednotlivých MUFAs a PUFAs v [%] z FAMEs u hnědých mořských řas</i>	81

SEZNAM PŘÍLOH

- P I** Kritéria kvality pro jedlé mořské řasy.
- P II** Základní nasycené FA vyskytující se v lipidech.
- P III** Základní monoenové FA vyskytující se v lipidech.
- P IV** Základní polyenové FA vyskytující se v lipidech.
- P V** Chromatogramy vybraných druhů sladkovodních a mořských řas po extrakci v hexanu.
- P VI** Chromatogramy vybraných druhů sladkovodních a mořských řas po extrakci v rozpouštědlové směsi metanol, chloroform, voda v poměru 1 : 2 : 1.

PŘÍLOHA P I: KRITÉRIA KVALITY PRO JEDLÉ MOŘSKÉ ŘASY.

[16]

	Limit [mg.kg ⁻¹ sušiny]		
	Francie	USA	EU
Anorganický arzen	< 3,0	< 3,0	Není regulace
Olovo	< 5,0	< 10	< 3,0
Kadmium	< 0,5		< 3,0
Cín	< 5,0		
Měď	< 0,1		< 0,1
Jod	< 0,5	< 5,0	
Těžké kovy		< 40	

PŘÍLOHA P II: ZÁKLADNÍ NASYCENÉ FA VYSKYTUJÍCÍ SE V LIPIDECH. [44]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název	Výskyt
Butanová	4	Máselná	V malém množství se vyskytují v
Hexanová	6	Kapronová	některých tucích, zvláště v másle.
Oktanová	8	Kaprylová	Máslo, tuky rostlinného původu.
Dekanová	10	Kaprinová	
Dodekanová	12	Laurová	Vorvaňovina, skořice, kokosový olej.
Tetradekanová	14	Myristová	Muškát, kokos, myrta, palmová třešť.
Hexadekanová	16	Palmitová	Běžně ve všech živočišných i rostlinných tucích.
Oktadekanová	18	Stearová	
Eikosanová	20	Arachová	Podzemnicový olej.
Dokosanová	22	Behenová	Semena.
Tetrakosanová	24	Lignocerová	Cerebrosidy, podzemnicový olej.
Hexakosanová	26	Cerotová	Vosky
Oktakosanová	28	Montanová	
Triakontanová	30	Melissová	
Dotriakontanová	32	Lakcerová	

PŘÍLOHA P III: ZÁKLADNÍ MONOENOVÉ FA VYSKYTUJÍCÍ SE V LIPIDECH. [44]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojně vazby	Izomer	Triviální název
Decenová	10	4	<i>cis</i>	Obtusilová
Decenová	10	9	<i>cis</i>	Kaprolejová
Dodecenová	12	3	<i>cis</i>	Linderová
Dodecenová	12	9	<i>cis</i>	Laurolejová
Tetradecenová	14	4	<i>cis</i>	Tsuzuová
Tetradecenová	14	9	<i>cis</i>	Myristolejová
Hexadecenová	16	9	<i>cis</i>	Palmitolejová
Hexadecenová	16	9	<i>trans</i>	Palmitelaidová
Oktadecenová	18	6	<i>cis</i>	Petroselová
Oktadecenová	18	6	<i>trans</i>	Petroselaidová
Oktadecenová	18	9	<i>cis</i>	Olejová
Oktadecenová	18	9	<i>trans</i>	Elaidová
Oktadecenová	18	11	<i>trans</i>	Vakcenová
Eikosenová	20	9	<i>cis</i>	Gadolejová
Eikosenová	20	11	<i>cis</i>	Gondová
Dokosenová	22	11	<i>cis</i>	Cetolejová
Dokosenová	22	13	<i>cis</i>	Eruková
Dokosenová	22	13	<i>trans</i>	Brassidová
Tetrakosenová	24	15	<i>cis</i>	Nervová
Hexakosenová	26	17	<i>cis</i>	Ximenová
Triakontenová	30	21	<i>cis</i>	Limekvová

PŘÍLOHA P IV: ZÁKLADNÍ POLYENOVÉ FA VYSKYTUJÍCÍ SE V LIPIDECH. [44, 50]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojných vazeb	Konfigurace dvojných vazby	Triviální název
Dienové				
Hexadekadienová	16	9,12	all- <i>cis</i>	
Oktadekadienová	18	9,12	all- <i>cis</i>	Linolová
Oktadekadienová	18	12,15	all- <i>cis</i>	
Oktadekadienová	18	9,12	all- <i>trans</i>	Linolelaidová
Eikosadienová	20	11,14	all- <i>cis</i>	
Dokosadienová	22	13,16	all- <i>cis</i>	
Trienové				
Hexadekatrienová	16	6,10,14	all- <i>cis</i>	Hiragonová
Oktadekatrienová	18	9,12,15	all- <i>cis</i>	α -linolenová
Oktadekatrienová	18	6,9,12	all- <i>cis</i>	γ -linolenová
Oktadekatrienová	18	9,11,13	<i>cis, trans, trans</i>	α -eleostearová
Oktadekatrienová	18	9,11,13	all- <i>trans</i>	β -eleostearová
Oktadekatrienová	18	9,11,13	<i>cis, cis, trans</i>	Puniková
Oktadekatrienová	18	8,10,12	<i>trans, trans, cis</i>	α -kalendová
Oktadekatrienová	18	8,10,12	all- <i>trans</i>	β -kalendová
Eikosatrienová	20	5,8,11	all- <i>cis</i>	Meadsonova
Eikosatrienová	20	8,11,14	all- <i>cis</i>	Dimoho- γ -linolenová
Tetraenové				
Oktadekatetraenová	18	6,9,12,15	all- <i>cis</i>	Stearidonová
Oktadekatetraenová	18	9,11,13,15	<i>cis, trans, trans, cis</i>	α -parinarová
Oktadekatetraenová	18	9,11,13,15	all- <i>trans</i>	β -parinarová
Eikosatetraenová	20	5,8,11,14	all- <i>cis</i>	Arachidonová
Eikosatetraenová	20	8,11,14,17	all- <i>cis</i>	
Dokosatetraenová	22	7,10,13,16	all- <i>cis</i>	Adrenová

Pentaenové

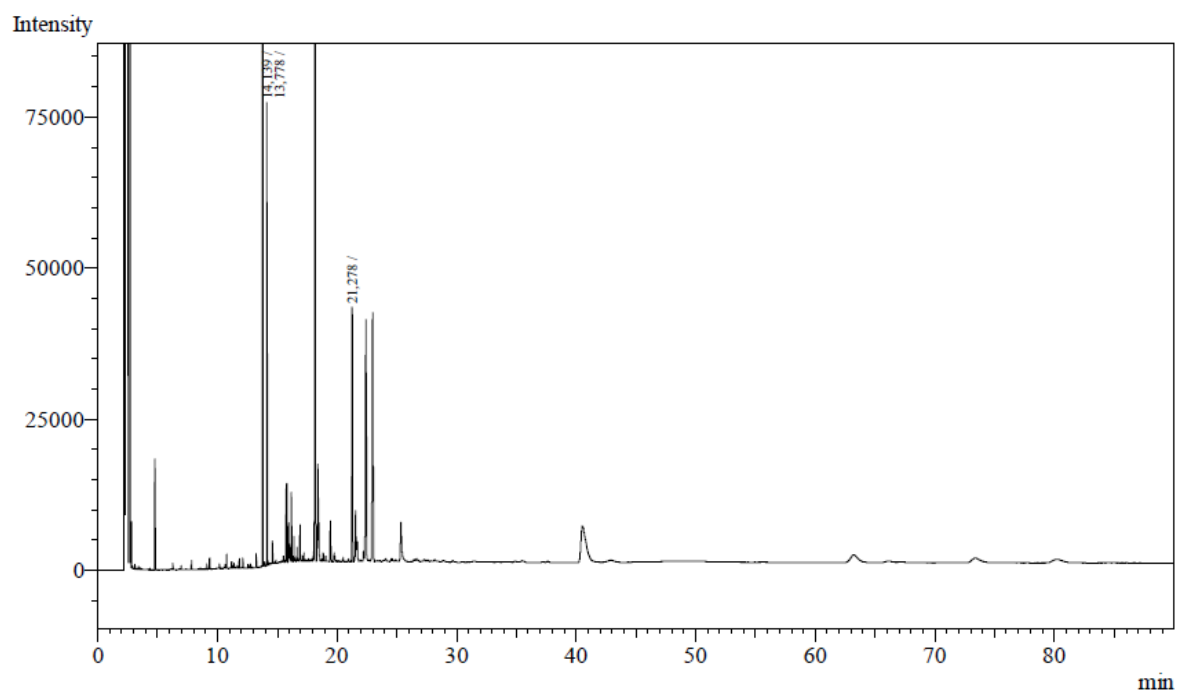
Eikosapentaenová	20	5,8,11,14,17	<i>all-cis</i>	EPA
Eikosapentaenová	20	4,8,12,15,18	<i>all-cis</i>	Timnodonová
Dokosapentaenová	22	4,7,10,13,16	<i>all-cis</i>	
Dokosapentaenová	22	7,10,13,16,19	<i>all-cis</i>	Klupadonová (DPA)

Hexaenové

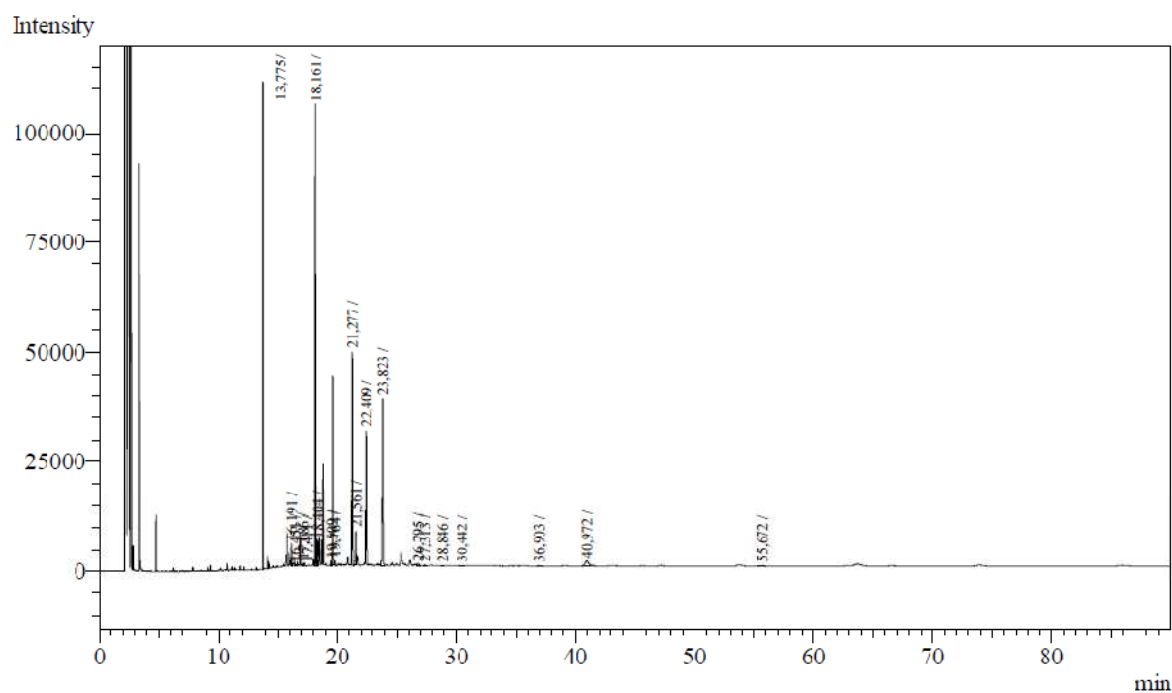
Dokosahexaenová	22	4,7,10,13,16,19	<i>all-cis</i>	Cervonová (DHA)
Tetrakosahexaenová	24	4,8,12,15,18,21	<i>all-cis</i>	Nisinová

**PŘÍLOHA P V: CHROMATOGRAMY VYBRANÝCH DRUHŮ
SLADKOVODNÍCH A MOŘSKÝCH ŘAS PO EXTRAKCI
V HEXANU.**

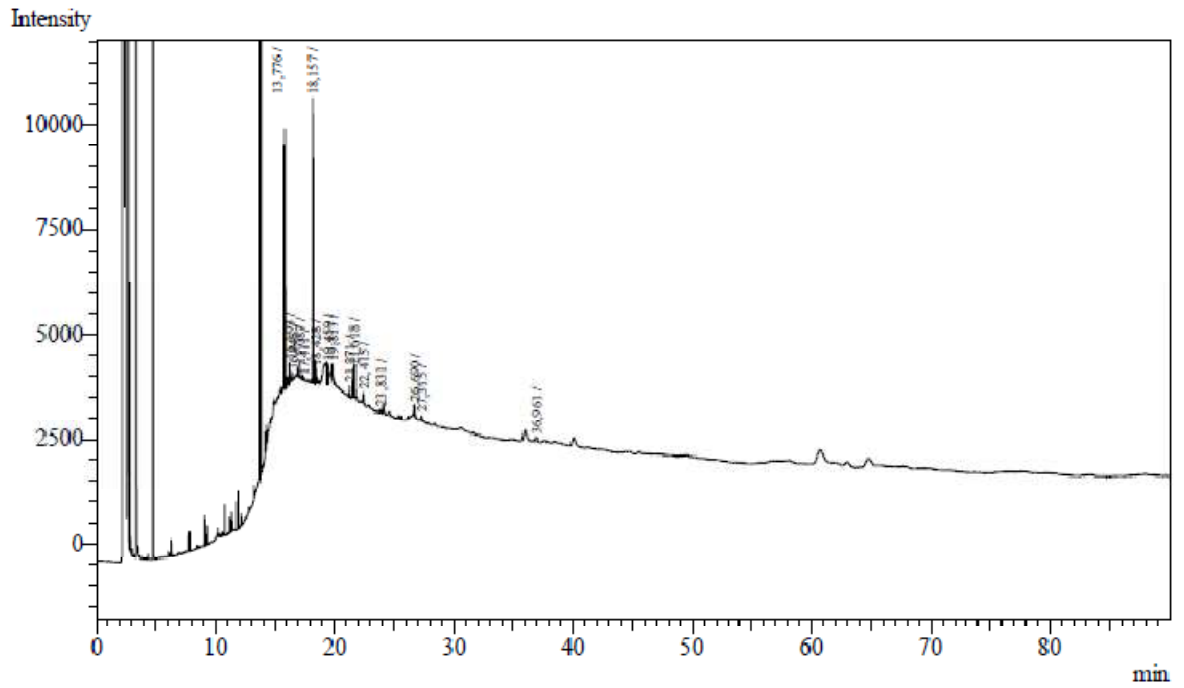
Spirulina platensis (SB)



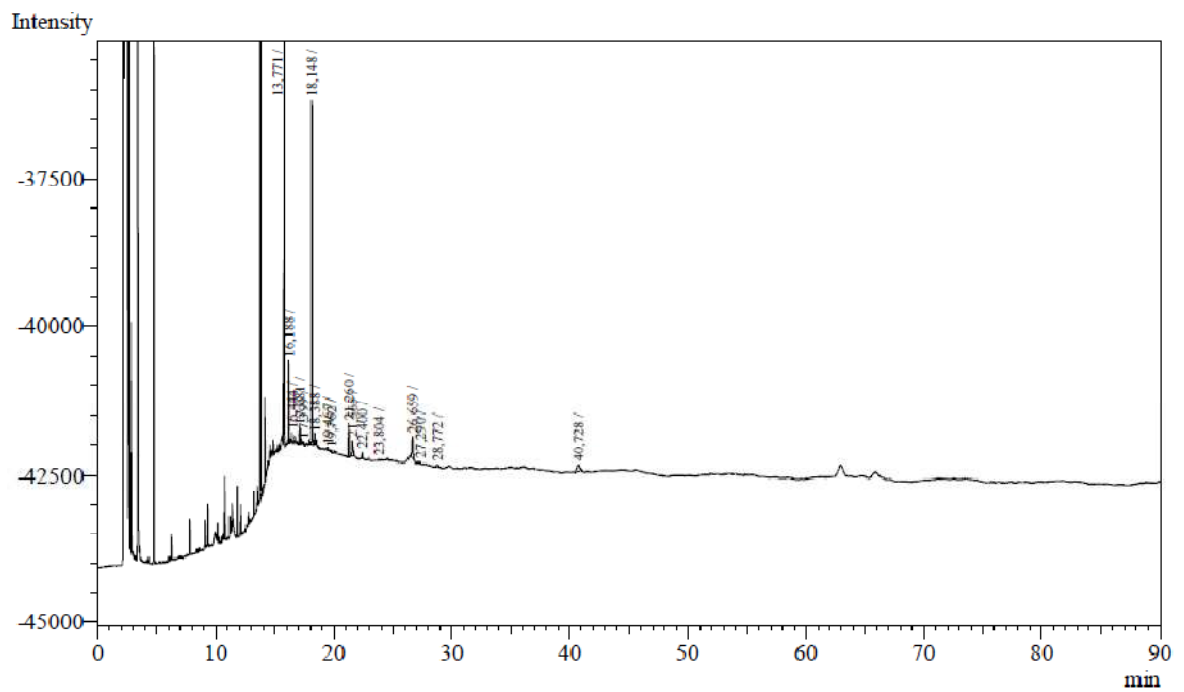
Chlorella pyrenoidosa (C)



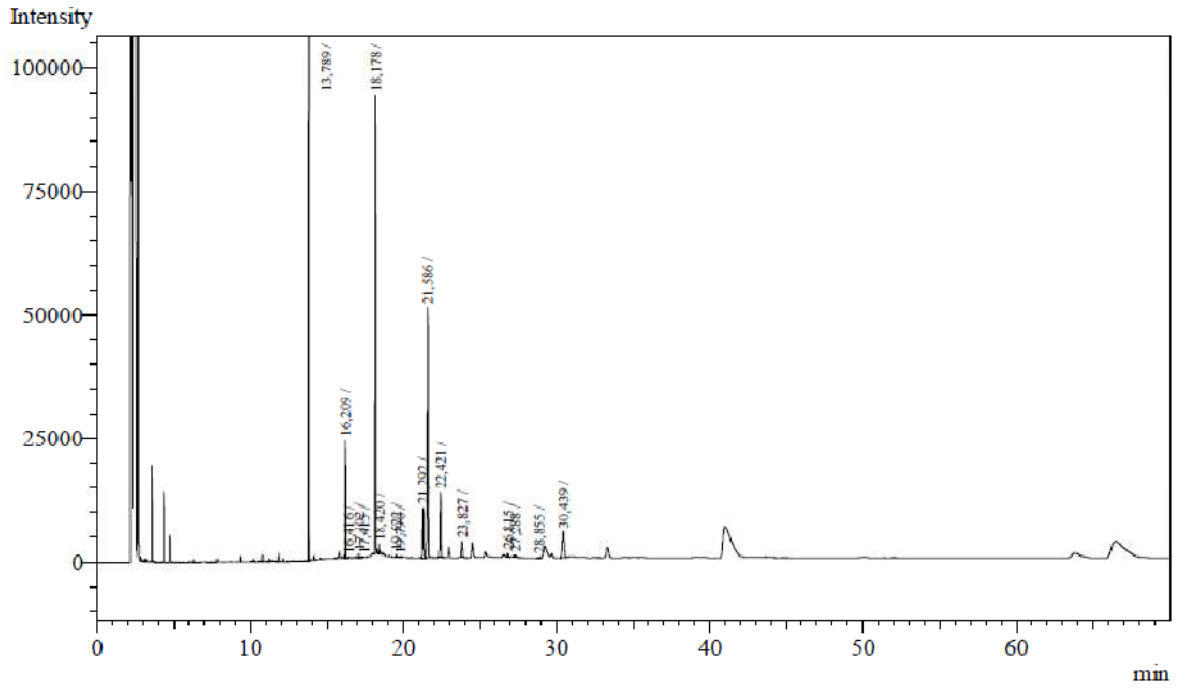
Porphyra tenera (NV)



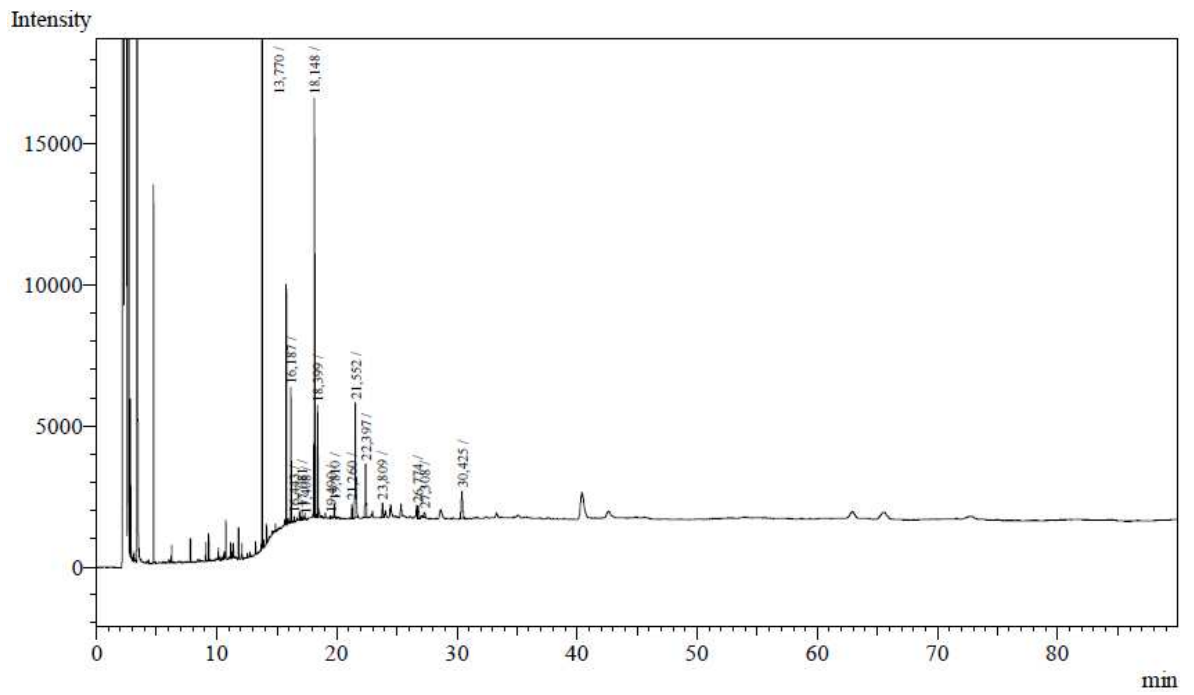
Palmaria palmata (D)



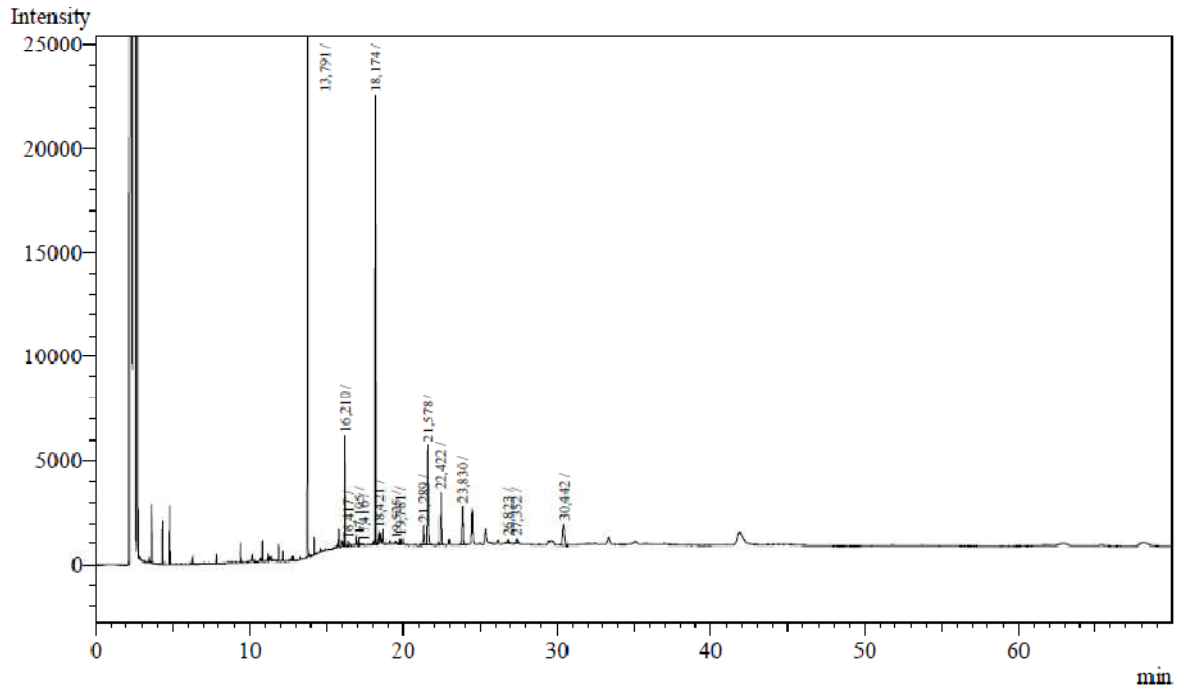
Laminaria japonica (K)



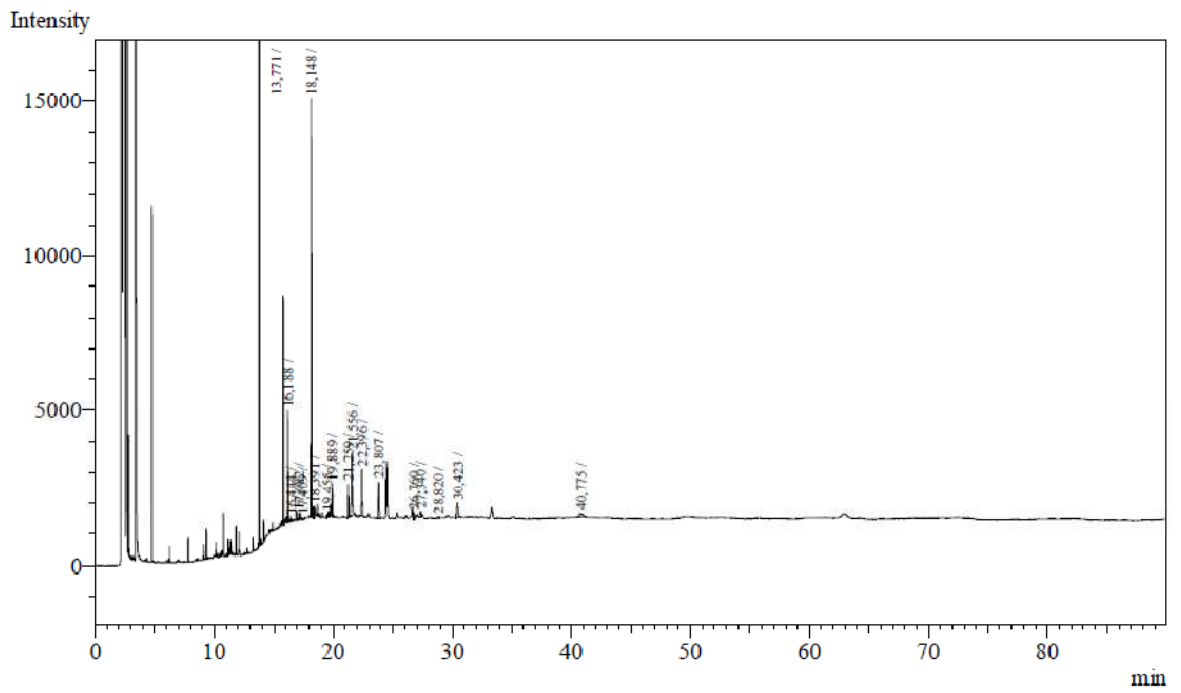
Eisenia bicyclis (A)



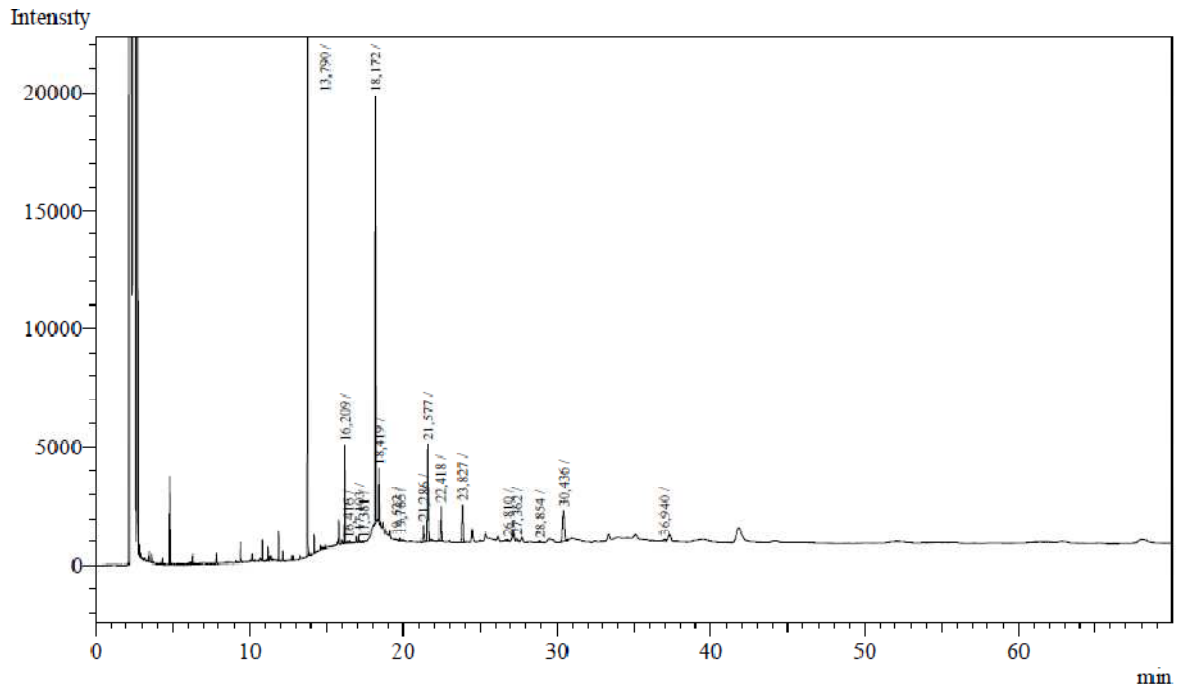
Undaria pinnatifida (W)



Undaria pinnatifida (WI)

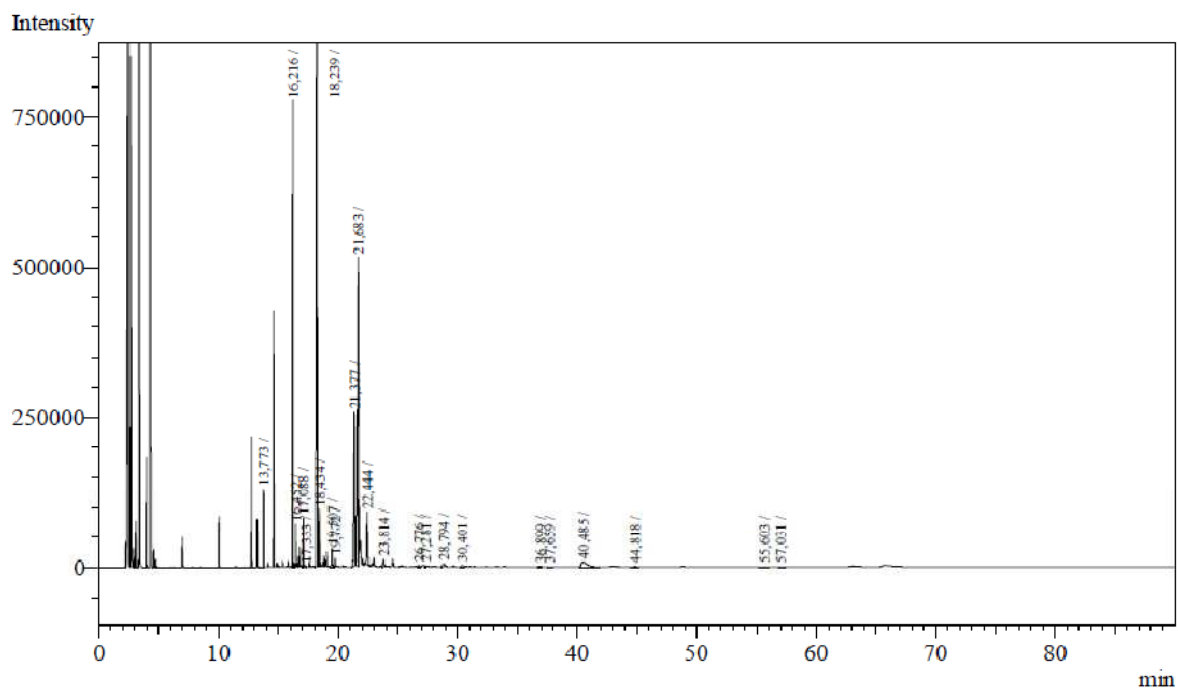


Hizikia fusiformis (H)

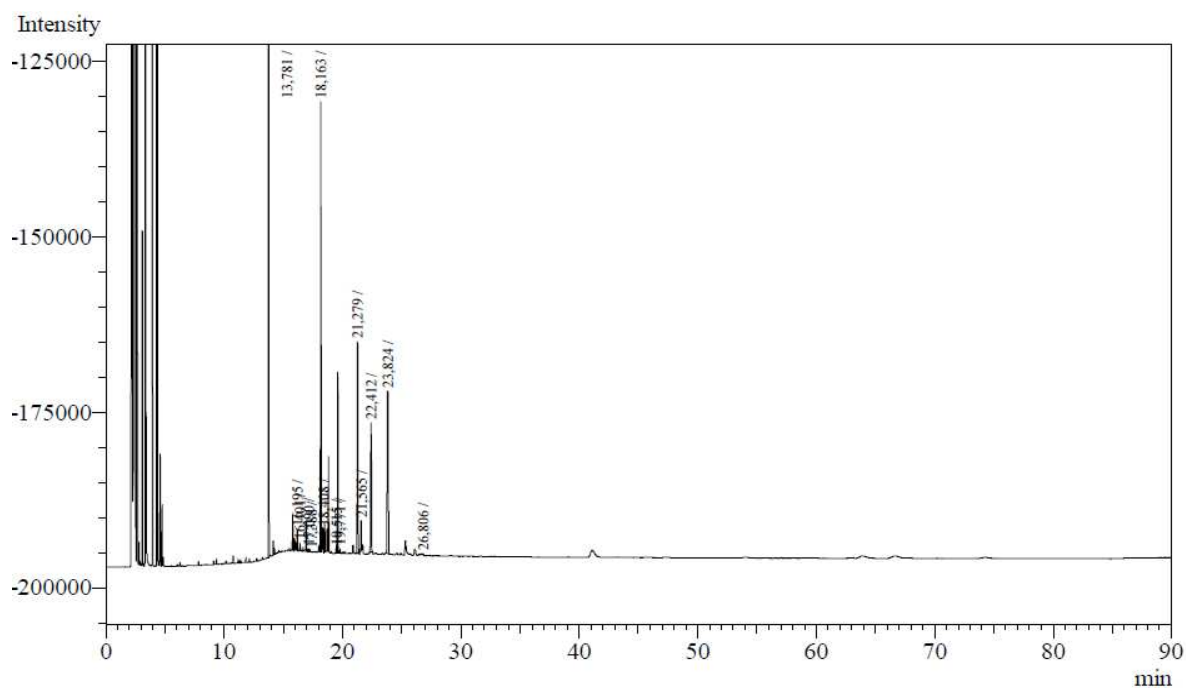


**PŘÍLOHA P VI: CHROMATOGRAMY VYBRANÝCH DRUHŮ
SLADKOVODNÍCH A MOŘSKÝCH ŘAS PO EXTRAKCI
V ROZPOUŠTĚDLOVÉ SMĚSI METANOL, CHLOROFORM, VODA
V POMĚRU 1 : 2 : 1.**

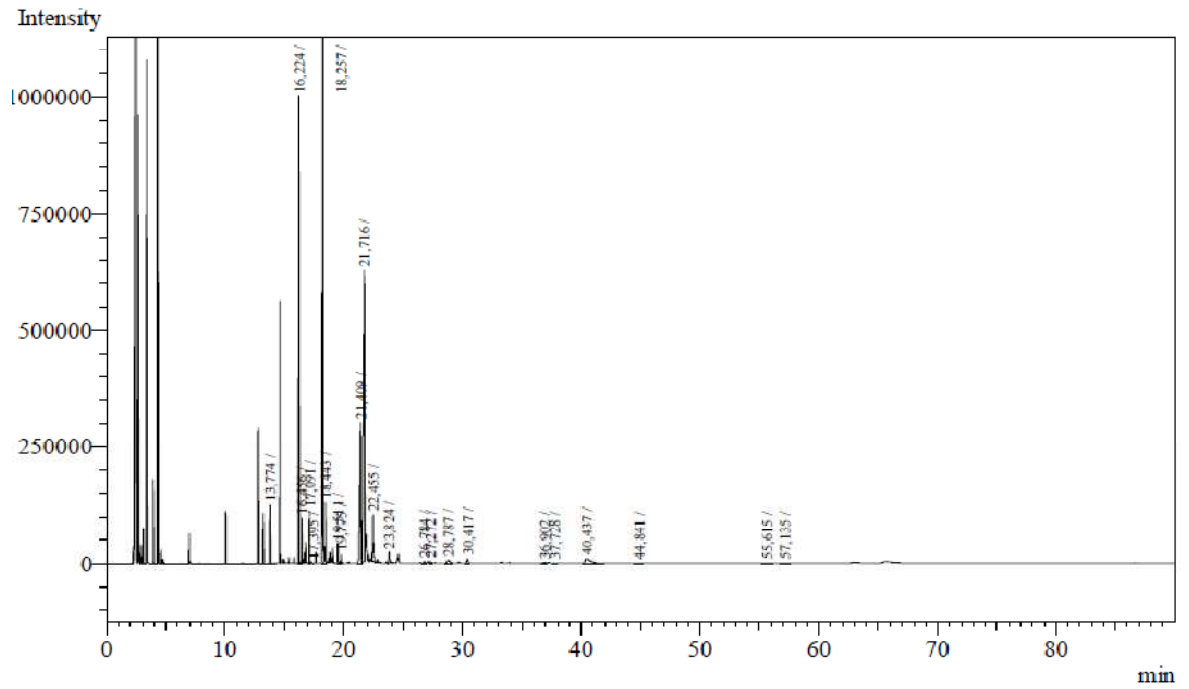
Spirulina platensis (SB)



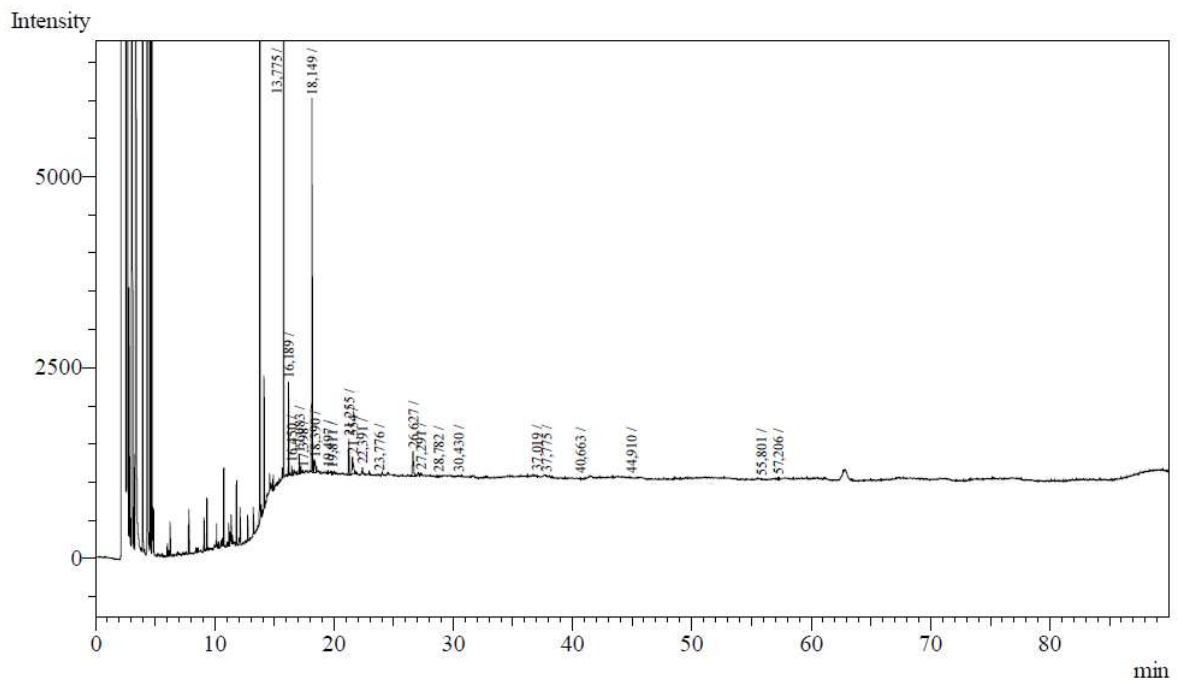
Chlorella pyrenoidosa (C)



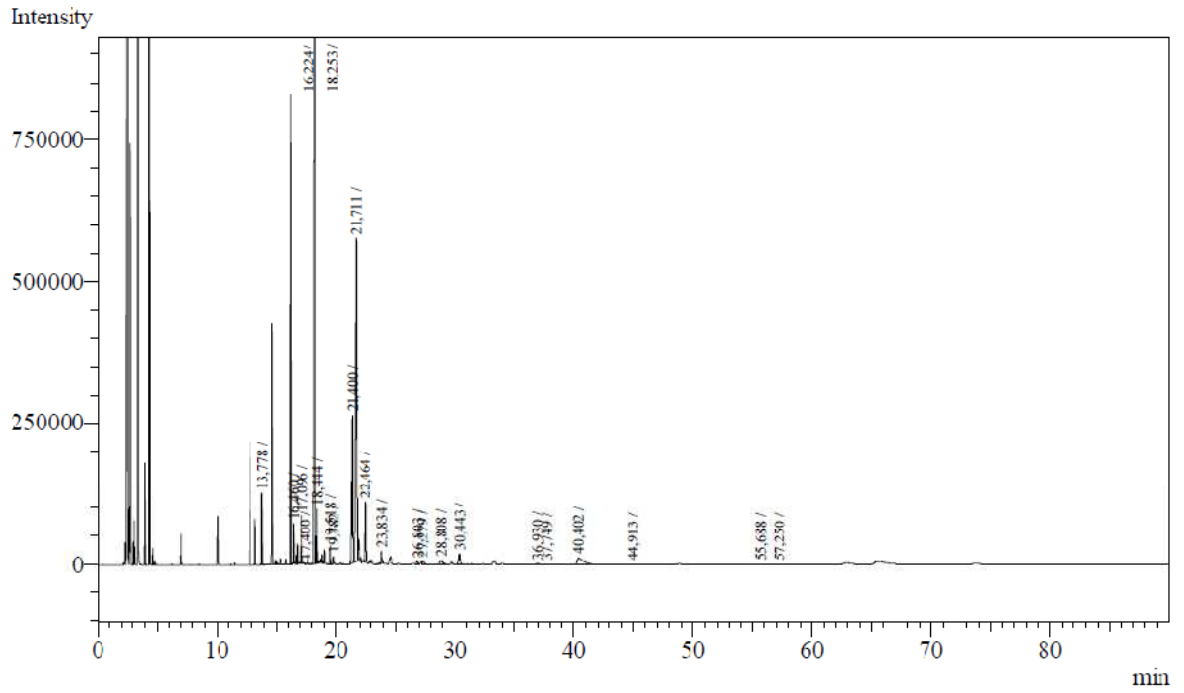
Porphyra tenera (NV)



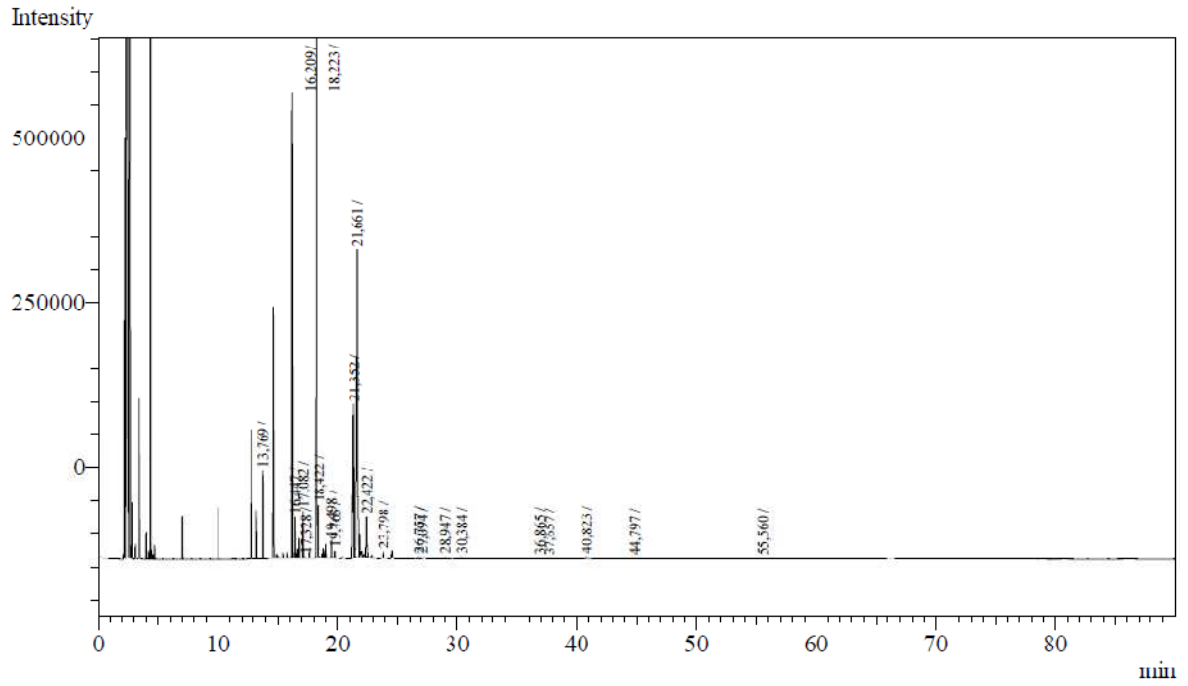
Palmaria palmata (D)



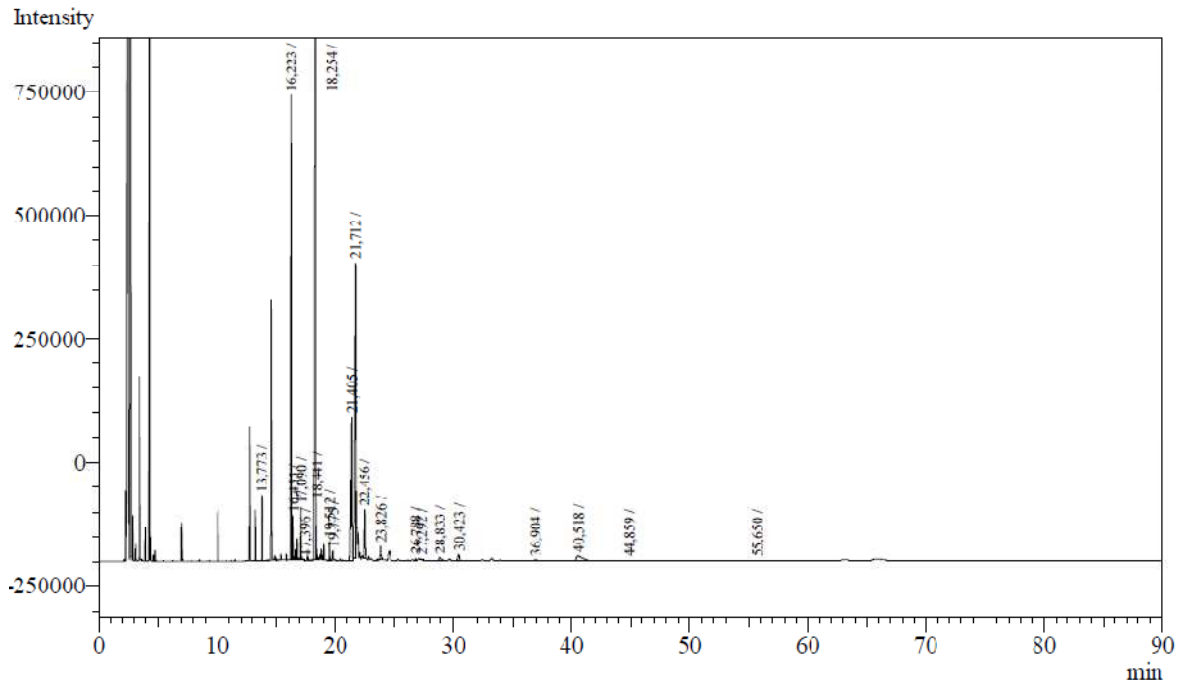
Laminaria japonica (K)



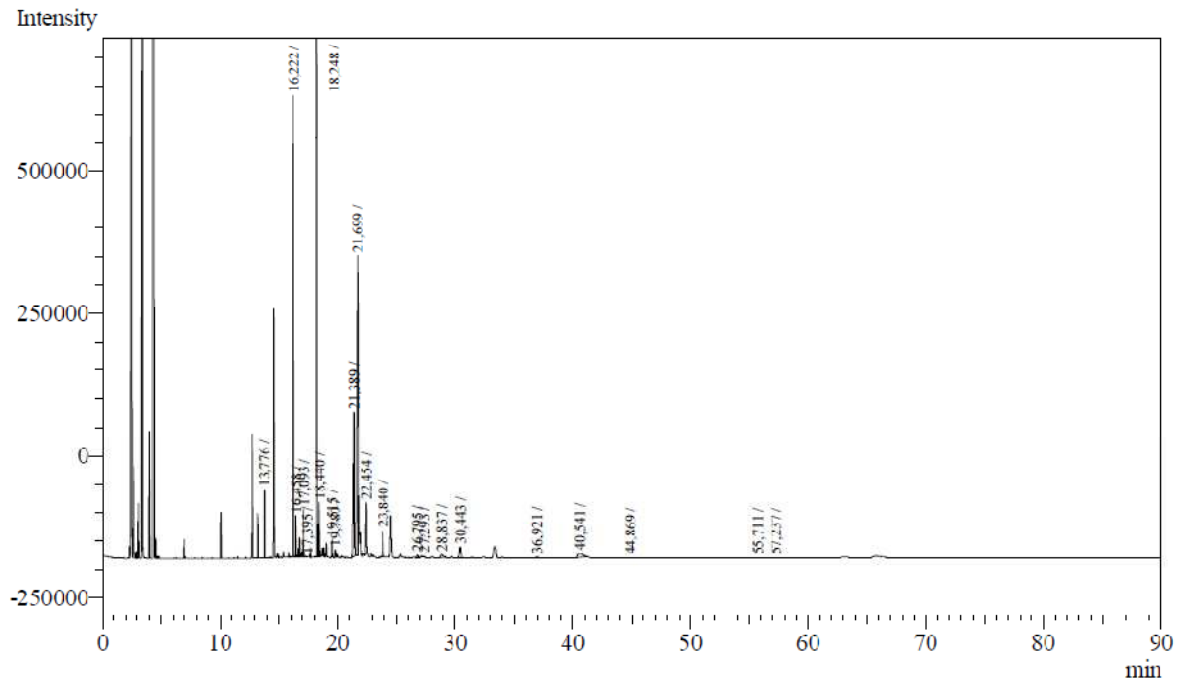
Eisenia bicyclis (A)



Undaria pinnatifida (W)



Undaria pinnatifida (W1)



Hizikia fusiformis (H)

