

**Fyziologické účinky větvených aminokyselin na organismus a
jejich stanovení ve vybraných suplementech**

Physiologic Effects of Branched-chain Amino Acids on Human Body and
Its Determination in Selected Supplements

Bc. Kateřina Sedláčková



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina SEDLÁČKOVÁ**
Osobní číslo: **T09558**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Fyziologické účinky větvených aminokyselin na organismus a jejich stanovení ve vybraných suplementech**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Charakterizace větvených aminokyselin.**
- 2. Fyziologické účinky větvených aminokyselin na lidský organismus.**
- 3. Vybraná metoda stanovení a její popis – AAA.**

II. Praktická část

- 1. Metodika stanovení větvených aminokyselin.**
- 2. Stanovení větvených aminokyselin ve vybraných suplementech sportovní výživy.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] CLARKOVÁ, N. Sportovní výživa. 1. vyd. Praha: Grada Publishing.
- [2] Z.Vodrážka: Biochemie. Academia, Praha 1992.
- [3] Spencer L. Seager, Chemistry for Today 5th ed., 2005 Brooks/ Cole.
- [4] Cynober, Luca. Metabolic and Therapeutic Aspects of Amino Acids in Clinical Nutrition 2nd ed. CRC Press, LLC, 2000 N. W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 33431 2004.
- [5] MANDELOVÁ, L., HRNČIŘÍKOVÁ, I. Základy výživy ve sportu. Brno: Masarykova univerzita, 2007.

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

1. února 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

5. května 2012

Ve Zlíně dne 10. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



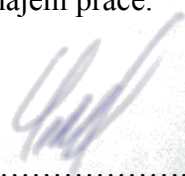

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

P R O H L Á Š E N Í

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 29. 4. 2012



.....

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 vzdělávacího zařízení (školní dílo).

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

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

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

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z 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

Diplomová práce je zaměřená na fyziologické působení větvených aminokyselin (BCAA) na organismus a sledování jejich obsahu v doplňcích stravy a tedy i pravdivost údajů, které výrobci udávají na etiketě. Legislativou je pouze dáno, že výrobek přicházející na trh musí být zdravotně nezávadný, ale jeho účinnost či obsah látek deklarovaných na obale sledován není. Výsledky stanovení jednoznačně potvrdily, že obsah skutečný se nemusí shodovat s deklarovaným obsahem a také bylo zjištěno, že na etiketě jsou neúplné údaje o produktu, nebo dané aminokyseliny nejsou v optimálním poměru.

Klíčová slova: doplňky stravy, fyziologické působení, větvené aminokyseliny, deklarovaný obsah, valin, leucin, isoleucin

ABSTRACT

This graduation these is based on physiologic effects of branched-chain amino acids (BCAA) on human body and observing its volume in supplements, that is declared on the covering. Legislature is declaring health unexception, but is not declaring effects and amount of substances declared on the covering. The results of determination validated ,that the real contain can be different from the declared one and also it has been decided, that the statement on the covering was not complete, or the aminoacids was not in optimal ratio.

Keywords: dietary supplements, psysiologic effect, branched-chain amino acids, declared content, valine, leucine, isoleucine

Poděkování:

Děkuji prof. Ing. Stanislavu Kráčmarovi, DrSc., za odborné vedení, cenné rady, konzultace a připomínky při zpracování mé diplomové práce. Dále děkuji paní laborantce Ing. Ludmile Zálešákové a doc. Ing. Františkovi Buňkovi, PhD., za jejich pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně 29. 4. 2012



.....
Podpis diplomanta

OBSAH

1. ÚVOD	10
I. TEORETICKÁ ČÁST	11
2. AMINOKYSELINY	12
2.1. Charakteristika aminokyselin	12
2.2. Fyzikální a acidobazické vlastnosti aminokyselin	14
2.3. Tvorba bílkovin	14
3. VĚTVENÉ AMINOKYSELINY	17
3.1. Obecná charakteristika a historie	17
3.2. Metabolismus aminokyselin	17
3.3. Metabolismus větvených aminokyselin (leucin, izoleucin, valin).....	19
3.4. Větvené aminokyseliny a tělesná zátěž.....	20
3.5. Vytrvalost a únava ve vztahu k BCAA, regenerace	20
4. VALIN	22
4.1. Základní údaje.....	22
4.2. Vlastnosti a fyziologický účinek.....	22
4.3. Obsah valinu v potravinách	23
5. LEUCIN	23
5.1. Základní údaje.....	23
5.2. Vlastnosti a fyziologický účinek.....	23
5.3. Odbourávání leucinu	24
5.4. Obsah leucinu v potravinách.....	24
6. IZOLEUCIN	25
6.1. Základní údaje	25
6.2. Vlastnosti a metabolismus	25
6.3. Odbourávání izoleucinu	25

6.4. Obsah isoleucinu v potravinách	26
7. BCAA jako součást doplňků stravy a jejich dávkování, legislativa	27
7.1. BCAA v doplňcích stravy a jejich dávkování	27
7.2. Legislativa doplňků stravy	27
8. STANOVENÍ AMINOKYSELIN	29
8.1. Iontově výměnná chromatografie – automatický analyzátor aminokyselin.....	29
II. PRAKTICKÁ ČÁST	30
9. CÍL PRÁCE	31
10. MATERIÁL A METODICKÝ POSTUP.....	32
10.1. Výběr vzorků a jejich charakteristika.....	32
10.2. Analýza aminokyselin	35
10.2.1 Kyselá a oxidativní hydrolýza vzorku.....	35
10.2.2 Kyselá hydrolýza.....	35
10.2.3 Oxidativní hydrolýza.....	36
10.2.4 Stanovení obsahu aminokyselin na AAA.....	38
10.2.5 Statistické vyhodnocení výsledků	39
11. VÝSLEDKY.....	40
12. ZÁVĚR.....	43
POUŽITÁ LITERATURA	44
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	49
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	50
SEZNAM TABULEK	51

1. ÚVOD

Suplementy sportovní výživy představují pro jejich výrobce velký trh. Výrobků sportovní výživy, ze kterých je možné vybírat, je velké množství a každý z těchto výrobců uvádí řadu tvrzení o svých výhodách, tak, aby byla získána důvěra potencionálního zákazníka. Vytvoření účinného výživného a chutného přípravku sportovní výživy však vyžaduje hluboké znalosti potřeb sportovců i fyziologických a metabolických pochodů při příjmu živin v průběhu fyzické zátěže. Dobře zavedené firmy vyrábějí přípravky s přísnou kontrolou vysoké kvality z hlediska jejich složení a zdravotní nezávadnosti. Jakákoli nedbalost těchto firem, by mohla znamenat její konec působnosti na trhu. Proto se ve velké většině případů problémy s deklarovaným množstvím na etiketě, nebo obsahem látek, které mohou způsobit pozitivní antidopingovou zkoušku, týkají většinou hlavně nově vzniklých firem, které se snaží se o rychlý vzestup a zisk.

Vrcholoví sportovci si proto pečlivě vybírají firmy, jejichž produkty se stanou součástí jejich výživy a špičkové firmy zabývající se sportovní výživou často samy sponzorují významné sportovce. Spíše u sportovců amatérů se můžeme setkat s tím, že používají suplementy, které nemusí mít pro jejich výkon v daném sportovním odvětví velký význam.

Právě BCAA patří mezi suplementy, které dle dosavadních výzkumů mají prokazatelný přínos pro sportovce. Nejen však pro sportovce, ale nacházejí uplatnění také v lékařství. Je pouze otázkou, zda výrobci, kteří BCAA dodávají na trh v různých podobách, dodržují obsah deklarovaný na obale. Sama se aktivně věnuji cyklistice, a proto budou výsledky přínosem nejen pro mne, ale i pro řadu sportovců v mém okolí, kteří si tento druh suplementů kupují.

I. TEORETICKÁ ČÁST

2. AMINOKYSELINY

2.1. Charakteristika aminokyselin

Aminokyseliny jsou látky organického původu, které se nejčastěji vyskytují v peptidech nebo jako proteiny. Aminokyseliny ve své molekule mimo jiné obsahují aminovou skupinu $-NH_2$. Právě obsah dusíku činí aminokyseliny nezbytnou živinou pro organismus. Aminokyseliny nejsou jen základní stavební jednotkou bílkovin a peptidů, ale zastávají řadu dalších, biologicky velmi důležitých funkcí. Jsou prekurzory jiných aminokyselin a mnoha dalších látek (např. purinů, pyrimidinů, hormonů, neurotransmiterů, močoviny, aj.), účastní se řady biochemických reakcí jako katalyzátory a jsou také zdrojem energie pro organismus. Větší množství volných aminokyselin lze nalézt v potravinách, kde dochází k proteolýze – například u sýrů. V přírodě existuje asi 700 různých aminokyselin, z nichž 20 označujeme jako aminokyseliny kódované (glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, serin, threonin, cystein, methionin, asparagová kyselina, glutamová kyselina, asparagin, glutamin, lysin, arginin, histidin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan a prolin). Jsou pojmenovány jako kódované aminokyseliny nebo proteinogenní, protože informace o jejich zařazení do bílkovin je uložena v nukleových kyselinách prostřednictvím genetického kódu a pro každou takovou aminokyselinu existuje příslušná tRNA (transferová ribonukleová kyselina), která ji odnáší na ribozom, místo proteosyntézy [4,12,31].

Některé aminokyseliny mohou být v organismu člověka syntetizovány z jiných aminokyselin, z glukosy, případně z mastných kyselin. Určité aminokyseliny však není člověk schopen syntetizovat vůbec a musí je získávat výhradně z potravy. Tyto aminokyseliny se nazývají jako aminokyseliny esenciální. Termín esenciální vyjadřuje závislost organismu na některých přijatých aminokyselinách, které nedokáže lidský organismus syntetizovat. Dodatečně byl do seznamu doplněn histidin a arginin, které jsou esenciální jen za určitých podmínek, a to ve fetálním období vývoje dítěte a při spermatogenezi [4,5,9,12].

Esenciální aminokyseliny jsou dále děleny na totálně esenciální (lyzin, threonin) a na aminokyseliny, které je lidské tělo schopno syntetizovat, pokud mu je poskytnut jejich uhlíkový skelet [9].

Nejrozšířenějším způsobem klasifikace 20 kódovaných aminokyselin, kromě dělení podle schopnosti organismu jejich syntézy, je rozdělení podle polaritý jejich postranního řetězce a jeho iontové formy.

Aminokyseliny jsou rozděleny na hydrofobní aminokyseliny s nepolárním postranním řetězcem, hydrofilní aminokyseliny s polárním postranním řetězcem, které se pak podle iontové formy dělí na neutrální, kyselé a bazické [5,11].

Aminokyseliny s nepolárním postranním řetězcem neboli hydrofobní zahrnují všechny aminokyseliny s alifatickým postranním řetězcem (alanin, valin, leucin a izoleucin), stejně jako prolin, metionin a aromatické aminokyseliny tyrozin, fenylalanin a tryptofan [5,11].

Aminokyseliny s polárním řetězcem neboli hydrofilní obsahují R skupiny, které mohou tvořit vodíkové vazby s vodou. Tudíž tyto aminokyseliny jsou obvykle více rozpustné ve vodě než nepolární aminokyseliny. Do skupiny aminokyselin s polárními nenabitými postranními řetězci řadíme serin, threonin, cystein, kyselina asparagová a glutamová, také asparagin a glutamin, dále lyzin, arginin a histidin [5,11].

Hydrofilní aminokyseliny jsou děleny podle iontové formy, ve které se vyskytují v organismu. Mezi neutrální aminokyseliny, jejichž postranní řetězec nemá v neutrálním prostředí elektrický náboj, patří většina hydrofilních aminokyselin. Mezi kyselé aminokyseliny patří kyselina glutamová a asparagová, které mají v postranním řetězci karboxylovou skupinu, jejich amidy, glutamin a asparagin, jsou však neutrální. Mezi zásadité aminokyseliny pak patří histidin, arginin a lysin [5,11].

Základní aminokyseliny se většinou označují třípísmennými symboly a triviálními názvy. Tyto názvy jsou většinou odvozeny z názvu zdroje, z něhož byly poprvé izolovány. Například asparagin má název odvozený od chřestu (lat. *asparagus*). Pro zápis dlouhých sekvencí se používají jednopísmenné symboly. Příklady označení jsou demonstrovány pro větvené aminokyseliny: L-valin (Val, V), L-leucin (Leu, L) a L-isoleucin (Ile, I) [1,4].

Podle charakteru řetězce a struktury můžeme aminokyseliny klasifikovat na alifatické (glycin, valin, leucin, izoleucin, kyselina asparagová, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, lysin, arginin, serin, threonin, cystein a methionin), aromatické (fenylalanin, tyrosin) a heterocyklické (tryptofan, histidin, prolin) [4].

Každá z dvaceti aminokyselin má svoji vlastní metabolickou cestu a podle způsobu vstupu do citrátového cyklu (tedy podle možnosti zapojení do metabolismu sacharidů a lipidů) můžeme tyto aminokyseliny rozdělit do tří skupin:

- **glukogenní aminokyseliny**: po jejich štěpení z nich vznikají meziprodukty biosyntézy sacharidů (pyruvát, oxalacetát) nebo intermediáty citrátového cyklu. Řadíme zde **valin**, threonin a metionin a dále všechny neesenciální aminokyseliny kromě tyrosinu.
- **ketogenní aminokyseliny**: odbourávají se na meziprodukty, ze kterých se tvoří lipidy (acetyl-CoA, acetoacetyl-CoA). Řadíme zde **leucin**, lysin a tryptofan.

- **glukogenní a ketogenní**: štěpí se obvykle na dva fragmenty, z nich jeden přejde na acetyl-CoA (popř. acetoacetyl-CoA) a druhý na fumarát nebo jantaran. Do této skupiny náleží fenylalanin, **izoleucin** a tyrosin [8].

Z biologického hlediska je potřebných všech 20 základních aminokyselin, které tvoří primární strukturu proteinů v organismu [49].

V proteinech se vyskytují pouze L- α -aminokyseliny, u kterých jsou karboxylové skupina i aminoskupina vázány ke stejnému atomu uhlíku a všechny mají stejnou konfiguraci jako L-glyceraldehyd, a proto je označujeme jako L- α -aminokyseliny. Předpokládá se, že L-forma aminokyselin byla velice brzy během evoluce vybrána nějakou nahodilou situací [28].

2. 2. Fyzikální a acidobazické vlastnosti aminokyselin

Pro formování konformace jsou velmi důležité fyzikální vlastnosti postranních řetězců aminokyselin a chemická povaha v tomto případě není rozhodující. Z těchto vlastností se nejvíce uplatňují polarita, acidobazický charakter a velikost molekuly [4].

Asi polovina všech základních aminokyselin má zcela nepolární (hydrofobní) charakter a jsou to: alanin, **valin**, **leucin**, **izoleucin**, prolin, fenylalanin, tryptofan a metionin. Aminokyseliny, které mají v postranním řetězci elektrický náboj, se podílejí na elektrostatických interakcích a jsou to: histidin, lysin, arginin a kyseliny glutamová a asparagová [4].

Důležitou vlastností aminokyselin je jejich bipolární charakter molekuly. V závislosti na pH prostředí se mohou chovat jako kyseliny nebo zásady, a proto je řadíme mezi amfoterní látky neboli amfolyty. Pokud je výsledný náboj nulový, je amfolyt ve formě amfiotu a nepohybuje se tudíž v elektrickém poli. Hodnotu pH, ve kterém dostaneme amfiont, se nazývá **isoelektrický bod pI** a v tomto bodě mají aminokyseliny nejmenší rozpustnost [4].

2. 3. Tvorba bílkovin

Tvorba peptidové vazby je nejdůležitější reakcí aminokyselin. Vazba vzniká mezi α -aminoskupinou jedné aminokyseliny a α -karboxylovou skupinou aminokyseliny druhé za uvolnění jedné molekuly vody. Aby došlo ke vzniku peptidové vazby, musí být nejprve aktivována karboxylová skupina a z chemického hlediska může tato reakce nejprve vyžadovat přeměnu na acylchlorid. Z hlediska biologického zahrnuje aktivace počáteční kondenzaci s ATP (adenosintrifosfát). Pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci a dále v bílkovinách určuje primární strukturu peptidu nebo bílkoviny a tato primární struktura má vliv na biologickou aktivitu [28].

Proteosyntéza se skládá se dvou základních procesů, kterými jsou:

1. Transkripce – syntéza mediátorové RNA (mRNA) podle matrice DNA

2. Translace neboli **překlad** – syntéza proteinu podle matrice RNA.

Translace je konečným procesem proteosyntézy, při kterém dochází k vlastní tvorbě proteinu.

Iniciace (zahájení) a elongace translace

Molekula mRNA vzniklá transkripcí vstupuje z jádra do cytoplazmy, kde se připojuje k ribozomům. Každý ribozom nasedá na 5'-konec řetězce mRNA, jenž odpovídá počátku příslušného genu v DNA. Od tohoto místa pak probíhá syntéza proteinové molekuly podle matrice mRNA. Tento děj je vlastní translací neboli překladem genetické informace z nukleových kyselin do primární struktury proteinu. Jednotlivé aminokyseliny jsou do ribozomu transportovány prostřednictvím transferové RNA neboli **tRNA** (název „transferová“ RNA pochází od slova transfer čili přenos). Vlákna tRNA jsou poměrně krátká – tvoří je pouze 74 – 95 nukleotidů. Komplementární nukleotidy jsou místy navzájem propojeny vodíkovými můstky, takže vlákno vytváří čtyři ramena. Tato sekundární struktura tRNA připomíná **jetelový trojlístek**. Jednotlivá ramena a smyčky molekuly se však navzájem přikládají k sobě a ve skutečnosti vytvářejí daleko složitější prostorový útvar – tzv. terciární strukturu. Při proteosyntéze je uplatněno tzv. **akceptorové rameno** tRNA, které obsahuje 3'-konec polynukleotidového řetězce. Na něj se před vstupem do ribozomu naváže příslušná aminokyselina. Další významnou strukturou je antikodonové rameno s antikodonovou smyčkou. Ta obsahuje trojici nukleotidů označovanou jako **antikodon**. Každý antikodon v tRNA je komplementární k příslušné trojici nukleotidů v mRNA, kterou nazýváme **kodon**. Při proteosyntéze dochází v ribozomu k přechodnému spojení mRNA a tRNA na základě párování antikodonových a kodonových nukleotidů [34].

Proteosyntézy se účastní minimálně 20 různých molekul tRNA, z nichž každá nese jednu z 20 aminokyselin. Každou tRNA označujeme zkratkou aminokyseliny, k jejímuž přenosu je určena – například tRNA^{Val} přenáší valin, tRNA^{Leu} přenáší leucin. Před vstupem do ribozomu se na 3'-konec molekuly tRNA naváže příslušná aminokyselina ve formě aminoacylu. Tato částice vzniká odštěpením skupiny OH z aminokyselinového karboxylu (COOH). Připojení aminokyselin k molekulám tRNA zprostředkují **aminoacyltRNA-syntetázy**. K navázání aminokyseliny na tRNA je zapotřebí chemická energie, kterou získává enzym štěpením adenosintrifosfátu (ATP). Molekula tRNA s navázanou aminokyselinou pak přechází do ribozomu, který je složitý nukleoproteinový útvar a který se skládá z malé a velké podjednotky. Tyto podjednotky se při navázání mRNA k menší podjednotce před zahájením translace spojují. V nitru ribozomu pak dochází ke kontaktu mRNA s tRNA a k následnému

připojení aminokyseliny do peptidového řetězce. Proto má ribozom několik vazebných míst s rozdílnou funkcí a patří k nim zejména:

- a) aminoacylové místo** (A-místo), do něhož vstupuje molekula tRNA s navázanou aminokyselinou. Antikodon tRNA se přitom páruje s kodonem mRNA.
- b) peptidylové místo** (P-místo) obsahující předchozí molekulu tRNA, na niž je navázán již vzniklý peptidový řetězec
- c) peptidyltransferázové místo**, kde dochází k připojení nové aminokyseliny ke stávajícímu peptidovému řetězci [34].

Původní tRNA, k níž byl polypeptidový řetězec navázán a která je nyní „prázdná“, opouští ribozom. Po připojení další aminokyseliny může být opět využita k syntéze bílkoviny. Při translaci se mRNA v ribozomu postupně posouvá podobně jako magnetofonová páska. K jejím kodonům se přiřazují jednotlivé molekuly tRNA s příslušnými aminokyselinami. Znamená to, že sekvence mRNA je „čtena“ po trojicích neboli tripletech nukleotidu. Každý triplet je kodonem, který je komplementární k antikodonu příslušné tRNA. Proto jednotlivé triplety v mRNA určují zařazení konkrétních aminokyselin a jejich sekvence udává pořadí aminokyselin v polypeptidovém řetězci. Tento systém přiřazení dané aminokyseliny k určitému tripletu se nazývá **genetický kód**. Vzniklý polypeptid, resp. protein pak podléhá ještě dalším, tzv. **posttranslačním úpravám**, které probíhají u eukaryot především v endoplazmatickém retikulu a v Golgiho aparátu [34].

3. VĚTVENÉ AMINOKYSELINY

3.1. Obecná charakteristika a historie

Mezi větvené aminokyseliny (BCAA, z angl. branched-chained amino acids) řadíme valin, leucín a izoleucín, které jsou také esenciální, to znamená, že si je lidský organismus nedokáže syntetizovat a musí je přijímat potravou, případně suplementy. BCAA byly v historii zkoumány pro řadu účinků, a to od léčení jater a katabolických poruch po předpokládané zlepšení výkonnosti u sportovců [10].

Prvními „spotřebiteli“ větvených aminokyselin byly nemocnice, potažmo jejich klienti. BCAA se podávaly intravenózně, aby u pacientů stimulovaly proteinovou syntézu. V osmdesátých letech se na BCAA zaměřila pozornost odborníků na sportovní výživu, kteří předpokládali kladný vliv těchto aminokyselin na sportovní výkonnost, speciálně na produkci energie, ochranu svalové hmoty a její následný nárůst. Tyto teze byly v praxi potvrzeny, navíc se u leucínu projevil kladný vliv na produkci růstového hormonu a inzulínu [48].

Větvené aminokyseliny tvoří až 40 % ze všech esenciálních aminokyselin v proteinech lidského těla a 14 % ze všech aminokyselin kosterní svaloviny. Doporučená denní dávka leucínu je 40 mg/kg tělesné hmotnosti, denní dávka pro izoleucín a valín je 10-30 mg/kg tělesné hmotnosti. Tyto hodnoty vychází z doporučení FAO (Food and Agriculture Organization) a NRC (National Research Council). Tato doporučení v průběhu let a studií se postupně zvyšovala až na současných 40 %, tyto studie byly však většinou zaměřeny na běžnou populaci a nezahrnovaly studie denní potřeby při zvýšené pohybové aktivitě a svalové práci [3,6,7].

3.2. Metabolismus aminokyselin

Větvené aminokyseliny se do těla, stejně jako ostatní aminokyseliny, dostávají potravou z bílkovin. Denní metabolický obrat bílkovin je podstatně větší než jejich příjem potravou, činí v průměru 275 g, z toho 75 g proteinů vzniká ve sliznici střešní, 120 g se tvoří z cirkulujících aminokyselin a 80 až 90 g se resyntetizuje ze vstřebaných aminokyselin z proteinů v potravě [49].

Trávení bílkovin začíná v žaludku a je dokončeno ve střevě za účasti společného působení řady proteolytických enzymů, přičemž vznikají stále menší fragmenty proteinové molekuly. Na konec vzniklé tria dipetidy jsou štěpeny příslušnými peptidázami v kartáčovém lemu buněk sliznice tenkého střeva až na jednotlivé aminokyseliny.

Aminokyseliny se vstřebávají z lumen střeva do slizniční buňky tenkého střeva především v kotransportu s Na^+ na apikálním konci střevního epitelu. Bylo prokázáno nejméně šest různých Na^+ -dependentních přenašečů aminokyselin v apikální membráně kartáčového lemu. Tyto přenašeči mají překrývající specifitu pro různé aminokyseliny [49].

Další metabolismus proteinů je metabolismem aminokyselin. Jako základní složka potravy netvoří aminokyseliny v organismu energetickou zásobu. Nadbytečný přívod nemůže organismus skladovat, jako je tomu u sacharidů (např. jaterní a svalový glykogen), nebo tuků (triacylglyceroly v tukové tkáni v adipocytech), a proto jsou metabolizovány až na konečné produkty, kterými je urea a oxid uhličitý. Buňky však musí mít malou, ale nezbytnou pohotovostní zásobu volných aminokyselin, kterou potřebují především pro výstavbu buněčných proteinů. Tato pohotovost představuje asi 120 g aminokyselin (u zdravého dospělého člověka), což činí jedno procento celkového obsahu aminokyselin vázaných v proteinech [49].

Hladina aminokyselin v plazmě je poměrně nízká (v průměru 3,2 mmol/l) což znamená, že metabolický obrat volné aminokyseliny je řádově obdobný jako obrat glukózy nebo mastných kyselin. Hladina aminokyselin v krevní cirkulaci zůstává pozoruhodně stabilní, ačkoliv po jídle obsahujícím proteiny stoupne o 30 až 100 %. Za lačnění nikdy neklesne pod určitou hodnotu, protože se stále doplňuje. Plazmatické proteiny, především albumin, jsou hydrolyzovány intracelulárními proteinázami a jejich aminoskupiny jsou reutilizovány. Tkáně s rychlým metabolickým obratem jako jsou játra, pankreas nebo střevní sliznice mohou uvolnit své proteiny rychle. Kosterní svalstvo uvolňuje proteiny pomaleji, ale vzhledem k tomu, že tvoří 20 procent celkového proteinového rezervoáru, má na uvolňování v době potřeby organismu největší podíl [49].

Aminokyseliny, které se neváží do struktury proteinových molekul, tvoří aminokyselinovou hotovost neboli *aminokyselinový pool*. Jeho množství v různých tkáních je různé a tato variabilita se týká i jednotlivých aminokyselin. Aminokyselinový pool představuje nejaktivnější část tělních proteinů a aminokyselinové obsahu. Tento pool je tvořen volnými aminokyselinami v krevní plazmě a v intracelulárním a extracelulárním prostoru. Je možno s určitou mírou zjednodušení rozdělit aminokyseliny z tohoto hlediska do tří skupin:

- aspartát, glutamát, glutamin a taurin, jejichž koncentrace v cytoplazmě buněk je 10krát až 15krát vyšší než v plazmě,
- aminokyseliny, jejichž koncentrace intracelulární se blíží koncentraci v krevní cirkulaci,

- aminokyseliny s větveným řetězcem (leucin, izoleucin, valin), jejichž koncentrace v buňkách je nižší než v plasmě, a dále methionin a tryptofan [9,27,49].

V období, ve kterém převažují anabolické reakce, je aminokyselinový pool doplňován hlavně aminokyselinami uvolněnými při štěpení potravy. Zvýšené množství stravy na proteiny má pozitivní účinek na aminokyselinový pool a má pozitivní účinek na proteinový metabolismus. V období, ve kterém převažují katabolické děje je aminokyselinový pool zásoben z endogenních zdrojů a to především z kosterního svalstva [9,27].

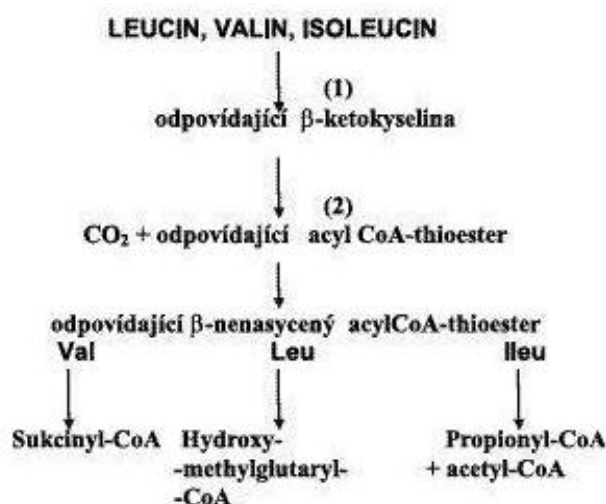
3.3. Metabolismus větvených aminokyselin (leucin, izoleucin, valin)

Tyto větvené aminokyseliny mají významný přímý i nepřímý vztah s různými důležitými biochemickými funkcemi v mozkové tkáni. Tyto funkce jsou například proteosyntéza, produkce energie, syntéza neurotransmiterů serotoninu (5-HT), dopaminu (DA) a norefedrinu (NE), které jsou získávány z aromatických aminokyselin, tryptofanu a tyrosinu. Vychytávání valinu mozkiem převyšuje všechny ostatní aminokyseliny. Oxidace leucinu, izoleucinu a valinu je v mozku čtyřikrát větší než v játrech. Mozek je primárním místem jejich utilizace v postabortivním stadiu. Degradace probíhá v prvním stupni transaminací za katalýzy společného enzymu [29,49].

Z větvených aminokyselin se nejdříve tvoří příslušná β -ketokyselina. Ke katabolismu větvených aminokyselin je zapotřebí mitochondriální dehydrogenasy a tzv. BCKADH (z anglického branched-chain keto acid dehydrogenase). Ketokyseliny mohou být poté použity ve svalech na dodání ATP do Krebsova cyklu, nebo mohou být transportovány do jater, kde jsou následně oxidovány. Působením BCKADAH vznikají větvené oxokyseliny, které mohou být v játrech použity jako zdroj energie. Ketokyseliny tomuto využití jako zdroje energie brání a proto se na trhu již objevují suplementy, které nabízejí keto-varianty BCAA [7,34].

BCAA mají specifickou roli pro svalovou práci a stimulaci svalové tkáně, regeneraci a proto mohou být suplementovány před i po zátěži pro zvášení svalové síly, urychlení regenerace a zamezení poškození svalové tkáně tělesnou zátěží [13,14].

Schéma metabolismu větvených aminokyselin je znázorněno na Obrázku 1.



Obrázek 1. Schéma metabolismu větvených aminokyselin [49]

3.4. Větvené aminokyseliny a tělesná zátěž

Svalová tkáň využívá jako zdroj energie šest aminokyselin, jsou to alanin-aspartát, glutamát a větvené aminokyseliny leucin, izoleucin a valin, které mají největší potenciál energie, kterou svaly využívají. Svalová tkáň má 60 % specifických enzymů potřebných pro oxidaci aminokyselin za získávání energie, hlavně z větvených aminokyselin, k čemuž je uzpůsobena i stavba kosterní svaloviny. Pokud se zvyšuje doba a náročnosti svalové práce, dochází úměrně i ke zvýšení využití větvených aminokyselin. Dle doby a intenzity zatížení organismus potřebuje větší či menší množství BCAA. Denní potřeba organismu je přibližně 25krát větší než tzv. aminokyselinový pool, který je tvořen volnými aminokyselinami, které se nachází ve svalech (až 75 %), v krvi a cytoplazmě buněk [15].

Leucin má v kosterní svalovině hlavní podíl na stimulaci proteosyntézy prostřednictvím několika nezávislých systémů. Prvním z nich je zvýšení sekrece inzulínu, který zvyšuje příjem BCAA do buněk a tím stimuluje proteosyntézu.

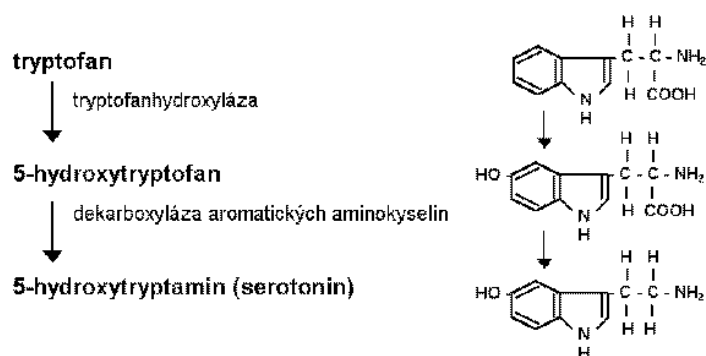
Zatímco většina BCAA je ve svalových buňkách využita na energii, včlenění větvených aminokyselin do svalové tkáně je závislá na látce podobné inzulínu IGF-1 (z anglického insulin like grow factor). Chronický nedostatek BCAA je projevů ve složení moči a krevní plazmě, tento deficit dále vede ke ztrátě svalové hmoty [6,16,19].

3.5. Vytrvalost a únava ve vztahu k BCAA, regenerace

Během dlouhé vytrvalostní zátěže dochází ke katabolismu bílkovin a mobilizované aminokyseliny jsou dostupné k zvýšení poměru oxidace a glukoneogeneze, zatímco proteosyntéza je během zátěže tlumena [21].

Únava nastává při poklesu hladiny ATP, která nastane s poklesem zásob glukózy, která je uvolňována z glykogenu. Po té, co je vyčerpán glykogen, je hladina ATP udržována degradací BCAA a utilizací mastných kyselin. Efekt BCAA jako zdroje energie se pohybuje v rozmezí 3-18 % a nejspíš závisí na trvání a intenzitě zátěže. Hladina leucinu v krevní plazmě kolísá po aerobní, anaerobní a silové zátěži, což je vysvětleno zvýšeným metabolismem BCAA ve svalech. S fyzickou zátěží totiž dochází k aktivaci enzymu BCKADH, která je za normálních okolností inaktivována a která zvyšuje hladinu BCAA v krevní plazmě. Suplementace může tomuto kolísání předejít a koncentrovat tak BCAA do svalů. Svalová tkáň má schopnost oxidovat leucin za vzniku glutaminu nebo alaninu a ty mohou být dále metabolizovány na glukózu. Také izoleucin a valin mohou být zakomponovány do Krebsova cyklu a využity jako zdroj energie, což činí všechny tři větvené amonikyseliny jako možné zdroje energie [6,17,22-25].

Jako přídatný mechanismus pro zlepšení výkonu mají BCAA schopnost předcházet celkové únavě centrálního nervového systému, ke které dochází během zátěže dlouhodobého charakteru. Příčinou únavy je zvýšení hladiny serotoninu (5-HT) a právě tady mohou hrát BCAA aminokyseliny důležitou roli: dostávají se totiž do mozku stejnou cestou jako tryptofan (prekurzor serotoninu) a přitom zároveň inhibují jeho transport procesem kompetitivní inhibice. Několik studií již změnu poměru BCAA a tryptofanu v krevní plazmě ve prospěch větvených aminokyselin potvrdilo, nejvíce při dlouhotrvající zátěži. Serotonin vytváří z aminokyseliny tryptofanu a jedná se o vysoce účinný biogenní amin, který řadíme mezi indolaminové neuromediátory. Biosyntéza serotoninu začíná hydroxylací L-tryptofanu enzymem tryptofanhydroxylázou a dále dle Obrázku 2 [44].



Obrázek 2. Syntéza serotoninu z tryptofanu [44]

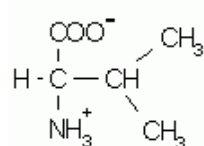
Větvené aminokyseliny jsou také dodnes využívány pro urychlení regenerace. Svalová únava a degradace svalových proteinů jsou při použití suplementů na bázi BCAA redukovány a největší schopnost urychlit regeneraci má podle dosavadních studií leucin. Stejně tak urychlují BCAA obnovu zásob glykogenu a jejich suplementace vede i k poklesu koncentrace látek, jejichž přítomnost v krvi signalizuje poškození svalové tkáně. Jak již bylo řečeno, leucin je klíčový pro činnost enzymů, které se podílejí na proteosyntéze a má anabolické účinky na svalovou tkáň. BCAA jsou spojovány s inzulinem a růstovým faktorem IGF-1, přestože mají zásadní podíl na syntéze svalové tkáně bez inzulinu. Tento fakt může být užitečný lidem, kteří mají problémy s inzulinem [6,17,22-25].

4. VALIN

Valin byl poprvé objeven v roce 1901 německým chemikem Emilem Fischerem z kaseinu. Valin je proteinogenní esenciální glukogenní aminokyselina. Postranní řetězec je silně hydrofobní a prostorově náročný. D-Valin je součástí molekuly antibiotika penicilinu [26,38].

4.1. Základní údaje

Vzorec:



Chemický název: 2 - amino - 3 - methylbutanová kyselina

Molekulový vzorec: $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$

Molekulová hmotnost: 117,15 g/mol

Izoelektrický bod pI 5,96

Valin se liší od aminokyseliny threoninu záměnou hydroxylové skupiny za methylový substituent. Valin je součástí enzymů a fibrilárních proteinů a jeho tendence postranního řetězce k hydrofobním interakcím hrají roli ve struktuře proteinů, do kterých je valin inkorporován [1,2].

4.2. Vlastnosti a fyziologický účinek

Jako jedna z větvených aminokyselin, valin pomáhá v léčbě zahrnující svalové, mentální a emocionální poruchy, ale také nervozitu a nespavost, protože valin s leucinem má vliv na stres, energii a metabolismus ve svalech.

Valin může být také indikován ve stavu podvýživy spojené se závislostí na drogách. Jeho nedostatek se může projevovat negativní bilancí vodíku, nespavostí, přecitlivělostí pokožky, ztrátou koordinace a rovnováhy v průběhu pohybu [41].

4.3. Obsah valinu v potravinách

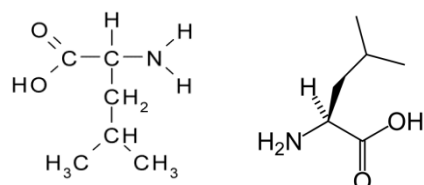
Mezi potraviny bohaté na valin patří sojová mouka, cottage cheese, cereálie, ryby, houby, arašídy a některé druhy zeleniny [41].

5. LEUCIN

Leucin byl poprvé izolován v roce 1819 ze sýra a v roce 1820 ze svalů a vlny. Byl pojmenován z řeckého slova „leukos“ (bílý) a jeho struktura byla sestavena laboratorní syntézou v roce 1891 [39].

5.1. Základní údaje

Vzorec:



Chemický název: 2 - amino - 4 - metylvalerát, α -aminoizokapronát.

Molekulový vzorec: C₆H₁₃NO₂.

Molekulová hmotnost: 131,17 g/mol

Izoelektrický bod pI 5,98

Leucin patří mezi esenciální ketoplastické aminokyseliny. Má podobné vlastnosti jako ostatní aminokyseliny s rozvětveným uhlíkatým řetězcem (izoleucin, valin) a je nepostradatelný pro lidský organismus. Podle chemického charakteru jejího postranního řetězce ji řadíme mezi nepolární, neutrální a alifatické aminokyseliny. Postranní řetězec se uplatňuje v hydrofobních interakcích bílkovin. Leucin obsahuje asymetrický atom uhlíku, existuje proto ve dvou enantiomerních konfiguracích – D a L, v bílkovinách se vyskytují pouze L-formy [1,2].

5.2. Vlastnosti a fyziologický účinek

Leucin je esenciální látka, tzn. nelze ji v organismu syntetizovat, musí se získat potravou nebo štěpením tkáňových bílkovin. Průmyslově je leucin (stejně jako většina aminokyselin) vyráběn biosyntézou užitím mikroorganismů nebo chemickou syntézou nebo kombinací chemické syntézy a různých biotechnologických postupů [1,2].

Leucin se podílí na regulaci hladiny cukru v krvi, na růstu a opravě svalové tkáně, na produkci růstového hormonu a také regulaci energetického metabolismu. Nedostatek inzulínu vede ke snížené utilizaci leucinu, proto lidé s glukózovou intolerancí mají zvýšené nároky na příjem leucinu. Příklad leucinu je prevencí odbourávání vlastních svalových bílkovin, které by u sportovce podstupujícího náročnou tréninkovou nebo závodní mohlo vést ke svalovým mikrotraumatům. Většina aminokyselin obíhající v krvi se přeměňují v játrech, leucin spolu s valinem a izoleucinem tvoří výjimku – procházejí játry nezměněny. Zachycují je především mozek a svaly, v nichž se odbourávají [1,2].

5.3. Odbourávání leucinu

Leucin patří mezi ketoplastické aminokyseliny. Odbourávání leucinu je sled několika reakcí. Leucin je nejprve transaminací přeměněn na 2 - oxoizokapronát, který je oxidační dekarboxylací přeměněn na izovalerylkoenzym A, dále na 3 - metylkrotonylkoenzym A a další odbourávání probíhá podle schématu β -oxidace. Konečnými produkty jsou acetoacetát a acetylkoenzym A (acetylCoA), z nichž jsou syntetizovány mastné kyseliny [1,2].

5.4. Obsah leucinu v potravinách

Mezi potraviny bohaté na leucin patří čočka, sojové boby, dále potraviny živočišného původu jako je hovězí nebo rybí maso [42]. Obsah leucinu v některých potravinách je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 1. Obsah leucinu v potravinách [g/100 g] [42]

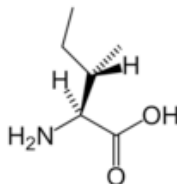
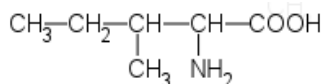
Potravina	Obsah
Sojové boby	2,97
Čočka	2,03
Hovězí maso, průměr	1,76
Salám, vepřové maso	1,63
Ryby, losos	1,62
Korýši, krevety	1,61
Kuřecí maso	1,48
Ořechy, mandle	1,47
Vejce, žloutek	1,40
Vejce celé	1,09
Vejce, bílek	1,02

6. IZOLEUCIN

Isoleucin je esenciální aminokyselina, která byla poprvé izolována z vlákniny roku 1904 [40].

6.1. Základní údaje

Vzorec:



Chemický název: 2-amino-3-metylvalerát

Molekulový vzorec: C₆H₁₃O₂N

Molekulová hmotnost: 131,1 g/mol

Izoelektrický bod pI 5,94

Podle chemického charakteru jeho postranního řetězce isoleucin řadíme mezi nepolární, neutrální a alifatické aminokyseliny. Postranní řetězec se uplatňuje v hydrofobních interakcích bílkovin. Isoleucin obsahuje asymetrický atom uhlíku nejen ve hlavním, ale i postranním řetězci, a proto existuje ve čtyřech možných stereoizomerních formách [1,2].

6.2. Vlastnosti a metabolismus

Isoleucin patří mezi esenciální aminokyseliny, nelze ji tedy v organismu syntetizovat. Podílí se na biosyntéze hemoglobinu. Jeho biosyntéza probíhá vesměs jen u rostlin a mikroorganismů a je společná pro isoleucin a valin – je katalyzována stejnými enzymy. Na 2-oxobutyřát jsou navázány aktivní acetaldehydové skupiny, které pocházejí z α -hydroxyethylthiamindifosfátu vzniklého z pyruvátu. Produktem je 2-oxo-3-metylvalerát, z kterého je přímo syntetizován isoleucin. Průmyslově je isoleucin (stejně jako většina aminokyselin) vyráběn biosyntézou užitím mikroorganismů nebo chemickou syntézou nebo kombinací chemické syntézy a různých biotechnologických postupů. Je používán jako součástí krmiv pro užitková zvířata, ochucovadel potravin, konzervačních a antioxidačních přípravků [1,2].

6.3. Odbourávání isoleucinu

L-Isoleucin je ubikviterní aminokyselina přítomná ve všech tělních tekutinách, patří mezi ketoplastické i glukoplastické aminokyseliny. Odbourávání isoleucinu je sled několika na sebe navazujících reakcí. Isoleucin je nejprve transaminací přeměněn na 2-oxo-3-metylvalerát, který je oxidační dekarboxylací přeměněn na 2-metylbutyrylkoenzym A, dále na 2-metylkrotonylkoenzym A a další odbourávání probíhá podle schématu β -oxidace.

Posledním krokem je štěpení propionylkoenzymu A na sukcinylkoenzym A (sukcinylCoA) a acetylkoenzym A (acetylCoA). SukcinylCoA vstupuje do citrátového cyklu jako konečný produkt odbourávání izoleucinu a z acetylCoA jsou syntetizovány mastné kyseliny [1,2].

6.4. Obsah izoleucinu v potravinách

Mezi potraviny bohaté na izoleucin patří vejce, kuřecí a vepřové maso, sojové boby, mléko, cottage cheese, mandle a cereálie [43]. Obsah izoleucinu v některých potravinách je uveden v Tabulce 2.

Tabulka 2. Obsah izoleucinu v potravinách [g/100 g] [43]

Potravina	Obsah
Vepřové maso	0,96
Hovězí maso, průměr	0,31
Mléko	0,39
Vejce, celá	0,39
Pšenice	0,21
Hrášek	0,27
Sýr parmazán	2,20
Sýr eidam	1,31
Sýr gouda	1,31
Sójová mouka	2,28

7. BCAA jako součást doplňků stravy a jejich dávkování, legislativa

7.1. BCAA v doplňcích stravy a jejich dávkování

BCAA, stejně jako jiné doplňky výživy, lze nakoupit v různých formách. U BCAA jsou to buď kapsle s práškem, nebo tekutá forma. V jejich účinnosti jsou jen minimální rozdíly, možná jen, že tekutá forma se může o něco rychleji vstřebávat.

Dávkování se odvíjí od toho, zda je cílem ochrana svalové hmoty při intenzivních trénincích, kdy se doporučuje brát BCAA před tréninkem. Pro urychlení regenerace je dávkování určeno na dobu po tréninku. Dávka by se měla pohybovat někde v rozmezí 500 až 3000 mg denně, přičemž se L-leucin, L-isoleucin a L-valin podávají v obvyklém poměru 2:1:1, poslední dobou i 4:1:1. Někteří autoři však uvádějí dávky mnohem vyšší, dokonce převyšující dávkování doporučené výrobcem. Pro docílení vyšší efektivity suplementu je doporučován současný příjem vitamínu B₆ (pyridoxin), jenž hraje v metabolismu aminokyselin významnou roli, efekt BCAA je dále podpořen souběžným podáváním karnitinu [45,46].

7.2. Legislativa doplňků stravy

Trh s potravinami, které obsahují koncentrované zdroje živin a jsou nabízeny pro doplnění jejich příjmu z běžné stravy, se silně rozvíjí nejen v ČR (uvádí se v řádu až 20 mld. Kč ročně), ale i v celé Evropě. V České republice jsou tyto výrobky označovány jako doplňky stravy [46].

Definice doplňků stravy jsou uvedeny jednak v zákoně o potravinách, jednak ve směrnici EU. Jde o potraviny určené k přímé spotřebě, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které se odlišují od potravin pro běžnou spotřebu vysokým obsahem vitamínů, mineralních látek nebo jiných látek s nutričním (výživovým) či fyziologickým účinkem. Cílem je doplnění běžné stravy na úroveň příznivě ovlivňující zdravotní stav konzumenta. Na doplňky stravy se vztahují všechny požadavky na značení jako na běžné potraviny. Základní požadavky jsou uvedeny přímo v zákonu a vyhlášce. Na doplňcích stravy je navíc nezbytné uvést:

- a) označení „doplňek stravy“
- b) složení obsahující názvy kategorií živin nebo látek charakterizujících výrobek nebo označení povahy těchto živin či látek,
- c) doporučená denní dávka výrobku, příp. návod k použití,
- d) varování před překročením uvedené doporučené denní dávky,
- e) upozornění, že by doplňky stravy neměly být používány jako náhrada pestré stravy,

f) upozornění, že by výrobky měly být skladovány mimo dosah malých dětí [46].

Doplňky stravy nejsou léčiva a jejich označení či reklama nesmí obsahovat vyjádření o jejich preventivních či léčebných účincích, pokud nebyly prokazatelně zjištěny [47].

Pro účely vyhlášky č. 54/2004 Sb. a v souladu s právem Evropských společenství se potravinami určenými pro zvláštní výživu rozumějí potraviny, které se svým zvláštním složením nebo zvláštním výrobním postupem odlišují od potravin pro běžnou spotřebu, jsou stanovené pro výživové účely uvedené v této vyhlášce a uvádějí se do oběhu s označením účelu použití [47].

- **Potraviny určené pro sportovce a pro osoby při zvýšeném tělesném výkonu [47]:**

§ 28

Pro účely této vyhlášky se potravinami určenými pro sportovce a pro osoby při zvýšeném tělesném výkonu rozumějí:

- a) Potraviny zajišťující vyšší přívod energie, které se svým zvláštním složením, zvláště vyšším obsahem energetických živin, zřetelně odlišují od potravin pro běžnou spotřebu a které obsahují nutriety zvyšující využití energetických zdrojů (např. vitamin B₁, karnitin, chrom)
- b) Potraviny podporující tvorbu svalstva, které svým složením, zvláště vysokým obsahem bílkovin, peptidů, či esenciálních AMK, jsou vhodné pro tento účel, nebo které obsahují látky, které tomuto účelu napomáhají
- c) Ostatní specifické potraviny určené zejména pro výživu sportovců
- d) Nápoje určené pro sportovce, zvláště iontové nápoje, které obsahují látky zvyšující tělesný výkon, nebo nápoje, jejichž účelem je náhrada minerálů, k jejichž úbytku došlo v důsledku zvýšeného tělesného (sportovního) výkonu.

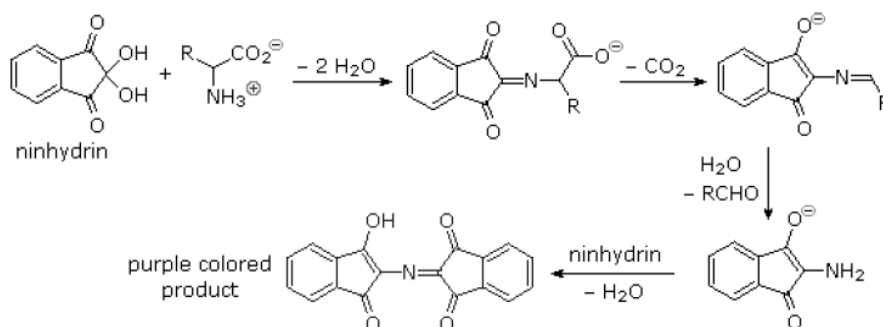
Efekt podávání potravních doplňků spočívá ve zvýšení biologické hodnoty stravy, v podpoře přirozené schopnosti organismu bránit se proti nemocem a ve zvýšení odolnosti proti nadměrné zátěži, z hlediska sportu pak zvýšené tělesné zátěže v důsledku tréninku a závodů. Potravní doplňky významně přispívají k udržení dobrého zdraví, k prevenci přetížení a možného poškození, k rychlé regeneraci a ke kvalitnímu, přitom zdravému neohrožujícímu fyzickému výkonu, protože pouze zdravý a dobře zregenerovaný sportovec může podat maximální výkon a to opakovaně. Je však nutné si uvědomit, že suplementy slouží k doplnění pestré stravy, nikoliv k její náhradě [33]!

8. Stanovení aminokyselin

8.1. Iontově výměnná chromatografie – automatický analyzátor aminokyselin

Analýza aminokyselinových zbytků po hydrolýze polypeptidů využívá automatizovanou iontově-výměnnou chromatografií. Postup, který vypracovali Moor a Stein, probíhá na krátké a dlouhé koloně, které obsahují sodnou formu sulfonované polystyrenové pryskyřice. Krátká kolona je použita pro identifikaci bazických aminokyselin při pH 5,28. Dlouhá kolona je použita pro identifikaci neutrálních a kyselých aminokyselin, které byly nejprve vymyty pufrům o pH 3,25 a poté o pH 4,25. Hodnoty se zobrazí pomocí katodové trubice spojené s počítačem jako integrované plochy jednotlivých vrcholů [28].

Aminokyseliny jsou příslušnými pufrů eluovány z kolony. Směs aminokyselin na chromatogramu je výsledkem kyselé hydrolýzy proteinu. Částečně jsou rozloženy serin (Ser) a threonin (Thr), a proto nemohou být po kyselé hydrolýze kvantifikovány. Jednotlivé aminokyseliny jsou z kolony eluovány v pořadí od polárnějších k nepolárním a dále od negativně nabitých (kyselých) k aminokyselinám s pozitivním nábojem (bazické aminokyseliny). Aminokyseliny eluátu jsou bezbarvé. K jejich zviditelnění, případně stanovení, se využívá reakce s ninhydrinem, která je znázorněna na Obrázku 3. Jejich optická hustota je zaznamenávána při vlnové délce 570 nm a 440 nm (pro prolin a hydroxyprolin). Identifikovat jednotlivé aminokyseliny lze použitím standardů aminokyselin, které se nanesou na kolonu a určí se objem pufru nutný k eluci (eluční objem). Poté porovnáme eluční objemy standardu a směsi [18,28].



Obrázek 3. Reakce ninhydrinu a aminokyselinou [28].

Automatický analyzátor aminokyselin je tedy určen pro stanovení aminokyselin v hydrolyzátech bílkovin, peptidů, pro stanovení volných aminokyselin ve fyziologických roztocích a extraktech a pro stanovení biogenních aminů. Přístroj pracuje na principu středotlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou, ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí [18].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

9. Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo porovnat deklarované množství vybraných aminokyselin s jejich skutečným obsahem u pěti vzorků, vyráběných za účelem doplnění běžné stravy sportovců, od čtyř firem zastoupených Českou republikou, Itálií, USA a Velkou Británií pomocí automatického analyzátoru aminokyselin.

Pro splnění tohoto cíle byly stanoveny následující dílčí cíle:

- Zakoupit v obchodní síti prostřednictvím kamenných a internetových obchodů alespoň 5 doplňků stravy obsahujících zkoumané látky
- Provést analýzu testovaných vzorků na obsah valinu, leucinu a isoleucinu
- Dosažené výsledky porovnat a statisticky vyhodnotit
- Formulovat závěry a doporučení

10. Materiál a metodický postup

10. 1. Výběr vzorků a jejich charakteristika

Pro stanovení obsahu větvených aminokyselin a prověření deklarovaného obsahu bylo vybráno 5 vzorků od 4 výrobců – firmy Nutrend D. S. (Olomouc), Enervit (Itálie), Cybergenix (USA) a Amix (Velká Británie), které byly označeny římskými číslicemi I až V. Ve všech případech se jednalo o formu tablet, které patří k nejvyužívanější formě větvených aminokyselin v suplementech.

Energetická a nutriční charakteristika vzorku I. je uvedena v Tabulce 3.

Tabulka 3. Energetická a nutriční charakteristika vzorku I

		100 g		1 tableta
Energetická hodnota	kJ	1295,3	kJ	9,5
Bílkoviny		73,7		0,6
Sacharidy		0	g	0
Tuky		0		0
L-Leucin		33,2		250
L-Isoleucin	g	16,6		125
L-Valin		16,6	mg	125
L-Alanin		6,6		50
L-Carnosin		1,3		10
L-Carnitin tartrát		9,8		74

Složení: L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin, želatinová tobolka (želatina, barvivo oxid titaničitý), L-Carnitin tartrát, L-Alanin, L-Carnosin.

Energetická a nutriční charakteristika vzorku II. je uvedena v Tabulce 4.

Tabulka 4. Energetická a nutriční charakteristika vzorku II

		100 g		1 tableta
Energetická hodnota	kJ	1567	kJ	20,4
Bílkoviny		49		0,64
Sacharidy		17,9	g	0,23
Tuky	g	11,6		0,15
L-Leucin		38,5		500
L-Isoleucin		19,2	mg	250
L-Valin		19,2		250

Složení: L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin, pomocné látky (celulóza, kyselina stearová, sodná sůl karboxymethylcelulózy, farmaceutický šelak, stearan hořečnatý).

Energetická a nutriční charakteristika vzorku III. je uvedena v Tabulce 5.

Tabulka 5. Energetická a nutriční charakteristika vzorku III

		100 g		1 tableta
Energetická hodnota	kJ	1651	kJ	16,6
Bílkoviny		-		-
Sacharidy		-	g	-
Tuky		0,97		0,01
L-Leucin	g	47,50		476
L-Isoleucin		23,75	mg	238
L-Valin		23,75		238

Složení: L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin, zahušřovadlo hydroxypropylcelulosa, protihrudkující látky dioxid křemičitý a stearát hořčíku, mikrokapsle vitamínu B6 (mono a diglyceridy), vitamin B₁

Energetická a nutriční charakteristika vzorku IV. je uvedena v Tabulce 6.

Tabulka 6. Energetická a nutriční charakteristika vzorku IV

		100 g		1 tableta
Energetická hodnota	kJ	-	kJ	13,5
Bílkoviny		67,5		0,78
Sacharidy	g	1	g	0,03
Tuky		1		0
L-Leucin		-		150
L-Isoleucin		-	mg	150
L-Valin		-		150

Složení: L-Leucin, L-Valin, L-Isoleucin, L-Lysin, AAKG (arginin alfa-ketoglutarát), L-tyrosin, HMB (hydroxymethylbutyrát), fosforečnan vápenatý, mikrokrystalická celulóza, stearát hořečnatý

Energetická a nutriční charakteristika vzorku V. je uvedena v Tabulce 7.

Tabulka 7. Energetická a nutriční charakteristika vzorku V

		100 g		1 tableta
Energetická hodnota	kJ	1636	kJ	-
Bílkoviny		88,2		-
Sacharidy	g	4,1		-
Tuky		1,8		-
L-Leucin		-		250
L-Isoleucin		-	mg	125
L-Valin		-		125

Složení: L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin, želatinová kapsle (želatina, voda, barvivo oxid titaničitý), látky protispékavé: stearát hořečnatý, oxid křemičitý

10. 2. Analýza aminokyselin

10.2.1 Kyselá a oxidativní hydrolýza vzorku

Volné aminokyseliny se ze vzorku musí vyextrahovat použitím kyseliny chlorovodíkové, zatímco u vázaných aminokyselin je nutná jejich hydrolýza, kterou se aminokyseliny uvolní z bílkovinného řetězce. Pro většinu aminokyselin se používá kyselá hydrolýza zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, sirmé aminokyseliny cystein a metionin se nejprve oxidují směsí kyseliny mravenčí a peroxidu vodíku (oxidační směs – směs peroxidu vodíku a kyseliny mravenčí v poměru 1:9) a teprve poté se řetězec bílkoviny hydrolyzuje kyselinou chlorovodíkovou. Hydrolýza byla u všech vzorků provedena jako kyselá a oxidativní hydrolýza.

Použité chemikálie:

destilovaná voda, argon

kyselina chlorovodíková (0,1 mol/l a 6 mol/l)

kyselina mravenčí (85 % w/w)

peroxid vodíku (30 % w/w)

sodnocitrátový pufr pH 2,2 (0,2M)

Použité pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo a pomůcky

analytické váhy A&D GH-200 EC

chladnička GORENJE

termoblok EVATERM, Labicom

olejová lázeň MEMMERT

vakuová odparka HEIDOLPH Laboratora 4010

analyzátor aminokyselin – AAA 400 (Ingos Praha, ČR)

10.2.2 Kyselá hydrolýza

Do hydrolyzační nádoby s kovovým uzávěrem byl navážen vzorek s přesností na 0,0001 g a doplněn 15 ml 6M HCl. Přebytečný vzduch byl vytlačen inertním plynem (Argon) probubláním obsahu vialky po dobu 30 s. Uzavřené hydrolyzační nádoby byly uloženy do termobloku, kde probíhá hydrolýza po dosažení teploty 110 °C 23 hodin.

Pro stanovení přesných obsahů isoleucinu a valinu, které jsou obtížně uvolňovány ze svých peptidických vazeb, je nutné použít hydrolýzu po dobu 70 hodin, u threoninu a serinu podle různých autorů dochází ke ztrátám ve výši 3-16 %, u tyrosinu jsou uváděny ztráty 1-14 % [32].

Po ukončení hydrolýzy a zchládnutí vzorku byl obsah každé hydrolyzační nádoby kvantitativně převeden 0,1M HCl do odpařovací baňky. Filtrát byl odpařen na rotační vakuové odparce (LABOROTA 4010/HB/GB) při 60 °C do sirupovité konzistence. Sirupovitý odparek baňky byl propláchnut destilovanou vodou a obsah byl znovu odpařen. To celé bylo zopakováno ještě jednou. Po druhém odpaření byl sirupovitý odparek propláchnut 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou a znovu byl odpařen. Odparek byl kvantitativně převeden sodno - citrátovým pufrům o pH 2,2 do 50 ml odměrné baňky a doplněn stejným činidlem po rysku. Takto připravené vzorky byly uchovány v lednici pro další zpracování.



Obrázek 4. Mineralizační blok [37]

10.2.3 Oxidativní hydrolýza

Při kyselé hydrolýze dochází k destrukci sirných aminokyselin, zejména za přítomnosti cukrů. Tento problém nestability sirných aminokyselin byl vyřešen Shramem a spol., kteří před vlastní kyselou hydrolýzou oxidovali kyselinou permravněčí cystein a cystin na kyselinu cysteovou, methionin na methionisulfon, které jsou pak v kyselém prostředí již stabilní [32].

K naváženému množství vzorku v Erlenmayrových baňkách bylo přidáno 15 ml oxidační směsi (oxidační směs je nejpve nutné skladovat v lednici), která byla před použitím nechána v pokojové teplotě dvě hodiny. Po opatrném rozmíchání byly vzorky uloženy na 16 hodin do chladničky. Po vytažení z lednice byl k oxidovanému vzorku přidán 1 ml koncentrované HCl, kterým se odstraní nezreagovaný peroxid. Ke vzorku bylo přidáno 80-100 ml 6M kyseliny chlorovodíkové a všechny Erlenmayerovy baňky byly umístěny do olejové lázně pod zpětným chladičem při 110 °C, přičemž oxidativní hydrolyza probíhala 23 hodin. Po skončení hydrolyzy byl obsah Erlenmayerových baněk převeden 0,1M HCl do 250 ml odměrných baněk a doplněn 0,1M HCl po rysku a obsah odměrných baněk byl přes filtrační aparaturu přefiltrován. Z filtrátu byl odebrán alikvotní podíl (25 ml), který byl odpařen na rotační vakuové odparce (LABOROTA 4010/HB/GB) do sirupovité konzistence. Další postup s filtrátem byl shodný jako u kyselé hydrolyzy.



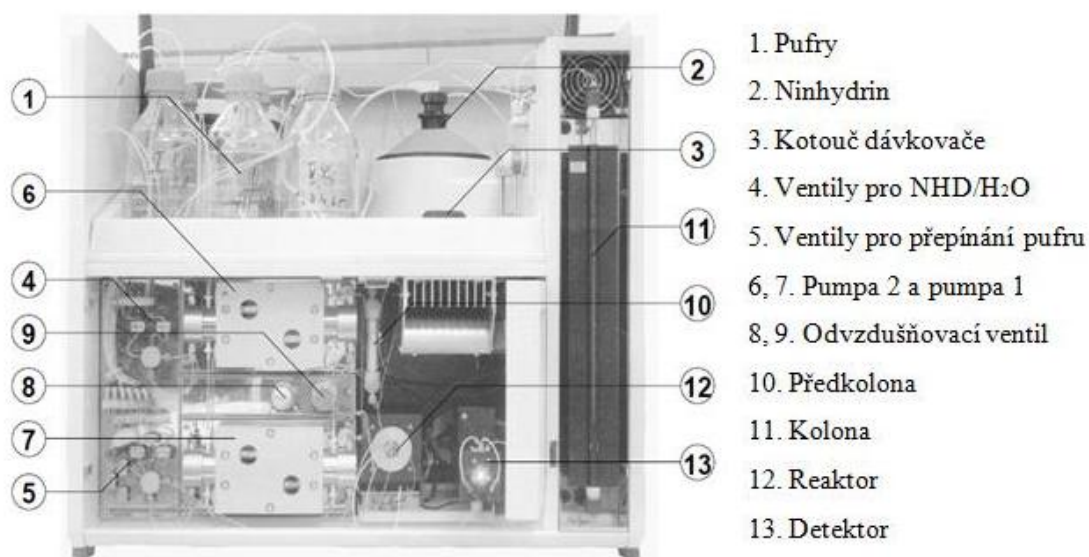
Obrázek 5. Olejová lázeň [37]



Obrázek 6. Rotační vakuová odparka LABOROTA 4010/HB/GB [37]

10.2.4 Stanovení obsahu aminokyselin na AAA

Vzorek byl přefiltrován přes 0,45 μ m filtr do mikrozkušavek Eppendorf a následně byl použit pro analýzu aminokyselin. Aminokyseliny se separují latexovou chromatografií a stanovují se po reakci s ninhydrinem fotometrickou detekcí při 570 nm (440 nm pro prolin). Analýza hydrolyzovaných vzorků byla provedena pomocí analyzátoru aminokyselin AAA 400 od firmy INGOS Praha, který je popsán na Obrázku 7.



Obrázek 7. Automatický analyzátor aminokyselin [36]

10.2.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky byly vyhodnoceny variačně statisticky (ANOVA) dle metod popsaných v práci Snedecor a Cochran [50] a za pomoci programů Office Excel@Microsoft a Unistat v. 5. 1. [51].

11. VÝSLEDKY

Na základě Cílů, Metodického postupu bylo provedeno zhodnocení úplnosti údajů na etiketě v souladu s legislativou a analýza u 5 vybraných vzorků BCAA na automatickém analyzátoru aminokyselin a sledován obsah vybraných aminokyselin: valinu, leucinu a isoleucinu, který byl porovnán s deklarovaným obsahem na etiketě výrobku. Pro anonymitu výrobců byly vzorky označeny čísly, aby v budoucnu nemohlo dojít k případným právním sporům.

Výsledky analýzy vybraných aminokyselin u vzorku I. jsou uvedeny v Tabulce 8.

Tabulka 8. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek I [g/kg]

	mean ± S. D.	CV %	Deklarované množství	Splnění deklarovaného množství %
Valin	186,01 ± 3,375	1,8	192	98,6
Isoleucin	183,61 ± 3,381	1,8	192	97,4
Leucin	241,55 ± 8,456	3,5	385	64,9

U vzorku I bylo zjištěno nižší skutečné množství u všech tří aminokyselin, než výrobce deklaruje na etiketě, nicméně rozdíly u valinu a isoleucinu nejsou výrazné a mohly být způsobeny např. chybou při analýze nebo v přípravě vzorků. U aminokyseliny leucinu je však tento rozdíl deklarovaného a skutečného množství výrazný, a to nejméně o 135,0 g/kg, tedy pouze 64,9 % z deklarovaného obsahu.

Výsledky analýzy vybraných aminokyselin u vzorku II. jsou uvedeny v Tabulce 9.

Tabulka 9. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek II [g/kg]

	mean ± S. D.	CV %	Deklarované množství	Splnění deklarovaného množství %
Valin	134,58 ± 5,155	3,8	166	84,2
Isoleucin	170,86 ± 2,847	1,7	166	104,6
Leucin	344,57 ± 5,551	1,6	332	105,5

U vzorku II byl v porovnání s deklarovaným obsahem prokázán nižší obsah u aminokyseliny valinu, s rozdílem nejméně 26,27 g/kg, ostatní aminokyseliny byly detekovány naopak v množství vyšším.

Výsledky analýzy vybraných aminokyselin u vzorku III. jsou uvedeny v Tabulce 10.

Tabulka 10. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek III [g/kg]

	mean ± S. D.	CV %	Deklarované množství	Splnění deklarovaného množství %
Valin	201,27 ± 4,904	2,4	237,5	86,8
Isoleucin	195,40 ± 5,110	2,6	237,5	84,4
Leucin	407,48 ± 8,184	2,0	475,0	87,5

U vzorku III byl prokázán nižší obsah u všech tří aminokyselin a jejich skutečný obsah nedosahoval hodnot ani 90 % deklarovaného. V případě valinu byl detekován obsah nejméně o 31,33 g/kg nižší, v případě izoleucinu nejméně o 36,99 g/kg a u aminokyseliny leucinu nejméně o 59,34 g/kg nižší obsah.

Výsledky analýzy vybraných aminokyselin u vzorku IV. jsou uvedeny v Tabulce 11.

Tabulka 11. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek IV [g/kg]

	mean ± S. D.	CV %	Deklarované množství	Splnění deklarovaného množství %
Valin	103,58 ± 3,832	3,7	119,31	90,0
Isoleucin	99,88 ± 3,272	3,3	119,31	86,5
Leucin	108,25 ± 4,038	3,7	119,31	94,1

Analýzou vzorku IV byl prokázán nižší obsah všech sledovaných aminokyselin. Aminokyselina valin byla prokázána v množství nejméně o 11,90 g/kg nižším, aminokyselina izoleucin nejméně o 16,16 g/kg nižším a aminokyselina leucin nejméně o 7,02 g/kg nižším v porovnání s deklarovaným obsahem, který výrobce uvádí na etiketě výrobku. Mimo nesplnění deklarovaného obsahu, výrobce uvádí na trh výrobek s nesprávným poměrem větvených aminokyselin, a to 1:1:1 (Leu:Val:Ile), který je v rozporu s optimálním poměrem 2:1:1, případně 4:1:1.

Výsledky analýzy vybraných aminokyselin u vzorku V. jsou uvedeny v Tabulce 12.

Tabulka 12. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek V [g/kg]

	mean ± S. D.	CV %	Deklarované množství	Splnění deklarovaného množství %
Valin	236,85 ± 2,866	1,3	202,23	118,5
Isoleucin	242,34 ± 2,984	1,3	202,23	121,3
Leucin	395,44 ± 8,402	2,3	404,46	99,9

Suma obsažených aminokyselin, včetně želatinového obalu, který svým složením rovněž přispívá aminokyselinami, svými hodnotami převyšuje deklarované množství u aminokyselin valinu a izoleucinu. U aminokyseliny leucinu byl detekován obsah mírně pod hranicí deklarovaného obsahu, a to nejvýše 17,42 g/kg.

Diskuze získaných výsledků nebyla provedena z důvodu absence vědeckých publikací či podobných analýz, který by deklarovaná množství porovnávaly s množstvím skutečným.

12. ZÁVĚR

Na základě cílů, materiálu a metodických postupů a teoretických poznatků jsme dospěli k následujícím závěrům:

- Již v nutričních hodnotách na etiketě u některých výrobců lze vytknout nedostatečné údaje, ve kterých chybí údaje o energetické hodnotě nebo obsahu účinných látek na 100 g – u vzorků IV a V, případně nejsou některé informace vztaženy na jednu tabletu nebo chybí údaje gramáže jedné tablety – u vzorků IV a V nebo chybí celková hmotnost výrobku, a to u vzorku I, II a III.
- U vzorku I bylo zjištěno nižší skutečné množství u všech tří aminokyselin, než výrobce deklaruje na etiketě, nicméně rozdíly u valinu a izoleucinu nejsou výrazné a mohly být způsobeny např. chybou při analýze nebo v přípravě vzorků. U aminokyseliny leucinu je však tento rozdíl deklarovaného a skutečného množství výrazný, a to nejméně o 135,0 g/kg.
- U vzorku II byl v porovnání s deklarovaným obsahem prokázán nižší obsah u aminokyseliny valinu, s rozdílem nejméně 26,27 g/kg, ostatní aminokyseliny byly detekovány naopak v množství vyšším.
- U vzorku III byl prokázán nižší obsah u všech tří aminokyselin a detekované aminokyseliny nedosahovaly hodnot ani 90 % deklarovaného obsahu. V případě valinu byl detekován obsah nejméně o 31,33 g/kg nižší, v případě izoleucinu nejméně o 36,99 g/kg a u aminokyseliny leucinu nejméně o 59,34 g/kg nižší obsah.
- Analýzou vzorku IV byl prokázán nižší obsah všech sledovaných aminokyselin. Aminokyselina valin byla prokázána v množství nejméně o 11,90 g/kg nižším, aminokyselina izoleucin nejméně o 16,16 g/kg nižším a aminokyselina leucin nejméně o 7,02 g/kg nižším v porovnání s deklarovaným obsah, který výrobce deklaruje na etiketě výrobku. Mimo nesplnění deklarovaného obsahu, výrobce uvádí na trh výrobek s nesprávným poměrem větvených aminokyselin, a to 1:1:1 (Leu:Val:Ile), který je v rozporu s optimálním poměrem 2:1:1, případně 4:1:1 uváděným v odborné literatuře.
- Suma obsažených aminokyselin ve vzorku V, včetně žltinového obalu, který svým složením rovněž přispívá aminokyselinami, svými hodnotami převyšuje deklarované množství u aminokyselin valinu a izoleucinu. U aminokyseliny leucinu byl detekován obsah mírně pod hranicí deklarovaného obsahu, a to nejvýše 17,42 g/kg.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. Academia, Praha 1992.
- [2] KARLSON, P., GEROK, W., GROSS, W. *Pathobiochemie*. Academia, Praha 1987.
- [3] SEAGER, S. L. *Chemistry for Today*. 5th ed., Brooks/ Cole 2005.
- [4] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I*. 1. vyd. UTB Zlín, 2005. ISBN 80-7318-259-5.
- [5] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. Osis, Tábor 1999, ISBN 80-902391-3-7.
- [6] CYNOBER, L. *Metabolic and Therapeutic Aspects of Amino Acids in Clinical Nutrition*. 2nd ed., CRC Press, LLC, 2000 N. W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 2004.
- [7] HARGREAVES, M. *Exercise Metabolism*. Human Kinetics Pub Champaign, IL 1995. [knihy on-line]. [cit. 2011-12-01]. Dostupné na www: <http://books.google.cz/books/about/Exercise_metabolism.html?id=q8aVVxGjYnEC&redir_esc=y>
- [8] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie III*. 1. vyd. UTB Zlín 2006. ISBN 80-7318-396 - x.
- [9] HOLEČEK, M. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Praha, Grada, 2006, 288 s. ISBN 10: 80-247-1562-7.
- [10] PLATELL, C., KONG S. E., McCAULEY, R., HALL J. C. J. *Branched chain amino acid*. Gastroenterol Hepatol, 2000 Jul 15(7) [on-line]. [cit. 2011-03-01]. Dostupné na www: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10937674>>
- [11] VOET, D., VOETOVÁ, J. G. *Biochemie*. Victoria publishing, 1995, 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.
- [12] BARRET, G. C., ELMORE, D. T. *Amino acids and peptides*. 2nd. edition. Cambridge University Press, 2004, 224 s. ISBN 0-511-03952-2.
- [13] CHAITOW, D. O., *Amino Acid In Therapy*. Healing Arts Press one Park St. Rochester, 1988.
- [14] ERDMANN, Ph.D. *The Amino Revolution The Breakthrough Program That Will Change The Way Fee*. Fireside Simon & Schuster Building 1230 Avenue of the Americans, New York 1989.
- [15] ZIEGLER, E. E., FILER, L. J. Jr. *Present Knowledge in Nutrition*. 7th ed., International Life Sciences Institute/ ILSI North America Washington D. C. 684 s.

- [16] BRALLEY, A. J., Ph.D., *Laboratory Evaluation in Molecular Medicine: Nutrients, Toxicants, and Cell Regulators*. The Institute for Advances in Molecular Medicine. Norcross, GA 2001.
- [17] MERO, A. *Leucine supplementation and intensit traning*. Sports Med. 1999, Jun 27(6) [on-line]. [cit. 2011-03-01]. Dostupné na www: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10418071>>
- [18] FLEURENCE, J. *Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses*. Trends in Food Science and Technology, 1999, 25-28 s.
- [19] RENNIE M. J., BOHÉ, J., SMITH, K., WACKERHAGE, H., GREENHAFF, P. *Branched-chain amino acids as fuels and anabolic signals in human muscle*. Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, UK, 2006. [on-line]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné na www: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16365095>>
- [20] DOHM, G. L., KASPEREK G. J., TAPSCOTT E. B., BARAKAT, H. A. *Protein metabolism during endurance exercise*. Fed Proc. 1985 Feb; 44(2):348-52. Review. [on-line]. [cit. 2011-03-01]. Dostupné na www: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3881290?ordinalpos=5&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum>
- [21] DOHM, G. L., KASPEREK G. J., TAPSCOTT E. B. *Protein degradation during endurance exercise and recovery*. Med Sci Sports Exerc. 1987 Oct;19 (5 Suppl): S166-71. Department of Biochemistry, School of Medicine, EastCarolina University, Greenville, NC. [on-line]. [cit. 2011-03-05]. Dostupné na www: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3316916?ordinalpos=&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.SmartSearch&log\\$citationsensor](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3316916?ordinalpos=&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.SmartSearch&log$citationsensor)>
- [22] MITTLEMAN, K. D, RICCI, M. R., BAILEY, S. P. *Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women*. Med Sci Sports Exerc. 1998 Jan;30(1):83-91. [on-line]. [cit. 2011-09-04]. Dostupné na www: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9475648>>
- [23] BLOMSTRAND, E. *Amino acids and central fatigue*. 2001;20(1):25-34. [on-line]. [cit. 2011-12-04]. Dostupné na www: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11310928>>

- [24] HALL, G., RAAJMAKERS, J. S., SARIS, W. H., WAGENMAKERS, A. J. *Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise in man: failure to affect performance*. J Physiol. 1995 Aug 1;486 (Pt 3):789-94. [on-line]. [cit. 2012-03-04]. Dostupné na www: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7473239>>
- [25] BLOMSTRAND, E. *Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise*. Acta Physiol Scand. 1997 Jan;159(1): 41-9. [on-line]. [cit. 2012-03-04]. Dostupné na www: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9124069>>
- [26] KODÍČEK, M. *Valin*. From *Biochemické pojmy : výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007. [on-line]. [cit. 2012-03-04]. Dostupné na www: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=valin>
- [27] DI PASQUALE, M. G. *Amino acids and proteins for athlete*. 2nd. edition. Ontario: CRC Press, Taylor and francis group, 2008, 434 s. ISBN 13:978-1-4200-4380-8.
- [28] MURRAY, R. K., GRANNER, D. K., MAYES, P. A., RODWELL, V. W. *Harperova Biochemie*. 2. vydání. Nakladatelství a vydavatelství H&H, Jinočany, 872 s. z anglického originálu Harper's Biochemistry, Appleton&Lange, Connecticut, 1993. ISBN 80-7319-013-3.
- [29] FERNSTROM, J., D., *Branched-chain Amino Acids and Brain Function*. 4th Amino Acid Assesment Workshop, October 2004, Japan. The Journal of Nutrition. [on-line]. [cit. 2011-03-04]. Dostupné na www: <<http://www.sncsalvador.com.br/snc/artigos/branchedchainaminoacidsandbrainfunction.pdf>>
- [30] GLEESON, M. *Interreletionship between psysical Activity and Branched-chain Amino Acids*. 4th Amino Acid Assesment Workshop, October 2004, Japan, the Journal of Nutrition. [on-line]. [cit. 2011-03-04]. Dostupné na www: <<http://www.sncsalvador.com.br/snc/artigos/bcaa/atividade-fisica-e-bcaa.pdf>>
- [31] BRÁZDOVÁ, Z. *Kapitoly o výživě člověka*. Učební text pro pro posluchače pedagogické fakulty MU Brno, 1993.
- [32] *Příprava hydrolyzátu pro stanovení aminokyselin*. [on-line]. [cit. 2010-02-06]. Dostupné na www: <http://hplc1.sweb.cz/Amk/amk.htm#_P%C5%99%C3%ADprava_hydrolyz%C3%A1tu_pro_stanoven%C3%AD>

- [33] FOŘT, P. *Sport a správná výživa*. 1. vyd. Praha: Ikar, 2002. 352 s.
ISBN 80-249-0124-2.
- [34] KOČÁREK, E., *Translace*. Sborník textů. Vybrané aspekty lékařské genetiky. Projekt Metabolické vzdělávací centrum CZ. Ústav biologie a lékařské genetiky FN Motol a 2. LF UK Praha. Praha 2008. [on-line]. [cit. 2010-03-18]. Dostupné na [www: <http://www.udmp.cz/elearning/sborniky_files/genetika.pdf>](http://www.udmp.cz/elearning/sborniky_files/genetika.pdf)
- [35] <http://www.healthvitaminsguide.com/aminoacids/valine.htm>
- [36] Ingos. *Analyzátor aminokyselin AAA* [on-line]. [cit. 2010-03-05]. Dostupné na [www: <http://www.instruments.ingos.cz/pristroje.php?id=analyzator-aminokyselin>](http://www.instruments.ingos.cz/pristroje.php?id=analyzator-aminokyselin)
- [37] KŘÍŽKOVÁ, L. *Aminokyselinová skladba kulinářsky upravených bramborových hlíz*. Diplomová práce, 2010, 53 str. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
[on-line]. [cit. 2010-03-05]. Dostupné na [www: <http://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/12003/k%C5%99%C3%AD%C5%BEkov%C3%A1_2010_dp.pdf?sequence=1>](http://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/12003/k%C5%99%C3%AD%C5%BEkov%C3%A1_2010_dp.pdf?sequence=1)
- [38] <http://www.healthvitaminsguide.com/aminoacids/valine.htm>
- [39] <http://www.healthvitaminsguide.com/aminoacids/leucine.htm>
- [40] <http://www.healthvitaminsguide.com/aminoacids/isoleucine.htm>
- [41] <http://www.vitamins-supplements.org/amino-acids/valine.php>
- [42] <http://www.dietaryfiberfood.com/leucine-rich.php>
- [43] <http://nutrient.javalime.com/nutrient.php/503>
- [44] <http://psych.lf1.cuni.cz/bp/3.3.htm>
- [45] <http://www.sportuj.com/view.php?navezclanku=bcaa&cislocclanku=2008010036>
- [46] Průvodce spotřebitele, svazek č. 12 - *Doplňky stravy (Potraviny k doplnění jídelníčku)*, 1. vydání. © Ing. Irena Michalová, © Sdružení českých spotřebitelů, o. s., Praha, září 2007. ISBN 978-80-903930-1-1. [on-line]. [cit. 2010-03-05]. Dostupné na [www: <http://www.konzument.cz/publikace/soubory/pruvodce_spotrebitel/Doplňky%20stravy.pdf>](http://www.konzument.cz/publikace/soubory/pruvodce_spotrebitel/Doplňky%20stravy.pdf)
- [47] MANDELOVÁ, L. *Potravinové doplňky*. Učební materiály FSpS Masarykova univerzita v Brně, 2004.
- [48] <http://www.getfit.cz/co-jsou-bcaa/>
- [49] <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/metabolismus-proteinu-a-aminokyselin-128916>

- [50] SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G., 1967. *Statistical Methods. Iowa: 6th ed.*
Iowa State University Press, 1967, p. 534.
- [51] Statistický systém UNISTAT® v. 5. 1. 11.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

5 – HT	5 – hydroxytryptamin (serotonin)
AAEG	arginin alfaketoglutarát
AMK	aminokyseliny
ATP	adenosintrifosfát
BCAA	brached-chain amino acid
BCKADH	branched-chain ketoacid dehydrogenace
COOH	karboxylová skupina
CV %	variační koeficient
DA	dopamin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EU	Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization
HCl	kyselina chlorovodíková
HMB	hydroxymethyl butyrát
IGF – 1	insuline like grow faktor
mRNA	mediátorová ribonukleová kyseliny
NE	norefedrin
NH ₂	aminoskupina
NRC	National Research Council
pI	izoelektrický bod
RNA	ribonukleová kyselina
tRNA	transferová ribonukleová kyselina

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Schéma metabolismu větvených aminokyselin [49]	20
Obrázek 2. Syntéza serotoninu z tryptofanu [44].....	21
Obrázek 3. Reakce ninhydrinu a aminokyselinou [28].....	29
Obrázek 4. Mineralizační blok [37]	36
Obrázek 5. Olejová lázeň [37]	37
Obrázek 6. Rotační vakuová odparka LABOROTA 4010/HB/GB [37]	38
Obrázek 7. Automatický analyzátor aminokyselin [36]	38

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Obsah leucinu v potravinách [g/100 g] [42].....	24
Tabulka 2. Obsah izoleucinu v potravinách [g/100 g] [43].....	26
Tabulka 3. Energetická a nutriční charakteristika vzorku I	32
Tabulka 4. Energetická a nutriční charakteristika vzorku II.....	32
Tabulka 5. Energetická a nutriční charakteristika vzorku III	33
Tabulka 6. Energetická a nutriční charakteristika vzorku IV	33
Tabulka 7. Energetická a nutriční charakteristika vzorku V	34
Tabulka 8. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek I [g/kg]	40
Tabulka 9. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek II [g/kg].....	40
Tabulka 10. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek III [g/kg]	41
Tabulka 11. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek IV [g/kg]	41
Tabulka 12. Výsledky stanovení obsahu větvených aminokyselin – vzorek V [g/kg]	41