

Stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas

Bc. Stanislava Žaludková

Diplomová práce
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství
akademický rok: 2007/2008

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Stanislava ŽALUDKOVÁ**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas.**

Zásady pro vypracování:

- 1. Řasy jsou významným zdrojem mnoha nutričně významných komponent.**
- 2. Zjistěte jejich využitelnost stanovením stravitelnosti.**

Rozsah práce: 80

Rozsah příloh: 10

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

[1] JANKOVSKÝ, L. *Viry, prokaryota, řasy, houby a lišejníky*. 1. vyd. Masarykova univerzita v Brně, 1997. 154 s. ISBN: 80-210-1555-1.

[2] WONG K.H., CHEUNG C. K. Nutritional evaluation of some subtropical red and brown seaweeds: Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profile of protein concentrates. *Food Chemistry*, Volume 72. Issue 1. January 2001. 11-17.

[3] FLEURENCE, J. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*, 1999. 25 - 28.

[4] DAWCZYNSKI CH., SCHUBERT R., GERHARD J. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, Volume 103. Issue 3. 2007. 891 - 899.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Ladislava Mišurcová

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

19. listopadu 2007

Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2008

Ve Zlíně dne 2. května 2008


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Řasy svým nutričním složením s vysokým obsahem proteinů, minerálních látek i vitaminů poutají pozornost jako potenciální zdroj potravin. Avšak jejich využitelnost je omezena přítomností polysacharidů v buněčné stěně. Diplomová práce byla zaměřena na stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas. K posouzení stravitelnosti bylo použito hodnocení bílkovin metodou in vitro, jež je založeno na stanovení rozdílu hodnot bílkovin a aminokyselin před a po působení proteolytickými enzymy.

Klíčová slova: mořské řasy, bílkoviny, aminokyseliny, stravitelnost, proteolytické enzymy.

ABSTRACT

Algae is known as a potential source of food for human due to the high content of proteins with essential amino acids, minerals and vitamins. Their availability by reason of present polysaccharide in cell wall is limited.

Digestibility of Freshwater Algae and Seaweed was assessed by in vitro analysis. Proteins and amino acids composition before and after proteolytic enzymatic action was evaluated.

Key words: Seaweeds, proteins, amino acids, digestibility, proteolytic enzyme.

Děkuji tímto vedoucí mé diplomové práce ing. Ladislavě Mišurcové za její odborné vedení při zpracování, rady, připomínky a všechny zodpovězené dotazy týkající se dané problematiky. Touto cestou bych ráda poděkovala paní Jarmile Řemenovské za její ochotu a pomoc.

Můj dík patří i rodině a přátelům za jejich podporu a povzbuzení v průběhu studia.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 ŽIVINY	10
1.1 SACHARIDY	10
1.2 LIPIDY	10
1.3 BÍLKOVINY	11
1.3.1 Aminokyseliny	12
1.3.1.1 Základní aminokyseliny a jejich dělení	12
1.3.1.2 Esenciální aminokyseliny	14
2 TRÁVENÍ ŽIVIN	16
2.1.1 Trávení sacharidů	17
2.1.2 Trávení lipidů	17
2.1.3 Trávení bílkovin	18
2.1.3.1 Žaludeční endopeptidasa - Pepsin	20
3 ŘASY – ALGAE	22
3.1 SYSTEMATIKA ODDĚLENÍ ŘAS	22
3.1.1 Červené řasy (<i>Rhodophyta</i>).....	24
3.1.2 Hnědé řasy (<i>Chromophyta</i>).....	25
3.1.3 Zelené řasy (<i>Chlorophyta</i>)	27
3.1.4 Sinice (<i>Cyanobacteria</i>)	28
4 STANOVENÍ STRAVITELNOSTI	30
4.1 STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK METODOU DLE KJELDAHLA	30
4.1.1 Mineralizace	31
4.2 STANOVENÍ AMINOKYSELIN	32
4.2.1 Příprava hydrolyzátu pro stanovení aminokyselin.....	32
4.2.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin.....	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
5 CÍL PRÁCE	36
6 METODIKA PRÁCE	37
6.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	37
6.2 MATERIÁL	37
6.3 METODIKA STANOVENÍ	38
6.3.1 Stanovení dusíkatých látek dle Kjeldahla	38
6.3.2 Stanovení obsahu dusíkatých látek v trávenině	40
6.3.3 Stanovení aminokyselin	41
7 VÝSLEDKY A DISKUSE	43

7.1	OBSAH DUSÍKATÝCH LÁTEK	43
7.2	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI	44
7.3	SLOŽENÍ AMINOKYSELIN V ŘASÁCH	46
7.3.1	Složení aminokyselin ve sladkovodních řasách.....	48
7.3.2	Složení aminokyselin v červených mořských řasách.....	48
7.3.3	Složení aminokyselin v hnědých mořských řasách.....	49
7.4	OBSAH AMINOKYSELIN V TRÁVENINĚ	52
7.4.1	Obsah aminokyselin v trávenině ihned po působení enzymu	52
7.4.2	Vyhodnocení změn aminokyselin v trávenině po 20-ti dnech	54
ZÁVĚR.....		57
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		59
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		65
SEZNAM OBRÁZKŮ		67
SEZNAM TABULEK.....		68
SEZNAM PŘÍLOH.....		69
SEZNAM GRAFŮ		70

ÚVOD

Mořské řasy jsou zdrojem potravy od nejstarších dob z důvodu vysokého množství bílkovin s vhodnou skladbou aminokyselin a přítomnosti sacharidů, minerálních látek a vitamínů. Řasy jsou tradiční potravou především v přímořských státech jako je Čína, Japonsko, Korea, Havaj, a Skotsko. Pro přímou spotřebu jsou nejčastěji používány hnědé (66,5 %) a červené (33 %) řasy, zatímco zelené jsou konzumovány nejméně (5 %) [1].

Nutriční složení řas je velmi proměnlivé nejen v závislosti na druzích řas, ale závisí na mnoha dalších faktorech, jako je roční období, intenzita světla, slanost a teplota vody [1], [2].

Řasy pro přímou spotřebu jsou využívány zejména v asijských zemích, kdežto v západních slouží jako surovina pro výrobu želírujících prostředků. Především z hnědých řas se získávají algináty a karageny, které mohou nahradit želatinu a agar v cukrářské a potravinářské výrobě. Z červených řas se získává protein, který je využíván jako barvivo v biotechnologiích. Dále mají široké uplatnění ve farmacii, v lékařství, v mikrobiologii, v kosmetice, v papírenském a chemickém průmyslu. V přímořských oblastech jsou stélky vyvržených řas využívány jako hnojivo a jako krmivo pro dobytek [1], [3].

Svým obsahem bioaktivních látek mají pozitivní vliv na lidské zdraví, významnou měrou se podílí na podpoře imunitního systému, trávení, zmírňují záněty a alergie.

Nutriční hodnota mořských a sladkovodních řas je významná hlavně z pohledu bílkovin. Příjem bílkovin potravou je pro organismus velmi důležité, protože je neschopen tvořit z jiných živin jako je tomu u sacharidů a tuků. U řas je však otázkou jejich využitelnost z důvodů přítomnosti polysacharidů a fenolů obsažených v buněčné stěně, které omezují jejich stravitelnost.

Cílem diplomové práce bylo stanovení stravitelnosti mořských a sladkovodních řas na základě rozdílů dusíkatých látek před a po působení proteolytického enzymu v prostředí napodobující trávení organismu. Dále byly posouzeny změny aminokyselin ihned po působení již zmíněného enzymu a poté ještě po 20-ti dnech.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ŽIVINY

Mezi hlavní živiny patří sacharidy, tuky a bílkoviny. Z chemického hlediska se jedná o velmi složitý materiál obsahující složku organickou i anorganickou. Kromě účasti na tvorbě biologických membrán plní také metabolické funkce, zejména jako zdroje a rezervy energie.

Organismus přijímá živiny potravou, pro které jsou stanovena výživová doporučení, a jejich obsah se podílí na výživové a energetické hodnotě potravin [4], [5], [6], [7].

1.1 Sacharidy

Sacharidy jsou hlavními složkami organismu a energetickým zdrojem látkového metabolismu. Jsou stavebními jednotkami buněk a tkání, tvoří zásobní látky a jsou součástí nukleotidů, prekurzorů a jiných účinných látek. Podle struktury se člení na monosacharidy (glukosa, fruktosa), oligosacharidy (sacharosa, laktosa) a polysacharidy [6], [8].

Tato živina je důležitým a lehce dostupným zdrojem energie. Doporučuje se, aby tvořila 50 – 55 % z celkového energetického příjmu. Člověk skladuje mírné rezervy sacharidů v játrech ve formě polysacharidu glykogenu, který se skládá z glukosových jednotek a tvoří molekulu více rozvětvenou. V organismu se mohou také částečně syntetizovat z aminokyselin, glycerolu a z kyseliny mléčné [10], [11], [12].

Z výživového hlediska jsou vhodnější polysacharidy, které se v trávicím ústrojí odbourávají pomaleji než jednoduché cukry. Podle odolnosti vůči trávicím schopnostem gastrointestinálního traktu člověka jsou členěny na stravitelné a nestravitelné polysacharidy [14], [15].

1.2 Lipidy

Úloha lipidů ve výživě je velmi rozmanitá. Jejich význam spočívá zejména v tom, že patří mezi tři základní živiny, které nelze zcela nahradit jinými. Mají dvojnásobný obsah využitelné energie ve srovnání s bílkovinami a sacharidy. Jejich podíl na celkovém příjmu energie nemá podle současných doporučení přesáhnout 30 %.

Tuky mají ochrannou funkci, neboť obalují některé orgány a chrání je tak před poškozením, a podílí se také na tvorbě strukturní části biomembrán [8].

Hlavní součástí lipidů jsou triacylglyceroly, jejichž vlastnosti se liší podle mastných kyselin přítomných v molekule glycerolu, přičemž může obsahovat dvě stejné a jednu odlišnou, eventuálně tři odlišné mastné kyseliny [6].

Lipidy jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin a jejich prekurzorů, dále jsou nutné pro přirozený přísun lipofilních vitaminů a příslušných provitaminů v organismu.

Z hlediska výživy je důležitá skladba mastných kyselin v tucích, především obsah vícenenasycených (polyenových) mastných kyselin – zejména kyseliny linolové a γ – linolenové, které si organismus nedokáže vytvořit, a proto musí být dodávány stravou. Negativní působení tuků spočívá v jejich vysoké spotřebě a v nesprávné skladbě [12].

1.3 Bílkoviny

Bílkoviny jsou vysokomolekulární látky, jejichž základem je polypeptidový řetězec vytvořený vzájemnou vazbou sta až několika tisíc aminokyselin [16].

Jsou základními složkami organismu, které jim dodávají aminokyseliny potřebné pro obnovu bílkovinných zásob a také se uplatňují jako enzymy a hormony [17], [18].

Živočichové jsou odkázáni na příjem rostlinných a živočišných proteinů potravou, zatímco rostliny a některé mikroorganismy si je dokáží syntetizovat např. z oxidu uhličitého, vody a anorganických zdrojů dusíku a síry [17].

Doporučený příjem bílkovin je ovlivněn fyzickou zátěží organismu a obecně činí 10 – 15 % energetické hodnoty. Doporučená minimální denní dávka kvalitního proteinu činí přibližně $0,5 \text{ g.kg}^{-1}$ za předpokladu malé fyzické zátěže a při normální aktivitě je zapotřebí $0,75 \text{ g.kg}^{-1}$. Tento příjem je nutný ke krytí bazálních ztrát vznikajících při metabolických pochodech v organismu. Nároky na potřebu bílkovin ovlivňuje řada faktorů jako je stravitelnost potravin, rychlost syntézy bílkovin v těle, podíl sacharidů a tuků ve výživě, horečka, stresová situace, užívání léků a také závažné metabolické poruchy [19], [14].

Déle trvající nízký příjem bílkovin vede k potížím v organismu, tzv. kwashiorkor, jehož hlavními příznaky jsou otoky, atrofie kosterního svalstva a ascites [14].

1.3.1 Aminokyseliny

Složení aminokyselin v bílkovinách je jedním z nejvýznamnějších faktorů ovlivňující tzv. nutriční hodnotu bílkovin, neboť zastoupení jednotlivých aminokyselin v různých bílkovinách se liší.

V potravinách se aminokyseliny mohou nacházet volně (1 %), nejčastěji však vázané v peptidech nebo proteinech. Doposud bylo identifikováno v přírodě kolem 700 aminokyselin, ale standardně se v proteinech vyskytuje 20 základních aminokyselin. V biochemii a molekulární genetice je těchto 20 základních aminokyselin označováno pojmem kódované aminokyseliny. Všechny tyto kódované aminokyseliny vlastní karboxylovou (-COOH) a aminovou (-NH₂) skupinu, přičemž obě skupiny jsou připojeny k jednomu uhlíkovému atomu zvanému uhlík alfa, tj. takovém uhlíku, který sousedí s karboxylovou skupinou. V postranních řetězcích aminokyselin se mohou vázat další -NH₂ nebo -COOH skupiny. Mimo tyto skupiny se v postranních řetězcích váží skupiny hydroxylové (-OH), sulfhydrylové (-SH), guanidilové (-NH-(=NH)-NH₂), fenylové (C₆H₅) aj. [17], [20], [21].

1.3.1.1 Základní aminokyseliny a jejich dělení

Aminokyseliny vyskytující se běžně v proteinech potravin se dělí podle charakteru řetězce na tyto skupiny:

1. neutrální alifatické aminokyseliny
glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin
2. alifatické hydroxykyseliny
serin, threonin
3. sírné aminokyseliny
cystein, cystin, methionin
4. iminové kyseliny
prolin, hydroxyprolin
5. kyselé aminokyseliny
asparagová kyselina, glutamová kyselina, asparagin, glutamin

6. basické aminokyseliny

lysin, arginin, histidin

7. aromatické aminokyseliny

fenylalanin, tyrosin, tryptofan

Cystein a methionin jsou hlavními zdroji síry v potravě. Organismus dovede vytvořit cystein z methioninu, nikoliv však naopak, protože methionin je esenciální aminokyselinou. Cystein je prekursorem pro tvorbu glutathionu, což je tripeptid, který působí v organismu jako antioxidant a také obsahuje síru ve formě, která napomáhá inaktivovat volné radikály a tak ochraňovat tělesné tkáně proti oxidačnímu stresu. Spojením dvou molekul cysteinu vzniká cystin, který je přítomen v insulínu a keratinu. Methionin je donorem metylové skupiny potřebnou pro transmetylaci. Chrání játra před toxickými látkami, proto nedostatek, ale i nadbytek této aminokyseliny vede k poruše funkce jater [19].

Fenylalanin obsahuje benzenové jádro, podobně jako neesenciální **tyrosin**, který je z fenylalaninu tvořen. Z těchto aminokyselin vznikají v organismu hormony adrenalin, noradrenalin, dopamin a tyroxin a také jsou obsaženy v pigmentu melaninu a řasnatém tělesu oka. Fenylalanin zlepšuje duševní výkon a odolnost proti stresu [19], [22], [23].

Tryptofan je potřebný pro syntézu kyseliny nikotinové a účastní se přenosu v nervové tkáni. Je to výchozí látka pro tvorbu serotoninu, proto je důležitý pro klidný spánek a psychickou kondici [16], [19].

Lysin je limitující aminokyselinou většiny obilovin, proto může být nedostatečný v přísně vegetariánské stravě. Funguje jako stimulátor imunitních reakcí a růstu a podporuje tvorbu kolagenu [19], [23].

Glycin je inhibiční neuropřenašeč v centrální nervové soustavě, obzvláště v míše, mozkovém kmeni a v sítnici, slouží k syntéze jiných aminokyselin, např. serinu. Glycin je složkou nukleotidů a nukleových kyselin, prostetická skupina hemoglobinu, myoglobinu, cytochromů a je obsažen v kolagenu [16], [19], [22].

Kyselina glutamová se účastní metabolismu tuků a detoxikace amoniaku v organismu. Podílí se na přenosu iontů draslíku mezi krevním řečištěm a mozkovou tkání. Kromě toho je kyselina glutamová prekurzorem biosyntézy neesenciálních aminokyselin glutaminu

a prolinu. Soli kyseliny glutamové jsou v potravinářství používány jako látky zvýrazňující chuť. Vyšší dávky jsou nevhodné pro děti do tří let [19], [24].

Histidin je nezbytný pro růst a obnovu tkání a pro stimulaci žaludeční sekrece [16], [19], [24].

Alanin je součástí pojivových tkání, účastní se metabolismu glukosy [19].

Arginin je aminokyselina močovinového cyklu v játrech. Jeho endogenní syntéza není vždy dostačující, proto je řazen za určitých stavů k semiesenciálním aminokyselinám. Podporuje růst svalů, zvyšuje obranyschopnost, tvorbu spermatu [19].

Prolin a hydroxyprolin obsahují pyrolové jádro, které se vyskytuje též v porfyrinech obsažených v hemoglobinu a cytochromech. Obě aminokyseliny jsou v kolagenu a v ostatních bílkovinách pojivové tkáně [14], [19].

Valin, leucin, isoleucin tvoří celkem 37 % lidského těla, z toho valin tvoří 13 %, leucin 15 %, isoleucin 9 %. Jsou zdrojem dusíku při syntéze alaninu, kyseliny glutamové a glutaminu ve svalech a významným regulátorem metabolismu bílkovin [14], [23].

Serin je součástí fosfolipidů a slouží jako přenašeč v nervové tkáni [16].

1.3.1.2 Esenciální aminokyseliny

Termínem esenciální aminokyseliny jsou označovány ty, které jsou pro lidský organismus nezbytné a musí být dodávány potravou, protože si je nedokáže sám syntetizovat.

Při nedostatku esenciálních aminokyselin v potravě vznikají u živočichů vážné poruchy látkové přeměny, vedoucí ke zdravotním potížím. Mezi esenciální aminokyseliny je řazen valin, leucin, isoleucin, threonin, methionin, lysin, fenylalanin a tryptofan. Arginin a histidin jsou označovány jako poloesenciální nebo esenciální za určitých podmínek [16], [17].

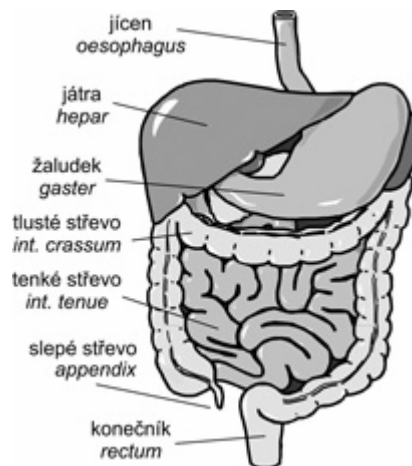
Nutriční hodnota bílkovin je odvozená od aminokyselinového složení, přičemž bílkovina, která obsahuje všechny nepostradatelné esenciální aminokyseliny je označována za plnohodnotnou. Pokud v bílkovině chybí některá z esenciálních aminokyselin je tato bílkovina neplnohodnotná a aminokyselina, která se zde nevyskytuje nebo je jí obsaženo v malém množství, je nazývána limitující [25]. Limitující aminokyselinou obilovin je lysin a threonin a v případě kukuřice navíc i tryptofan. Methionin je limitující aminokyselinou luštěnin [25], [26]. Pro většinu řas je limitující aminokyselinou methionin a lysin [3].

Biologická hodnota bílkovin je procentický podíl vyčíslený z poměru množství dusíku zadržného v těle, k množství přijatého stráveného dusíku. Biologická hodnota bílkovin je velmi proměnlivá právě podle typu a počtu obsažených aminokyselin a může být jiná v čistém stavu a jiná ve směsi s ostatními složkami potravin, které její využití ovlivňují. Bílkoviny živočišného původu mají tuto hodnotu vyšší než bílkoviny rostlinného původu. Nejvyšší biologická hodnota je u bílkoviny vejce, u níž je tato hodnota 100. V rostlinách je velké množství látek (tanniny, kyselina fytoová), které s bílkovinami tvoří špatně stravitelné komplexy nebo brzdí jejich štěpení v trávicím ústrojí (inhibitory proteasy) [25], [27].

U rostlinných bílkovin lze biologickou hodnotu zvýšit šlechtěním kulturních rostlin, včetně využití molekulárně – genetických metod, fortifikací limitujícími aminokyselinami, kombinací různých bílkovin [25].

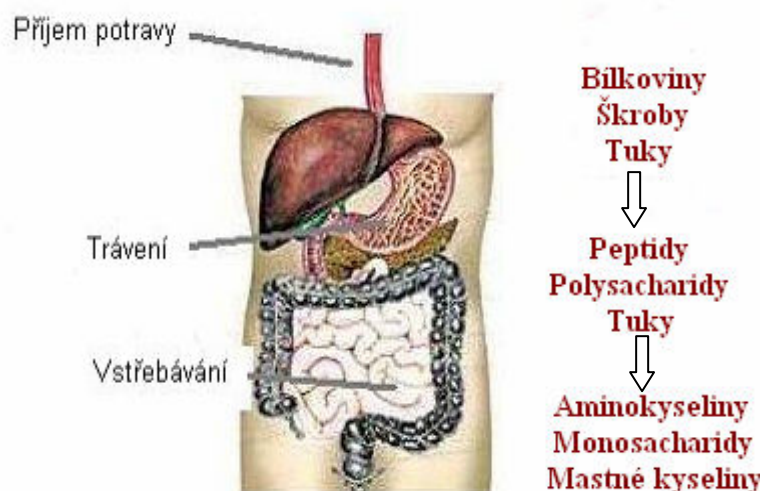
2 TRÁVENÍ ŽIVIN

Trávení je mechanické a chemické zpracování potravin. Živiny mohou vstoupit do vnitřního prostředí až po jejich úpravě, jinak je organismus nemůže vstřebat a využít. Tato přeměna probíhá v trávicím ústrojí, což je systém, který zajistí příjem a zpracování látek energeticky bohatých a látek obsahujících základní stavební součásti organismu. Z dutiny trávicího ústrojí jsou rozložené látky vstřebávány do tělesných tekutin [4], [5], [64].



Obr. 1. Trávicí soustava.

V horní části trávicí soustavy, tj. v ústech a žaludku je potrava mechanicky rozmělnována a rozpouštějí se zde některé její součásti. Hlavní trávicí a vstřebávací procesy probíhají v tenkém střevě [18]. V tenkém střevě je z tráveniny resorbována do krevního oběhu převážná většina látek potřebných pro organismus. V játrech začíná nová výstavba tělu vlastních látek, přičemž se podle potřeby metabolizují. Pokud v daném okamžiku není momentální potřeba energie zvýšená nějakou zátěží, může se aktuální zdroj energie – cukr, přeměňovat na tuky a ty naopak v případě potřeby mohou sloužit jako zdroj energie. K jejímu získávání mohou buňkám posloužit i vlastní stavební prvky organismu – bílkoviny. V tlustém střevě je trávenina zahušťována, působí na ni mikroorganismy a postupně je mění ve stolici [5], [28].



Obr. 2. Základní funkce GIT – trávicí proces [29].

2.1.1 Trávení sacharidů

Strava obsahuje značné množství sacharidů různé struktury. Jsou v ní zastoupeny monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy, z nichž některé jsou hůře stravitelné. Trávení cukrů začíná již v ústech, účinkem α – amylasy dochází k trávení škrobů na maltosu. Význam trávení škrobu touto amylasou je však velmi malý, neboť doba jejího působení je krátká. V žaludku nedochází k trávení cukrů, protože reakce α – amylasy je v kyselém prostředí rušena. Největší význam má trávení škrobu v tenkém střevě, účinkem pankreatické α – amylasy. Amylasa je dextrogenní, tzn. štěpí molekuly amylosy a amylopektinu uprostřed řetězce zprvu za vzniku dextrinů a nakonec maltosu. Hydrolyza škrobu je dokončena disacharidasami maltasou a isomaltasou, které jsou ve střevní šťávě a na povrchu slizničních buněk v mikroklycích. Výsledným produktem je glukosa, která je rychle vstřebávána díky aktivnímu transportu. Ve střevní šťávě a na povrchu slizničních buněk je enzym sacharasa štěpící disacharid sacharosu a laktasa štěpící laktosu. Vlákna je trávena až v tlustém střevě účinkem bakterií. Produktem bakteriální fermentace sacharidů jsou těkavé mastné kyseliny, oxid uhličitý a u 40 % jedinců také methan [25], [30].

2.1.2 Trávení lipidů

Většinu lipidů potravy tvoří triglyceridy vyšších mastných kyselin v podobě tuků či olejů, fosfolipidy, steroly a volné vyšší mastné kyseliny. V rostlinných olejích převládají nenasyčené vyšší mastné kyseliny, včetně esenciálních [25].

Trávení lipidů začíná v žaludku účinkem žaludeční lipasy, která štěpí tuky na mastné kyseliny a glycerol. Protože však v žaludku nejsou tuky rozptýleny na drobné kapénky, trávení tuků v žaludku nemá velký význam. Hlavním místem trávení lipidů je tenké střevo a zdrojem lipasy je zde pankreatická šťáva. Tuky musí být rozptýleny v drobné kapénky, tj. musí být emulgovány, což nastává působením žluči, kdy soli žlučových kyselin způsobují snížení povrchového napětí a tuk je tak rozptýlen na drobné kapénky. To má za následek zvětšení povrchu a lipasa se dostává rychleji k částčkám tuku u nichž štěpí esterickou vazbu mezi glycerolem a mastnými kyselinami. Emulgace napomáhá pronikání produktů štěpení do buněk střevní sliznice. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem nepodléhají žádným změnám a přechází prostou difusí přímo do krve. Mastné kyseliny s delším řetězcem jsou využívány k esterifikaci monoglyceridů na triglyceridy [25], [30].

2.1.3 Trávení bílkovin

Dříve než mohou bílkoviny vstoupit do katabolických pochodů, musí být podrobeny totální enzymové hydrolyze až na aminokyseliny. Velké molekuly bílkovin i některých peptidů nemohou procházet buněčnou membránou, proto jsou extracelulární bílkoviny hydrolyzovány extracelulárními enzymy. Typickým příkladem tohoto typu štěpení bílkovin jsou pochody probíhající v trávicí soustavě živočichů. Enzymová hydrolyza bílkovin je katalyzována proteasami nebo-li proteolytickými enzymy. Proteasy jsou N – C hydrolasy, které na rozdíl od většiny ostatních enzymů nejsou substrátově specifické, tj. štěpí prakticky všechny bílkoviny, ale jsou specifické vůči určitým strukturám peptidového řetězce. Rozbalením kompletní nativní bílkovinné molekuly přirozeně zpřístupňují proteasy jednotlivé vazby, proto jsou denaturované bílkoviny lépe štěpeny. Proteasy pracují bez prostetických skupin nebo koenzymů, některé však vyžadují ke své funkci přítomnost kovových iontů, např. Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} [22], [32].

Podle funkce jsou proteasy děleny na endopeptidasy, štěpící vazby uvnitř řetězce za vzniku peptidů různé velikosti, a exopeptidasy, napadající koncové vazby aminokyselin u polypeptidového řetězce. Většina živočišných proteas působí v trávicím traktu. Působí vesměs extracelulárně – jsou vylučovány buňkami do trávicích šťáv. Vytváří se ve formě inaktivního proenzymu (zymogenu), aby nedošlo k samoštěpení. K aktivaci dochází až v místě působení autodigescí nebo proteolýzou limitovanou jinou proteasou či účinkem pH prostředí. Aktivace zahrnuje odštěpení menších peptidových fragmentů z molekuly proenzymu.

mu, popřípadě přerušení jedné nebo několika klíčových vazeb za současného nového uspořádání molekuly [16], [22].

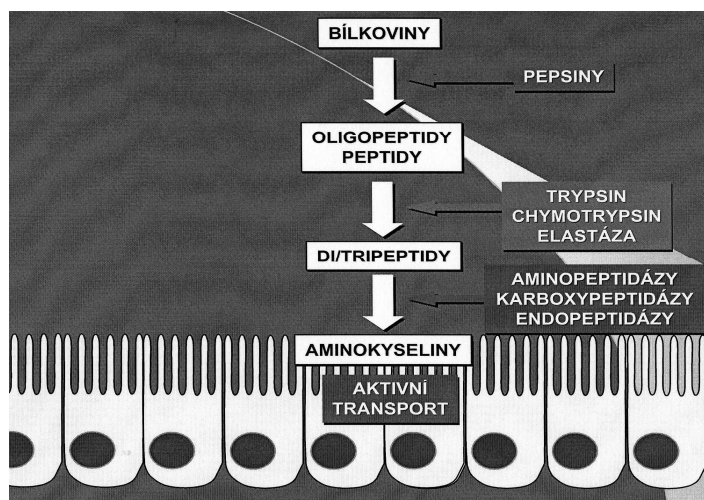
Trávení bílkovin začíná v žaludku. Bílkoviny potravy denaturují působením žaludeční kyselosti, čímž se stanou přístupnější účinku proteolytických enzymů. Kyselina chlorovodíková obsažená v žaludeční šťávě má koncentraci 0,5 %, je tvořena z chloridu sodného obsaženého v krvi a způsobuje silně kyselou reakci (pH 0,8 – 1,5). Sekrece této kyseliny je závislá na koncentraci gastrinu. Kyselina chlorovodíková zajišťuje takové pH při němž je pepsin aktivní. Další její funkcí je redukce železa a vápníku na dvojmocné ionty, a tím umožňuje jejich vstřebávání ve střevě, chrání vitaminy B₁, B₂, C před jejich znehodnocením např. před oxidací, zajišťuje další stupeň antimikrobiální ochrany GIT [30], [32], [33], [34].

Trávení bílkovin pokračuje v tenkém střevě pankreatickými proteasami. Z enzymů pankreatické šťávy se na hydrolyze bílkovin podílí trypsin, chymotrypsin, elastasa a karboxypeptidasa. Trypsin je vylučován jako neaktivní trypsinogen, který se aktivuje autokatalyticky nebo účinkem střevní peptidasy enterokinasy. Trypsin odbourává bílkoviny na dipeptidy, přičemž přednostně štěpí vazby tvořené zásaditými aminokyselinami lysinem, histidinem a argininem. Chymotrypsin je také vylučován v neaktivní formě jako chymotrypsinogen, který je aktivován trypsinem a z bílkovin produkuje směs peptidů. Elastasa vzniká v pankreatu v neaktivní formě jako pro – elastasa, která je aktivována pomocí trypsinu a v aktivní formě štěpí peptidové vazby glycinu, alaninu a serinu, tj. aminokyselin s nejmenší molekulovou hmotností [6], [16], [30].

Na působení enzymů, štěpících bílkoviny, navazuje účinek enzymů štěpících peptidy, tj. peptidas. Ve šťávě pankreatu se nachází karboxypeptidasa, což je enzym štěpící peptidy od jejich karboxylového konce, kdy vznikají nižší peptidy a volné aminokyseliny. Střevní šťáva obsahuje aminopeptidasu štěpící vyšší peptidy od jejich aminového konce. Dále tato šťáva obsahuje dipeptidasu, které rozklad bílkovin dokončí. Štěpení di- a tripeptidů probíhá současně na mikroklcích i v slizničních buňkách. Jejich molekuly jsou tak malé, že se bez problémů dostanou přes buněčnou membránu. L – aminokyseliny jsou vstřebávány rychle, pomocí aktivního transportu, pomocí usnadněné i prosté difuze. Volné aminokyseliny přechází střevní sliznicí do lymfy nebo krve a jsou rozvedeny do tkání, v jejichž buňkách jsou dále využívány [22], [25].

2.1.3.1 Žaludeční endopeptidasa - Pepsin

Pepsin patří mezi karboxylové proteasy. Nejvyšší aktivitu vykazuje při nízkém pH, jež odpovídá podmínkám v žaludku, při vyšším dochází k jeho denaturaci. Nemá velkou specifitu, nejlépe štěpí peptidové vazby na karboxylovém konci aromatických aminokyselin tyrosinu a fenylalaninu. Produktem působení pepsinu na bílkoviny je tzv. pepton, což je směs peptidů obsahujících obvykle 3 – 30 aminokyselinových zbytků. Pepsin je syntetizován buňkami žaludeční sliznice ve formě proenzymu pepsinogenu, který je v kyselém prostředí aktivován působením pepsinu [8], [16].



Obr. 3. Proces trávení bílkovin [29].

Bílkoviny nejsou v lidské výživě nahraditelné jinými živinami, neboť jsou jediným zdrojem dusíku. Vzhledem k mimořádnému postavení bílkovin je jejich metabolismus odlišný od látkové přeměny cukrů a lipidů a na rozdíl od nich aminokyseliny nejsou skladovány ve formě zásob. Při jejich zvýšeném příjmu jsou využity v intermediárním metabolismu a většina dusíku je vyloučena ve formě močoviny [14], [22].

Aminokyseliny podléhají v organismu mnohým přeměnám a zasahují na různých cestách metabolických drah. Ty které nejsou vázány ve struktuře proteinových molekul, vytvářejí tzv. aminokyselinovou hotovost (pool), která je využívána nejen pro syntézu proteinů, ale i řadu dalších biologicky významných látek, např. hormonů, neuromediátorů a nukleových kyselin. Část aminokyselin je odbourána na jednodušší látky, při nichž se získává energie [14], [35].

3 ŘASY – ALGAE

Morfologicky představují velmi různorodou skupinu organismů, jež nejsou přirozenou fylogenetickou skupinou, ale pravděpodobně se jedná o samostatné vývojové větve, které se vyvíjely souběžně. Řasy jsou autotrofní, jednobuněčné až mnohobuněčné nižší rostliny, u nichž nedošlo k diferenciaci pletiv. Tělo mnohobuněčných řas je nazýváno stélkou – thallus, u dokonalejších druhů je stélka rozlišena na rhizoidy (příchytná vlákénka), kauloid a fyloidy, jejichž funkce odpovídá kořenům, stonku a listům cévnatých rostlin. U řas neexistují žádné vodivé struktury, které by byly plně srovnatelné s cévními svazky vyšších rostlin [26], [36].

Buňky řas mají eukaryotní strukturu, ve kterých je typické buněčné jádro a chromotofory. Dýchání se děje v mitochondriích. Fotosyntéza probíhá v chloroplastech na thylakoidech. V leukoplastech, které neobsahují žádná asimilační barviva probíhá syntéza vyšších organických molekul ukládající se jako zásobní látky [13].

Řasy nacházíme skoro ve všech biotopech, ale přesto je většina druhů vázaná na život ve vodě, kde buď obývají dno nebo se vznášejí ve vodě. Řasy vylučováním kyslíku obnovují jeho množství ve vodě, a tím umožňují dýchání živočichů a život aerobních bakterií [26], [36].

3.1 Systematika oddělení řas

Taxonomický systém řas je založen na vývojových stupních. S novými poznatky z molekulární biologie o ultrastruktuře protoplastů a buněčných stěnách řas, jsou navrhovány další vyšší taxonomické jednotky na úrovni oddělení a tříd. Řasy jsou děleny podle morfologické diferenciaci stélek, stavby buněk, barviv, zásobních látek, počtu a uspořádání bičíku a podle způsobu rozmnožování [37].

DOMÉNA: BACTERIA

Oddělení: Sinice (Cyanobacteria, Cyanophyta)

DOMÉNA: EUKARYA

Podříše: Nižší rostliny (*Protobionta*)

Oddělení: Ruduchy (*Rhodophyta*)

Třída: Ruduchy (*Rhodophyceae*)

Oddělení: Hnědé řasy (*Chromophyta*)

Třída: Zlativky (*Chrysophyceae*)

Třída: Rosivky (*Bacillariophyceae*)

Třída: Chaluchy (*Phaeophyceae*)

Oddělení: Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Třída: Zelenivky (*Chlorophyceae*)

Třída: Spájkivky (*Conjugatophyceae*)

Třída: Trubicovky (*Bryopsidophyceae*)

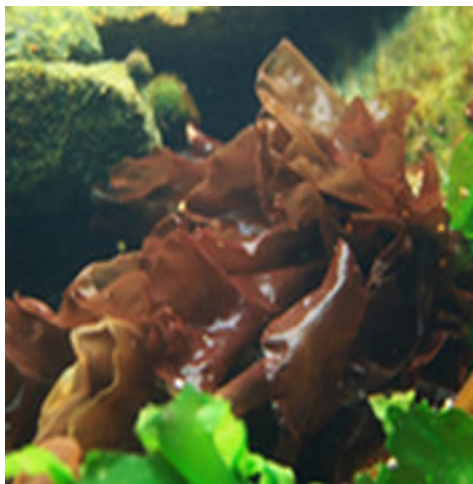
Třída: Parožnatky (*Charophyceae*) [4].

Další členění je podle výskytu na sladkovodní a mořské řasy. Na základě obsahu pigmentu se rozdělují na hnědé, červené a zelené. Hnědé řasy mají obvykle obrovské chaluchy se silnou kožovitou stélkou, které jsou často 20 až 40 m dlouhé. Červené řasy jsou obvykle dlouhé jen několik centimetrů, podobně jako zelené řasy. K řasám jsou řazeny i sinice označovány jako modrozelené řasy [38], [39].

Botanicky se řadí řasy do těchto tříd: *Phaeophyceae* (hnědé řasy), *Rhodophyceae* (červené řasy) a *Chlorophyceae* (zelené řasy) [38].

3.1.1 Červené řasy (*Rhodophyta*)

Ruduchy jsou především mořské řasy. Rostou v litorální a sublitorální zóně, díky fykoerythrinu a možnosti využívat modrozelené spektrum světla pronikají do hloubek až 210 metrů a jsou tedy nejhlouběji rostoucí eukaryotní organismy [36], [37]. Jsou to autotrofní rostliny s jednobuněčnou, vláknitou, často bohatě větvenou nebo ploše listovitou stélkou [40]. Obal chloroplastů tvoří dvojice lipoproteinových membrán, které neobsahují peptidoglykany. Obsahují ve vodě rozpustná fotosyntetická barviva, zvaná fykobiliny. Jde zejména o červený fykoerytrin a modrý fykocyanin a alofykocyanin. Dále obsahují chlorofyl a, chlorofyl d, β -karoten a xantofyly. Podle poměru jednotlivých barviv mohou mít ruduchy barvu od jasně červené až po modrozelenou. Zásobní látkou je florideový škrob (α -1,4-glukan), který je v podobě zrn ukládán v cytoplasmě [37], [41]. Buněčná stěna je tlustá, dvouvrstevná. Vnitřní strana je tvořena celulosou a vnější strana je složena z pektinů rozpustných v horké vodě, hlavně β (1,3) xylanu a β (1,4) mannanu a částečně také z mikrofibrilární celulosy [39], [42]. Buňky některých druhů jsou inkrustovány uhličitanem vápenatým. Červené řasy obsahují až 47 % bílkovin, proto mohou být jejich dobrým zdrojem [43]. Nejvíce zastoupenými aminokyselinami jsou v těchto řasách kyselina asparagová a glutamová, jejichž obsah je zde 14 – 19 %. Červené řasy jsou využívány k získávání agaru a karageny [13], [38], [64].



Obr. 4. *Porphyra tenera* (Nori) [9].

Z potravinářského hlediska jsou nejdůležitější *Porphyra tenera* a *Palmaria palmata*. *Porphyra tenera*, známá pod komerčním názvem Nori, patří mezi mořskou řasu s proteinovým obsahem mezi 30 – 50 % z čehož 75 % je stravitelných. Obsah vitamínu je velmi vysoký, s významným množstvím vitamínu A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, niacinu. Charakteristická chuť je zapříčiněná velkým množstvím tří aminokyselin: alaninu, glutaminu a glycinu. Tato červená mořská řasa je používána na výrobu japonského pokrmu – sushi [13], [61].

Palmaria palmata, známá pod názvem Dulse, je červená mořská řasa, která může být dobrým zdrojem bílkovin pro lidskou výživu. Obsahuje 8 – 35 % bílkovin, přičemž v zimě a na jaře je jejich hodnota vyšší, zatímco v létě nižší. Je dobrým zdrojem minerálních látek, především železa [3], [43], [44].



Obr. 5. *Palmaria palmata* (Dulse) [45].

Řasy rodů *Gelidium* a *Gracilaria* jsou využívány pro získávání agaru, kterého je obsaženo ve stélkách až 40 % v sušině. Z rodu *Chondrus* a *Gigartina* je extrakcí získáván karagen. *Phylophora nervosa* žijící v Černém moři je používána na přípravu látky podobné agaru [38], [46].

3.1.2 Hnědé řasy (*Chromophyta*)

Hnědé řasy jsou fotoautotrofní rostliny se značnými nároky na světlo. Hnědé řasy nebo-li chaluhy rostou převážně ve slaných vodách, kde mohou být až ve hloubkách 50 metrů. Mezi asimilačními pigmenty převládá hnědé barvivo fukoxantin a červený β - karoten, které zpravidla překrývají zelené chlorofyly a, c₁, c₂, takže výsledná barva chromatoforů bývá hnědozelená až zcela hnědá. Kombinace těchto barviv dodává hnědým řasám jejich charakteristickou barvu, která se pohybuje od hnědé po žlutozelenou. Zásobní látkou hnědých

řas je polysacharid chrysolaminarin (α -1,3 glukan) nebo laminarin, manitol a olej. Buňky produkují fenolickou látku fukosan, která odpuzuje býložravce. Oxidací hnědne a způsobuje tmavě hnědé zbarvení suchých stélek. V buněčné stěně jsou alginové kyseliny (polymery kyseliny glukuronové a kyseliny manuronové) [37], [41], [47].



Obr. 6. *Eisenia bicyclis* (Arame) [9].

Hnědé řasy v porovnání s červenými a zelenými řasami mají nejmenší množství proteinů. Obsah proteinů je v rozmezí 3 – 15 % v sušině [48]. V hnědých řasách je z aminokyselin nejvíce zastoupená kyselina asparagová a glutamová 22 – 44 % [41], [75]. Množství vitaminů a minerálů v hnědých řasách je velký. Obsahují 5 – 140 mg vitamínu C a velké množství vitamínu A, jsou bohatým zdrojem minerálních látek [49].

Hospodářský význam hnědých řas spočívá v přímé konzumaci stélek a výrobě alginových kyselin [36], [39].

Tyto hnědé řasy jsou využívány v potravinářství: *Hizikia fusiformes*, *Undaria pinnatifida* nebo-li Wakame s obsahem bílkovin 11 – 24 % [62]. *Eisenia bicyclis*, známá jako Arame, která ve 100 gramech obsahuje 930 mg vápníku, 12 mg železa [49], [52].



Obr. 7. *Undaria pinnatifida* (Wakame) [50].

Laminaria japonica, nebo-li Kombu, je bohatým zdrojem vitaminů a minerálních látek, ve 100 gramech obsahuje až 1005 mg vápníku, 73 mg jodu, 430 mezinárodních jednotek vitamínu A a 1,8 mg niacinu [51], [52], [53].



Obr. 8. *Laminaria japonica* (Kombu) [54].

3.1.3 Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Zelené řasy tvoří nejrozšířenější skupinu řas. Jsou to předchůdci vyšších, suchozemských rostlin. Většina zelených řas je součástí planktonu a bentosu sladkých vod. Chloroplasty jsou čistě zelené, obsahují chlorofyly a a b, karoteny a xantofyly, které však zelenou barvu chlorofylů nepřekrývají. Nejdůležitější rezervní látkou je škrob. Zrnka škrobu jsou u zelených řas uložena v chloroplastech nebo na povrchu pyrenoidů, což jsou oválná nebo kulo-

vitá bílkovinná tělíska, obsahující enzymy. K rezervním látkám zelených řas patří také oleje. Buněčná stěna zelených řas je vícevrstevná, tvoří ji celulosní mikrofibrily, přičemž volný prostor mezi nimi vyplňují pektiny, popř. mannany, xylany [26], [47]. U některých druhů jsou ve vnější vrstvě buněčné stěny obsaženy chemicky odolné látky algenan a sporopolenin [39], [55]. Sporopolenin je terpenický biopolymer, prakticky nerozpustný a odolný vůči neoxidativním degradativním procesům [56].

Zelené řasy obsahují 10 – 47 % bílkovin, což je podobné množství jako u červených řas. Kyselina glutamová a asparagová tvoří 26 – 32 % z celkových aminokyselin [48], [75].

Zástupcem zelených řas využívaných v potravinářství je sladkovodní řasa *Chlorella pyrenoidosa*. Jednotlivé buňky jsou malé, kulovité s miskovitým chloroplastem, obklopeny slizovou vrstvou [36]. Její buněčná stěna je tak silná, že zabraňuje jejímu dostatečnému strávení a tím i využití. Proto je její buněčná stěna narušována desintegrační metodou, tím se stává lépe využitelná a stravitelnost se zvyšuje z původních 47 %, kdy stěna není rozrušena – na 79 %. Je to nenáročná řasa, která může sloužit jako hodnotný zdroj proteinu v rozvojových zemích, protože její proteinový obsah je až 60 % [57], [58].

3.1.4 Sinice (*Cyanobacteria*)

Sinice jsou gramnegativní prokaryotní organismy, které pomocí fotosyntetického procesu fixují oxid uhličitý a produkují kyslík.

Uvnitř buňky sinic jsou útvary zvané thylakoidy. Jsou to ploché váčky s fotosyntetickým aparátem. V membráně thylakoidů jsou obsaženy chlorofyl a, α i β karoten a xantofyly. Na povrchu thylakoidálního váčku se nachází tzv. fykobilisomy. Jsou to drobné útvary, které obsahují specifická barviva, zvaná fykobiliny (fykobiliproteiny). Jsou známy tři typy: dva z nich jsou modré (c-fykocyanin a allofykocyanin) a jeden je červený (c-fykoerythrin). Tyto pigmenty plní funkci světlosběrné antény, jejíž značná citlivost umožňuje sinicím fotosyntézu při velmi nízké hladině osvětlení – hluboko pod hladinou vody, v půdě, uvnitř kamenů, v jeskyních. Hlavní zásobní látkou je sinicový škrob (α -1,4-glukan). Zvláštností sinic je uchovávat polypeptidy ve formě cyanofycinových zrn, které slouží jako zdroj energie. Zásobní látkou jsou také polyfosfátové granule, tzv. volutin. Buněčná stěna je složena z pektinů nebo celulosy a u některých druhů sinic přechází v mohutné slizové obaly. Protože sinice dodávají organický dusík, používají se pro zvýšení úrodnosti rýžových polí v Asii. Preparáty ze sinic se používají jako složka potravy ve vý-

chodní Asii, protože obsahují vysoké množství vitaminů a nukleových kyselin. Fykobiliny se používají v biomedicíně jako signální barvy a jsou výchozí surovinou pro výrobu potravinářských barviv. Sinice mohou sloužit i jako zdroj bílkovin při výživě lidí a hospodářských zvířat [57], [59], [60].

Zástupcem sinic je sladkovodní *Spirulina pacifica* s vysokou nutriční hodnotou především bílkovin, jejichž hodnota se pohybuje nad průměrem této skupiny a může se blížit až k 70 %. Vhodná je i skladba těchto bílkovin, kde jsou zastoupeny esenciální i neesenciální aminokyseliny a tuky jsou tvořeny hlavně polyenovými nenasycenými mastnými kyselinami. Spirulina je bohatým zdrojem vitamínu B₁₂, kdy 1 g této řasy může pokrýt denní potřebu tohoto vitamínu [49], [61], [62].



Obr. 9. *Spirulina pacifica* [31].

4 STANOVENÍ STRAVITELNOSTI

Stravitelností se míní ta část požití potravy, kterou tělo dokáže využít, tj. kterou umí rozložit, vstřebat a zabudovat do svých struktur.

K posuzování stravitelnosti se používá hodnocení bílkovin, přičemž se vychází ze skutečnosti, že pokud jsou v organismu stráveny a tedy využity bílkoviny, jsou využity i ostatní látky [63].

Metoda in vivo stanovuje stravitelnost jako rozdíl definovaného množství dusíkatých látek přijatých organismem v potravě a dusíkatých látek vyloučených z organismu.

Stravitelnost in vitro je experimentální metoda při maximálním napodobení podmínek trávení bílkovin v organismu, resp. v žaludku, kdy bílkoviny v potravě jsou v kyselém prostředí rozloženy proteolytickým enzymem.

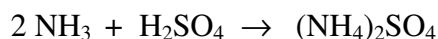
Stravitelnost bílkovin v řasách je snížena řadou látek přítomných v buněčné stěně. Jedny z hlavních jsou fenolické sloučeniny a polysacharidy, především rozpustná vláknina, které vytvářejí nerozpustné komplexy s proteiny a snižují tak jejich dostupnost vůči proteolytickým enzymům. Fenolické sloučeniny také reagují se samotnými enzymy, čímž mohou inhibovat jejich činnost [3], [46], [64].

4.1 Stanovení dusíkatých látek metodou dle Kjeldahla

Pro orientační obsah bílkovin v potravinách je postačující stanovení celkového obsahu dusíku, vyjádřeného tzv. hrubou bílkovinou (celkový obsah dusíkatých látek), která v sobě zahrnuje i jiné dusíkaté látky nebílkovinné povahy. Celkový dusík se stanovuje po mineralizaci na amoniakální formu Kjeldahlovou metodou, která i přesto, že má některé nedostatky (dlouhý čas mineralizace), je stále často používaná. Kjeldahlovu metodu mineralizace není možné použít na některé formy dusíku, které se nedají mineralizací převést na amoniak. Tady patří např. diazosloučeniny, dusičnany a dusitany.

Organická látka se mineralizuje koncentrovanou kyselinou sírovou při teplotě varu kyseliny. Mineralizace se urychluje přidávkem oxidačních látek jako je KMnO_4 , nebo katalyzátorů jako Hg, CuO, Se, případně Weiningerova katalyzátoru, což je směs K_2SO_4 , HgO, V_2O_5 , nebo v kombinaci s látkami, které zvyšují teplotu varu kyseliny sírové (K_2SO_4). Oxidace organických látek je katalyzována i peroxidem vodíku (30 % w/w), který je opakovaně přidáván v průběhu spalování do vychládlého vzorku.

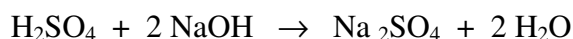
Dusík, který je v bílkovinách nebo aminokyselinách ve formě aminoskupiny i iminoskupiny, je mineralizací převeden na síran amonný.



Ze síranu amonného se potom uvolní amoniak roztokem NaOH (30 % w/w) a destiluje se vodní párou v Parnas – Wagnerově destilačním přístroji do předlohy se známým nadbytečným množstvím odměrného roztoku kyseliny sírové.



Přebytek této kyseliny se pak titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného na indikátor methylčerveň nebo Tashiro.



Z množství spotřebované kyseliny sírové se vypočte obsah dusíku (1 ml 0,05 mol.l⁻¹ H₂SO₄ odpovídá 1,4 mg dusíku) a výsledek se vyjádří na 100 g vzorku. Obsah dusíku se přepočítá na obsah tzv. hrubé bílkoviny vynásobením faktorem 6,25, což je hodnota, která vychází

ze skutečnosti, že bílkoviny obsahují 16 % dusíku. Jelikož je obsah dusíku v bílkovinách podle původu různý, byly vedle uvedeného univerzálního faktoru navrženy pro některé další potraviny odlišné faktory (obiloviny, mouka, chléb a těstoviny 5,70; sušené mléko 6,38; ořechy 5,30). Pokud není obsah dusíku příliš nízký, má metoda universální použití pro běžné potraviny a potravinářské suroviny [65], [66] .

4.1.1 Mineralizace

Při stanovení dusíku v biologických i jiných materiálech destruktivními technikami je rozklad vzorku významnou součástí bloku analytických operací, kterému souhrnně říkáme příprava vzorku k měření. Smyslem takové úpravy vzorku je dosažení jeho vhodnější konzistence, snížení viskozity a zvýšení homogenity. Ještě důležitější jsou hlediska chemická, především uvolnění analytu z různých vazeb a forem a odstranění složek, které mohou při měření interferovat.

K tomu, aby mohl proběhnout rozklad organické hmoty, je nutné překonání vysoké aktivační energie při její destrukci. Podle použitého postupu se metody rozkladu biologických vzorků dnes dělí na metody rozkladu na suché cestě, metody rozkladu na mokré cestě a ostatní metody rozkladu. Klasický mokrý rozklad se provádí ve směsi koncentrovaných minerálních kyselin za zvýšené teploty a při atmosférickém tlaku. Biologická matrice je oxidována příslušnými činidly a probíhající chemické reakce lze popsat dvěma kroky. Nejprve je rozrušena struktura matrice kyselou hydrolýzou a její meziprodukty jsou následně oxidovány. Mokrý rozklad probíhá v otevřeném systému pod zpětným chladičem [67].

4.2 Stanovení aminokyselin

Stanovení aminokyselin v potravinách je jedna z nejpracnějších a nejdražších analytických operací v oblasti analýz potravin vůbec. Stanovení aminokyselin je spojeno se dvěma okruhy problémů, jejichž optimální řešení dosud nebylo zcela nalezeno. V první řadě je nutné zajistit převedení aminokyselin, které jsou převážně vázané v bílkovinách, do formy volných aminokyselin a to bez ztrát těchto aminokyselin. V druhé řadě se musí zvolit taková metoda dělení a stanovení aminokyselin, která zaručuje dostatečnou přesnost a správnost, musí být dostatečně rychlá a experimentálně nenáročná.

4.2.1 Příprava hydrolyzátu pro stanovení aminokyselin

V peptidech a bílkovinách jsou aminokyseliny vzájemně vázány peptidovými vazbami, takže se z těchto vazeb musí uvolnit hydrolýzou. Podmínky hydrolýzy jsou důležitým faktorem pro přesnost určení aminokyselinového složení proteinu. V literatuře byl diskutován vliv koncentrace a čistoty použité kyseliny chlorovodíkové, doba a čas analýzy, přítomnost cukrů, aldehydů a kovů v matrici a kinetika hydrolýzy. Hydrolýza může probíhat v kyselém nebo alkalickém prostředí. Při kyselé hydrolýze je materiál hydrolyzován za varu přebytkem kyseliny chlorovodíkové. Výhodou kyselé hydrolýzy je, že nedochází k racemizaci,

a L – konfigurace aminokyselin zůstává zachována. Během hydrolýzy, která trvá 12 až 70 hodin při teplotě 100 až 110 °C, dochází k rozkladu tryptofanu a sirných aminokyselin, asparagin se hydrolyzuje na asparagovou kyselinu a glutamin na glutamovou kyselinu za uvolnění amoniaku ve formě amonné soli. Rychlost rozkladu peptidických vazeb se liší

podle struktury a druhu jednotlivých aminokyselin. Aminokyseliny uvolněné z peptidických vazeb mohou dále podléhat různým rozkladným reakcím. Pro stanovení přesných obsahů isoleucinu a valinu, které jsou obtížně uvolňovány ze svých peptidických vazeb, je používána hydrolýza po dobu 70 hodin, u threoninu a serinu podle různých autorů dochází ke ztrátám ve výši 3 – 16 %, u tyrosinu jsou uváděny ztráty kolem 1 – 14 %. Tyrosin může ještě být v přítomnosti oxidačních činidel oxidován nebo může přecházet na chloroderiváty. Pro získání údajů o skutečném obsahu labilních aminokyselin byla navržena řada metod. Ke korekci na nulový čas hydrolýzy se používá jednak grafická interpolace nebo řešení regresní analýzou – ty však vyžadují nejméně 4 – 5 dob hydrolýzy. Prakticky se kyselá hydrolýza provádí pod zpětným chladičem, ve speciálních ampulích, které jsou evakuovány a následně naplněny dusíkem nebo argonem případně v autoklávu [68], [69].

V současné době se k separaci a kvantifikaci aminokyselin používá výhradně metod vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC) nebo střednětlaké kapalinové chromatografie na iontoměničích [68].

4.2.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin

Aminokyseliny je možno oddělovat chromatografií založenou na výměně iontů. Chromatografická kolona je naplněna pryskyřicí s negativním nábojem. Aminokyseliny jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH, tím jsou všechny kladně nabity. Za těchto podmínek nastane chromatografické dělení. Při zvýšeném pH, zvýšené teplotě nebo vyšší iontové síle elučního roztoku dojde k dosažení izoelektrického bodu aminokyseliny. Tehdy ztrácí přitažlivost svých iontů k pryskyřici a aminokyselina je eluována z kolony. Izoelektrický bod molekuly je definován jako pH, při kterém molekuly v roztoku nenesou žádný náboj a je funkcí disociačních hodnot ionizovatelných skupin v molekule aminokyselin. Chromatografické dělení je umožněno tím, že jsou voleny takové podmínky, aby isoelektrické body jednotlivých aminokyselin byly dosaženy v různých časech [70].

U pryskyřic (ionexů) použitých pro analýzu aminokyselin, jsou proměnnými parametry rozměry částic, stupeň sulfonace a stupeň zesítení. Chromatografickou činnost analyzátorů aminokyselin ovlivňují ještě jiné parametry, jako jsou rozměry kolony, rychlost toku eluentu, teplota, přítomnost organických rozpouštědel apod [71].

Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 je 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 střednětlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou a ninhydrinovou detekcí. Ninhydrin je silné oxidační činidlo, které reaguje s α – aminoskupinou, uvolňuje amoniak, oxid uhličitý, aldehyd a redukovanou formu ninhydrinu hydrindantin. Uvolněný amoniak pak reaguje s hydrindantinem a další molekulou ninhydrinu a dává purpurovou substanci (Ruhemanova červeň). Hydrindantin přítomný v detekčním činidle zabraňuje vedlejší reakci, která by redukovala vznikající Ruhemanovou červeň, která má absorpční maximum při 570 nm. Tato absorbance je lineární funkcí přítomných α – aminoskupin. Reakce je vhodným základem pro stanovení všech organických sloučenin obsahujících aminoskupiny [71].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo určení stravitelnosti ve vybraných produktech z mořských a sladkovodních řas metodou *in vitro*, při němž byly jednotlivé řasy podrobeny 48 hodinovému působení pepsinu v kyselém prostředí.

Hodnoty stravitelnosti byly zjištěny jako rozdíl obsahu celkových dusíkatých látek stanovených v původním vzorku a celkový obsah dusíkatých látek stanovených v trávenině po působení pepsinu. Bylo provedeno srovnání s referenčním proteinem kaseinem, u něhož je předpokládána 100 %-ní stravitelnost a vyjádřeno jako relativní stravitelnost v jednotlivých vzorcích řas.

Pro stanovení nutriční hodnoty bílkovin je důležitá jejich aminokyselinová skladba, proto bylo také v produktech z mořských a sladkovodních řas stanoveno složení aminokyselin a zhodnocena jejich změna po působení enzymu ihned po natrávení. V trávenině byly stanoveny aminokyseliny po 20-ti dnech skladování při chladírenské teplotě a sledovány změny ve složení, z důvodu posouzení vhodnosti skladování tráveniny před vlastní analýzou aminokyselin.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Použité přístroje a pomůcky

Standardní laboratorní vybavení:

předvážky

analytické váhy – Explorer Pro model EP 214CM

chladnička

běžné laboratorní pomůcky a sklo

kuchyňský mixér – Vorwerk thermomix TM 31, Německo

destilační aparatura podle Parnase – Wagnera

mineralizátor – Digesdahl, model 23130-20, HACH (USA)

analyzátor aminokyselin – AAA 400 (INGOS, ČR)

vakuová odparka

termostat – Biological Termostat BT 120

termobloku – EVATERM, výrobce: Labicom

6.2 Materiál

Pro analýzu bylo použito devět produktů z řas, z nichž dva byly ze sladkovodních řas a sedm z mořských řas. Názvy produktů s dalšími charakteristikami jsou uvedeny v tabulce 1. Pro lepší orientaci jak v grafech, tak v tabulkách, jsou řasy řazeny za sebou v následujícím pořadí: první dvě řasy – Spirulina a Chlorella jsou sladkovodní, zbývající patří do mořských, přičemž Dulse a Nori patří do červených a Arame, Hiziky, Kombu, Wakame, Wakame instant do hnědých řas.

Tab. 1. Charakteristika řasových produktů.

produkt	výrobce	původ suroviny	řasa
Spirulina Pacifica (zelenomodrá řasa)	Nutrex, Inc. USA	Hawai	<i>Spirulina pacifica</i>
Chlorella Tabs (zelená sladkovodní řasa)	Chlorella centrum s.r.o.	Taiwan	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>
Dulse vločky BIO (červené mořské řasy)	Lifefood CR, s.r.o.	USA	<i>Palmaria palmata</i>
Nori vločky (červená mořská řasa)	Country life s.r.o	Japonsko	<i>Porphyra tenera</i>
Arame (hnědá mořská řasa)	Country life s.r.o	Japonsko	<i>Eisenia bicyclis</i>
Hiziky (hnědá mořská řasa)	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Hizikia fusiformes</i>
Wakame (hnědá mořská řasa)	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>
Wakame instant (hnědá mořská řasa)	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Undaria pinnatifida</i>
Kombu (hnědá mořská řasa)	Country life s.r.o.	Japonsko	<i>Laminaria japonica</i>

6.3 Metodika stanovení

Vlastní analýze předcházela úprava vzorku, která spočívala v homogenizaci řas, při níž byly vzorky mlety na kuchyňském mixéru 10 – 15 minut na velikost matrice 1 mm.

6.3.1 Stanovení dusíkatých látek dle Kjeldahla

Použité roztoky a chemikálie:

hydroxid sodný (30 % w/w) (Lach – Ner, s.r.o, Neratovice)

kyselina boritá (2 % w/w) (Lach – Ner, s.r.o, Neratovice)

kyselina sírová (konc.) (dodavatel ing.Petr Lukeš)

kyselina sírová (0,025 mol.l⁻¹) (dodavatel ing.Petr Lukeš)

peroxid vodíku (30 % w/w) (dodavatel ing. Petr Lukeš)

Tashirův indikátor

Na stanovení dusíkatých látek v původních řasách bylo naváženo 0,5 g s přesností 0,0001 g, na mineralizaci koncentráту řas po působení pepsinu byl odebrán 1 ml. Vzorek byl navážen do mineralizační baňky a k němu bylo přidáno 5 ml konc. H₂SO₄. Obsah baňky byl zahříván v mineralizátoru při 430 °C s přidáním závaží a chladiče. Obsah mineralizační baňky byl udržován za varu a po skončení pění bylo přidáno 5 ml H₂O₂ (30 % w/w) a zahříván až do vyčerení roztoku. Po ochlazení byl obsah mineralizační baňky kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a mineralizát byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

Dusík byl stanoven v Parnas – Wagnerově aparatuře. Do destilační baňky přístroje bylo napipetováno 10 ml mineralizátu a 20 ml roztoku hydroxidu sodného (30 % w/w). Amoniak uvolněný přidávkem 20 ml roztoku hydroxidu sodného (30 % w/w) byl předestilován v destilační aparatuře s vodní parou a jímán do titrační baňky s 50 ml roztoku kyseliny borité (2 % w/w). Po ukončení destilace, která probíhala 20 minut, byla provedena titrace roztokem H₂SO₄ (0,025 mol.l⁻¹) na Tashiro indikátor do stálého červenofialového zbarvení. Stejným způsobem byl stanoven obsah dusíkatých látek v kaseinu, pouze přepočítávací faktor byl použit 6,38.

Z množství spotřebované kyseliny sírové byl vypočítán obsah dusíku v řasách a vynásobením hodnot dusíku korekčním faktorem 6,25 bylo získáno množství hrubé bílkoviny neboli dusíkatých látek.

Výpočet obsahu dusíkatých látek % (w/w):

$$w = \frac{a \cdot 10^{-3} \cdot c \cdot M_n \cdot f_t \cdot f_z \cdot f_{př}}{n} * 100$$

a spotřeba odměrného roztoku H₂SO₄ při titraci [ml]

c (H₂SO₄) koncentrace odměrného roztoku H₂SO₄ (0,025 mol .l⁻¹)

M_N molární hmotnost dusíku (M_N = 14,01 g.mol⁻¹)

f_t titrační faktor (f_t = 2)

f_z zředovací faktor ($f_z = 5$)

f_{pr} korekční faktor (6,25)

n navážka vzorku, která byla zmineralizována [g]

6.3.2 Stanovení obsahu dusíkatých látek v trávenině

Dusíkaté látky v trávenině byly stanoveny podle metody ÚKZUZ – Stanovení obsahu dusíkatých látek rozpustných působením pepsinu [72].

Použité roztoky a chemikálie:

kyselina chlorovodíková ($0,075 \text{ mol.l}^{-1}$) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

kyselina chlorovodíková (7 mol.l^{-1}) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

pepsin (z vepřové žaludeční sliznice, 0,7 FIP – U/mg, Merck KGaA, Germany)

K přípravě tráveniny bylo odváženo 5 g vzorku s přesností 0,001 g a převedeno kvantitativně do odměrné baňky 250 ml pomocí 225 ml inkubačního roztoku pepsinu, předem zahřátého na teplotu 40 °C. Inkubační roztok byl připraven vždy čerstvý tak, že 2 g pepsinu bylo rozpuštěno v 1000 ml kyseliny chlorovodíkové ($0,075 \text{ mol.l}^{-1}$) předem zahřáté na teplotu 40 °C. Inkubační roztok pepsinu byl přidáván ke vzorku vždy po částech s průběžným promícháváním a před přidáním posledního přídávku byla směs důkladně promíchána, aby se rozrušila aglomerace vzorku. Posledním přídávkem tohoto roztoku byly opláchnuty stěny baňky a zkontrolováno pH, jehož hodnota musela být nižší než 1,7. Zazátkovaná baňka byla inkubována 48 hodin v termostatu při 40 °C, přičemž vždy po 6, 24 a 32 hodinách bylo s baňkami mícháno, aby byl zajištěn styk veškeré hmoty s roztokem.

Po 48 hodinách inkubace bylo ke vzorku přidáno 7,5 ml kyseliny chlorovodíkové (7 mol.l^{-1}), obsah byl vytemperován na teplotu laboratoře, přičemž došlo k omezení působení pepsinu a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku a promíchána. Potom byl vzorek filtrován pomocí vývěvy přes filtr (Filtrac 390) do suché kádinky, přičemž první podíl filtrátu nebyl zachycován.

Alikvotní podíl 100 ml filtrátu byl odpařen na vakuové odparce a odparek byl převeden redestilovanou vodou do odměrné baňky o objemu 10 ml. Tento koncentrát byl dále použit pro analýzu dusíkatých látek a aminokyselin.

6.3.3 Stanovení aminokyselin

Obsah aminokyselin byl stanoven v původních řasách a v tráveninách ihned po působení pepsinu a po 20-ti dnech skladování tráveniny při chladírenské teplotě 5 °C, aby bylo možné posoudit vliv skladování na změny aminokyselin v trávenině. Vlastnímu stanovení aminokyselin předcházela hydrolýza vzorků, která byla provedena třemi způsoby v závislosti na stanovovaných aminokyselinách. Pro stanovení v původních vzorcích byly navážky voleny od 0,2 – 0,5 g, k hydrolýze tráveniny bylo pipetováno 1 – 1,5 ml podle předpokládaného obsahu aminokyselin. Pro otevřenou hydrolýzu byly navážky desetkrát nižší. Na analyzátoru aminokyselin bylo stanoveno sedmnáct aminokyselin, z nichž sedm bylo esenciálních, přičemž nebyl analyzován tryptofan.

Použité roztoky a chemikálie:

kyselina chlorovodíková (6 mol.l⁻¹) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

kyselinou chlorovodíkovou (0,1 mol.l⁻¹) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

peroxid vodíku (30 % w/w) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

kyselina mravenčí (85 % w/w) (dodavatel: ing. Petr Lukeš)

sodnocitrátový pufr pH 2,2 (0,2 M)

Při otevřené kyselé hydrolýze bylo k navážkám vzorku přidáno 150 ml kyseliny chlorovodíkové (6 mol.l⁻¹). Takto připravené vzorky byly udržovány v olejové lázni 23 hodin. Obsah hydrolyzační baňky byl poté převeden přes filtrační nálevku do odměrné 250 ml baňky a doplněn kyselinou chlorovodíkovou (0,1 mol.l⁻¹). Z tohoto roztoku byl odpipetován alikvotní podíl 25 ml a odpařen na vakuové odparce do sirupovité konzistence při teplotě maximálně 50 °C. Odparek byl převeden do 25 ml odměrné baňky pomocí tlumivého roztoku (pH 2,2), z něhož byl 1 ml zfiltrován na mikrofiltru (0,45 μm) a použit pro analýzu aminokyselin na přístroji AAA 400.

Uzavřená kyselá hydrolyza v termobloku byla použita pro hydrolyzu tráveniny, přičemž 0,1 ml vzorku bylo napipetováno do hydrolyzační ampule, z níž byl vytěsněn kyslík argonem, aby nevznikaly peroxidy, které by mohly explodovat. Hydrolyza v termobloku probíhala 23 hodin, poté byl další postup shodný s otevřenou hydrolyzou.

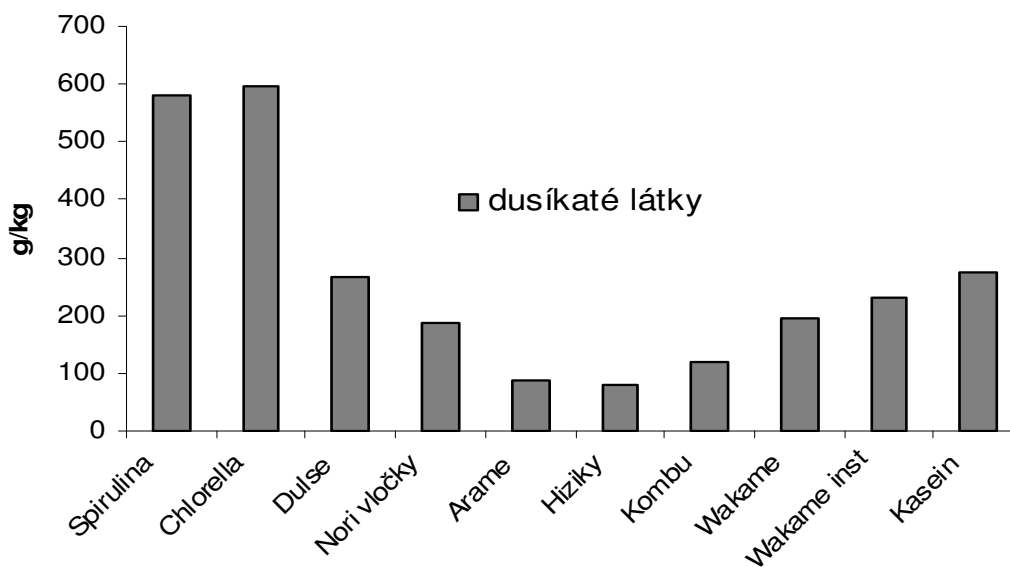
Pro oxidační hydrolyzu byla použita oxidační směs připravena z 90 ml kyseliny mravenčí a 10 ml peroxidu vodíku, ponechána 2 hodiny při laboratorní teplotě a poté 20 minut chlazená v chladničce. K navážce vzorku případně alikvotnímu objemu tráveniny ve varné baňce bylo přidáno 15 ml této oxidační směsi. Po opatrném rozmíchání byly baňky umístěny do chladničky při 0 až 4 °C na dobu 16 hodin. K oxidovanému vzorku byl přidán 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a po vyšumění dalších 150 ml kyseliny chlorovodíkové (6 mol.l⁻¹). Takto připravené vzorky byly hydrolyzovány pod zpětným chladičem v olejové lázni po dobu 23 hodin. Po ukončení hydrolyzy byly vzorky přefiltrovány do 250 ml odměrné baňky a doplněny kyselinou chlorovodíkovou (0,1 mol.l⁻¹). Z tohoto roztoku bylo odpipetováno 25 ml, které byly odpařeny na rotační vakuové odparence do sirupovité konzistence při teplotě maximálně 50 °C. Odparek byl pomocí nálevky převeden do 25 ml odměrné baňky tlumivým roztokem o pH 2,2. Z tohoto zásobního roztoku byl 1 ml vzorku zfiltrován na mikrofiltru (0,45 μm) a použit na analýzu aminokyselin na přístroji AAA 400.

Stejným způsobem byly stanoveny i aminokyseliny v kaseinu a v trávenině po 20-ti dnech.

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

7.1 Obsah dusíkatých látek

Stanovení dusíkatých látek bylo provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 6.3.1.



Graf 1 Obsah dusíkatých látek v mořských a sladkovodních řasách

Sladkovodní řasy vykazovaly vyšší hodnoty dusíkatých látek než mořské řasy, přičemž Chlorella obsahovala $595,8 \text{ g.kg}^{-1}$ a Spirulina $580,1 \text{ g.kg}^{-1}$ (Graf 1).

V mořských řasách byly zjištěny velmi rozdílné hodnoty dusíkatých látek, i mezi jednotlivými druhy, které se pohybovaly v rozmezí od $78,2 - 265,3 \text{ g.kg}^{-1}$. Přičemž vyšší hodnoty vykazovaly červené mořské řasy: Dulse $265,3 \text{ g.kg}^{-1}$ a Nori $187,1 \text{ g.kg}^{-1}$. V případě hnědých řas byly nejvyšší hodnoty dusíkatých látek zjištěny ve Wakame instant $229,0 \text{ g.kg}^{-1}$ a Wakame $196,3 \text{ g.kg}^{-1}$ a nejnižší hodnoty ve vzorku Hiziky $78,2 \text{ g.kg}^{-1}$, Arame $89,2 \text{ g.kg}^{-1}$ a Kombu $119,7 \text{ g.kg}^{-1}$. Hodnoty dusíkatých látek v kaseinu byly $275,1 \text{ g.kg}^{-1}$, což je srovnatelné s hodnotami červených mořských řas, přičemž sladkovodní řasy převyšovaly jeho množství dvojnásobně.

Hodnoty dusíkatých látek, stejně jako u ostatních nutričních složek, jsou ve vyšetřovaných řasách závislé na mnoha faktorech a proto se jejich hodnoty v různých publikacích liší.

V případě sladkovodních řas zjištěné hodnoty dusíkatých látek odpovídaly publikovaným hodnotám (viz. kap. 3.1.3), zatímco u červených řas, zvláště u Nori byly zjištěné hodnoty dusíkatých látek nižší než je uváděno (viz. kap. 3.1.1).

V publikovaných studiích je používán korekční faktor 6,25, tato hodnota bývá použita za předpokladu, že protein obsahuje 16 g dusíku a obsah neproteinového dusíku je zanedbatelný. Někteří autoři navrhují změnu tohoto faktoru z důvodu přítomnosti vyššího obsahu neproteinového dusíku, který může být v řasách ve formě volných aminokyselin, chlorofylů a dusičnanů a navrhují proto tento faktor pro červené řasy 4,59, pro hnědé 5,38 a pro zelené 5,13 nebo je navrhován pro řasy univerzální faktor 4,92. Zavedením nižšího faktoru by došlo ke snížení obsahu dusíkatých látek v řasách a přehodnocení nutriční hodnoty jejich proteinů. Na druhé straně obsah volných aminokyselin může kompenzovat ztrátu aminokyselin při hydrolýze vzorku [73].

7.2 Stanovení stravitelnosti

Stravitelnost mořských a sladkovodních řas byla stanovena rozdílem obsahu dusíkatých látek v původním vzorku a po působení pepsinu vyjádřena v procentech (S_1) (Tab. 2). Tyto hodnoty byly porovnány s referenčním proteinem, v tomto případě kaseinem, jehož stravitelnost je považována za 100 %-ní a vyjádřeno jako relativní stravitelnost jednotlivých řas ke kaseinu (S_2), (Graf 2).

Tab. 2. Obsah dusíkatých látek před a po působení proteolytického enzymu.

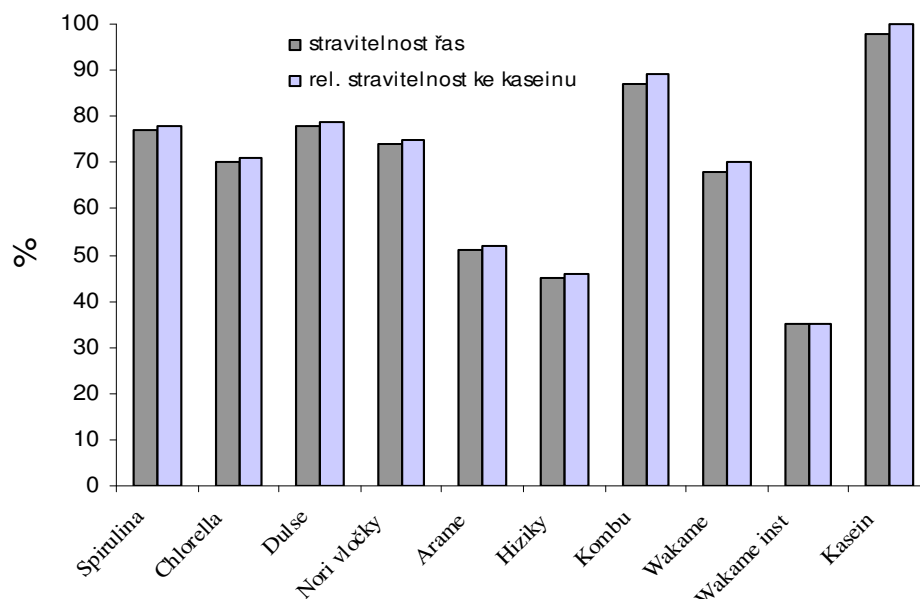
produkt	NL ₀ (g.kg ⁻¹)	NL ₁ (g.kg ⁻¹)	S ₁ (%)	S ₂ (%)
Spirulina Pacifica	580,1	448,3	77	78
Chlorella Tabs	595,8	419,8	70	71
Dulce vločky BIO	265,3	206,6	78	79
Nori vločky	187,1	138,4	74	75
Arame	89,2	45,4	51	52
Hiziky	78,2	35,0	45	46
Kombu	119,7	104,0	87	89
Wakame	196,3	134,2	68	70
Wakame – instant	229,0	79,1	35	35
Kasein	275,1	269,4	98	100

NL₀ – obsah dusíkatých látek před působením enzymu, NL₁ – obsah dusíkatých látek po působení enzymu, S₁– stravitelnost, S₂ – relativní stravitelnost vztažena ke kaseinu.

Nejvyšší hodnoty stravitelnosti ve vztahu ke kaseinu byly zjištěny u sladkovodních a červených mořských řas (Tab. 2). Mezi těmito dvěma skupinami byly zjištěny malé rozdíly, z nich Dulce (79 %) a Spirulina (78 %) vykazovala vyšší stravitelnost než Nori (75 %) a Chlorella (71 %). V případě sladkovodních řas lze vysokou stravitelnost zdůvodnit tím, že byly vyšetřeny nutriční doplňky nikoliv přírodní řasy. Chlorella má mimořádně pevný a odolný buněčný celulosový obal, který chemismus lidského trávicího ústrojí není schopen sám rozrušit tak, aby živiny mohly být využity. Proto je prováděna její dezintegrace, přičemž dojde k narušení pevného obalu při zachování jejího vnitřního obsahu a tím je zvýšena její stravitelnost lidským organismem.

Vysoká stravitelnost Dulce (79 %) může souviset s tím, že obecně obsahuje malé množství fenolických sloučenin, které se podílí na inhibiční činnosti proteolytických enzymů [46].

V případě červených řas byly námi stanovené hodnoty stravitelnosti vyšší než uvádějí publikace a to téměř o 18 % [75].



Graf 2 Porovnání stravitelnosti jednotlivých řas

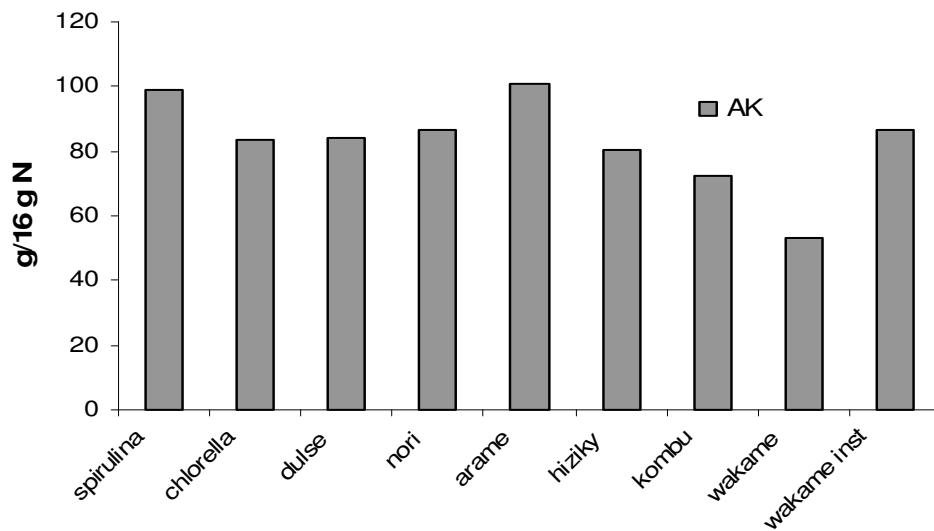
Na proměnlivou stravitelnost lze poukázat u hnědých řas, kde byla zařazena řasa s nejvyšší i nejnižší stravitelností v rámci analyzovaných řas. Nejvyšší stravitelnost byla stanovena u Kombu (89 %), naopak nejnižší byla stanovena u Wakame instant (35 %), Hiziky (46 %) a Arame (52 %) měly stravitelnost spíše nižší. U produktu pocházející ze stejné řasy *Undaria pinnatifida* – Wakame (70 %) a Wakame instant (35 %) byla stravitelnost určena dost rozdílná. Zjištěné hodnoty v rámci hnědých řas byly mnohem vyšší než publikované údaje, které pro řasu Wakame stanovili hodnotu relativní stravitelnosti ke kaseinu 24 % [3]. Bylo zjištěno, že trávení bílkovin řas metodou in vitro závisí na použitém enzymu, přičemž trávení trypsinem je nejvyšší a nejnižší chymotrypsinem [46].

7.3 Složení aminokyselin v řasách

Stanovení aminokyselin v jednotlivých řasách bylo provedeno podle postupu popsaného v kapitole 6.3.3. V příloze P I až P X jsou uvedeny složení aminokyselin v jednotlivých řasách a kaseinu před i po působení pepsinu.

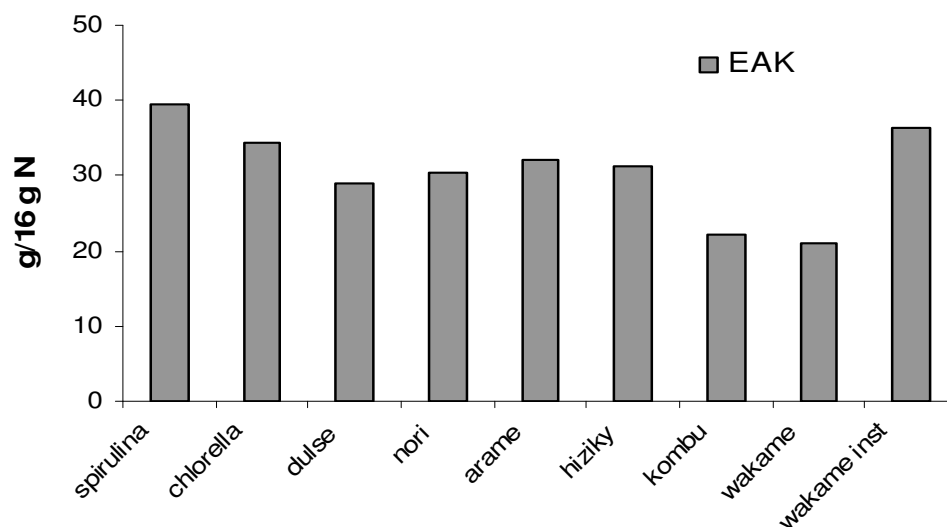
V grafu 3 jsou znázorněny celkové obsahy aminokyselin v jednotlivých řasách. Celkový obsah aminokyselin byl nejvyšší v řase Arame 101 g/16 g N, následovala Spirulina

99 g/16 g N, Wakame instant 87 g/16 g N, Nori 86 g/ 16 g N, Dulse 84 g/16 g N, Chlorella 83 g/16 g N, Hiziky 80 g/16 g N, Kombu 72 g/16 g N a Wakame 52 g/16 g N.



Graf 3 Celkový obsah aminokyselin v jednotlivých řasách

Z hlediska esenciálních aminokyselin byla ze všech vyšetřovaných řas nejbohatší Spirulina u níž celkový obsah esenciálních aminokyselin činil 31,99 g/16 g N, z analyzovaných řas měla největší obsah leucinu, threoninu, valinu, isoleucinu (Graf 4). Poté následovala Wakame instant s celkovým obsahem esenciálních aminokyselin 36,41 g/16 g N, přičemž měla nejvyšší obsah methioninu, fenylalanin, zatímco Chlorella obsahovala nejvíce lysinu. Nejméně esenciálních aminokyselin obsahovala Wakame s hodnotou 20,9 g/16 g N.



Graf 4 Celkový obsah esenciálních aminokyselin v jednotlivých řasách

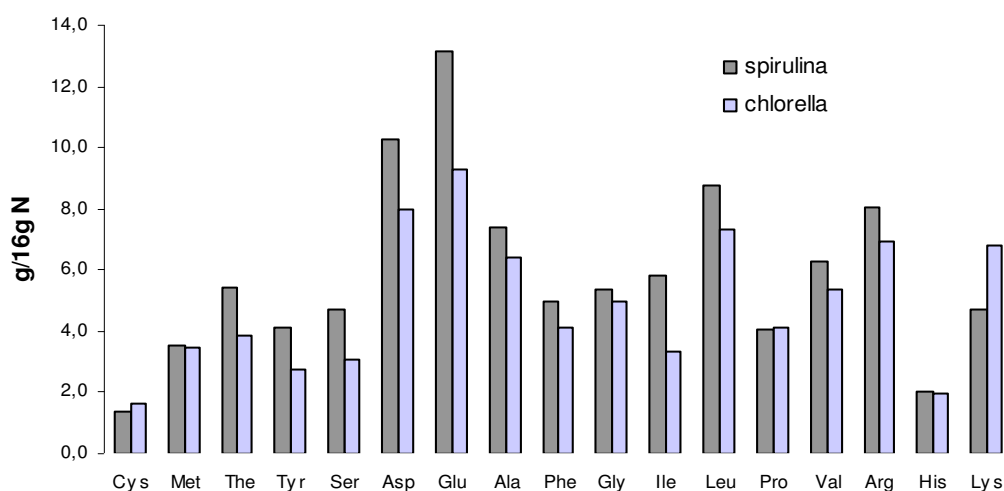
7.3.1 Složení aminokyselin ve sladkovodních řasách

Vzájemným porovnáním obsahu jednotlivých aminokyselin ve sladkovodních řasách lze říci, že *Spirulina* byla bohatším zdrojem aminokyselin 99,1 g/16 g N než *Chlorella* 83,46 g/16 g N, protože obsahovala, kromě lysinu a cysteinu, všechny ostatní aminokyseliny ve větším množství.

Nejvíce zastoupenými aminokyselinami ve sladkovodních řasách *Spirulině* i *Chlorelle* byla glutamová, po ní následovala asparagová kyselina, shodné bylo i další pořadí, kdy následoval leucin a arginin. Aminokyselina s nejmenším obsahem byla v obou případech cystein

a histidin (Graf 5).

Z esenciálních aminokyselin bylo u *Spiruliny* i *Chlorelly* nejvíce leucinu, zatímco *Spirulina* měla vyšší obsah všech esenciálních aminokyselin, kromě lysinu, kterého bylo přítomno více u *Chlorelly*. Limitující aminokyselina byla u *Spiruliny* methionin a u *Chlorelly* isoleucin.

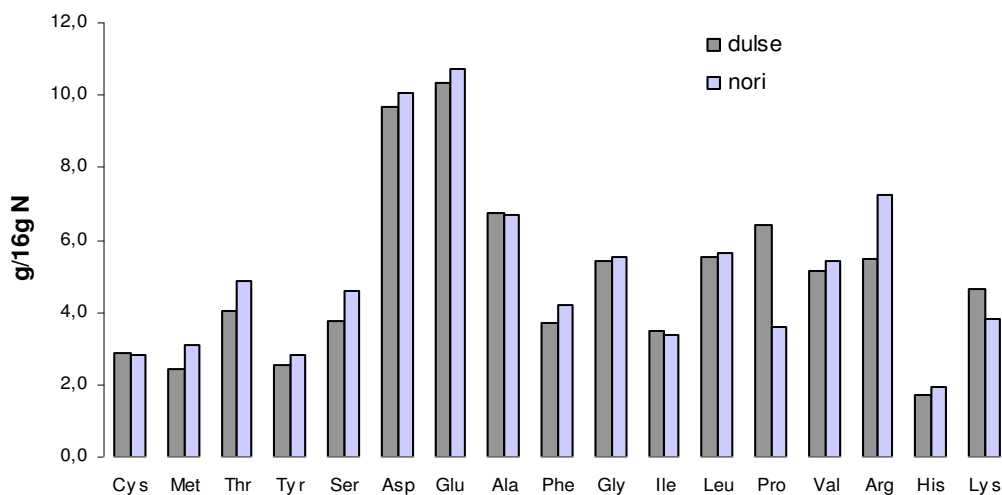


Graf 5 Složení aminokyselin ve sladkovodních řasách *Spirulina pacifica* a *Chlorella pyrenoidosa*

7.3.2 Složení aminokyselin v červených mořských řasách

U obou červených mořských řas *Dulse* a *Nori* byla nejvíce zastoupena aminokyselina glutamová, následována asparagovou, po níž u *Dulse* následoval alanin a prolin, zatímco u *Nori* arginin a poté alanin. Nejméně byl přítomen v obou řasách histidin, následovaný u *Dulse* methioninem, kdežto u *Nori* tyrosinem (Graf 6).

Z celkového obsahu aminokyselin bylo vyvozeno, že Nori měla lepší zastoupení aminokyselin 101 g/16 g N i s ohledem na složení jednotlivých esenciálních aminokyselin, protože mimo cysteinu, prolinu a dvou esenciálních aminokyselin isoleucinu a lysinu, bylo zastoupení aminokyselin ve větším množství než u Dulse 84 g/16 g N. U Dulse i Nori byla limitující aminokyselina methionin, zatímco z esenciálních aminokyselin byl nejvíce zastoupen leucin.



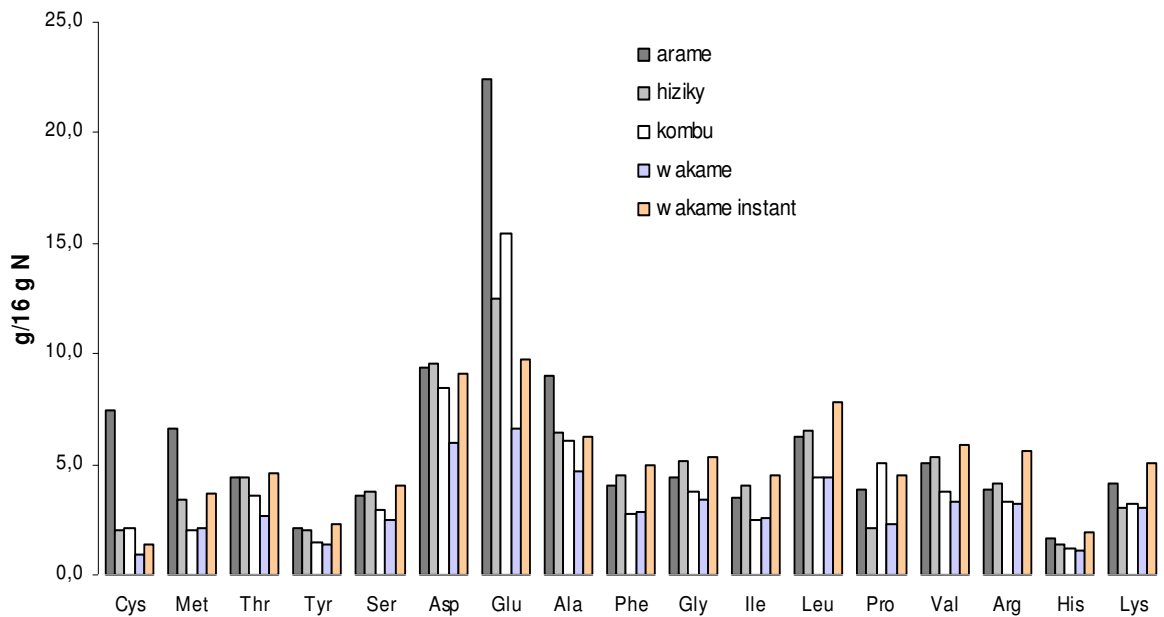
Graf 6 Složení aminokyselin v červených mořských řasách *Palmaria palmata* (Dulce) a *Porphyra tenera* (Nori)

7.3.3 Složení aminokyselin v hnědých mořských řasách

Složení aminokyselin hnědých mořských řas bylo hodnoceno v grafu 7. U všech těchto analyzovaných řas převládala kyselina glutamová následovaná asparagovou. Kyselina glutamová měla v řase Arame téměř dvojnásobné množství než u ostatních hnědých řas. Poté následoval alanin a v řasách Hiziky a Wakame instant leucin. Nejméně zastoupenou aminokyselinou v těchto řasách byl opět histidin, kromě Wakame instant, kde to byl cystein.

Porovnáním obsahu aminokyselin jednotlivých hnědých řas bylo určeno, že Arame měla nejvyšší obsah aminokyselin 102 g/16g N, následovala Wakame instant 84,8 g/16g N, Hiziky 80,17 g/16g N, Kombu 72 g/16g N, Wakame 52 g/16g N.

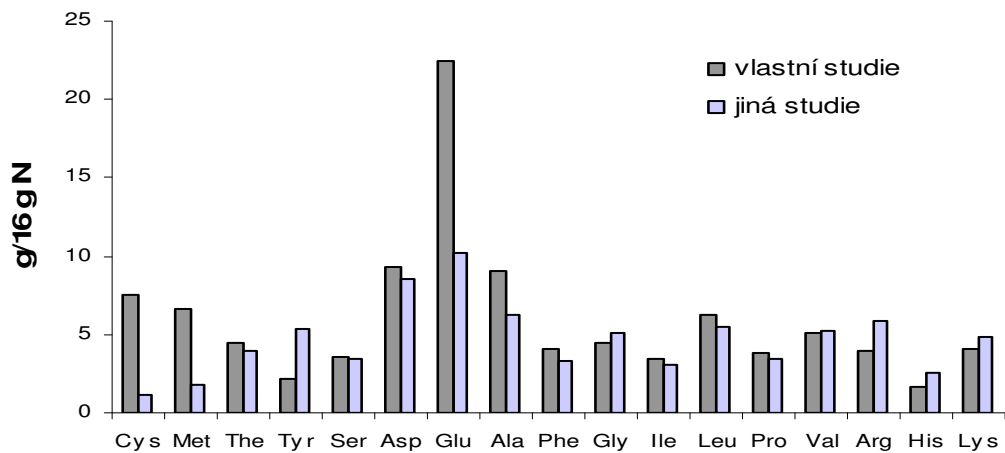
Je zajímavé, že Wakame, pocházející ze stejné řasy jako Wakame instant (*Undaria pinnatifida*), měla zastoupení jednotlivých aminokyselin ze všech hnědých řas nejnižší.



Graf 7 Složení aminokyselin v hnědých mořských řasách

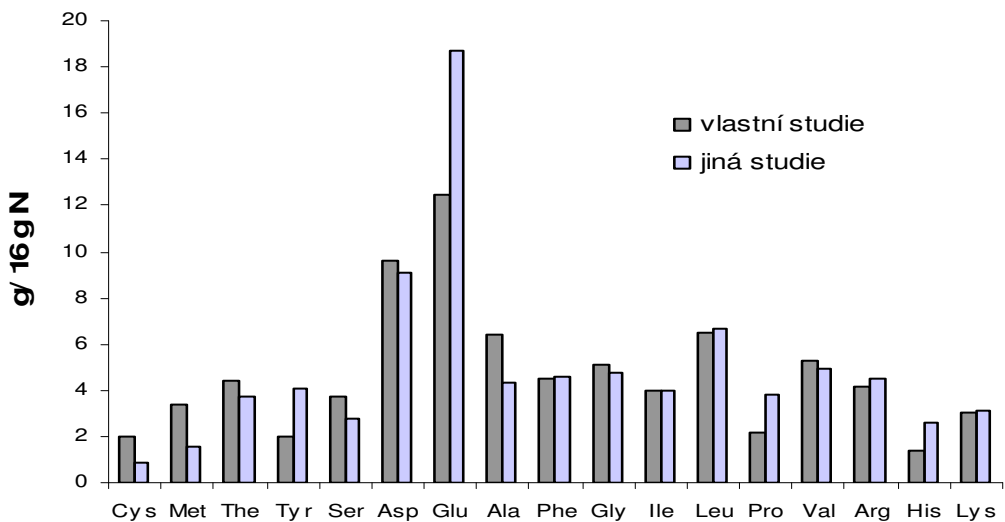
Z esenciálních aminokyselin obsahovaly všechny hnědé řasy největší množství leucinu, kromě Arame, u které to byl methionin. Limitující aminokyselina byla u Kombu, Wakame a Wakame instant methionin, u Arame to byl isoleucin a u Hiziky lysin. Wakame instant byl nejbohatším zdrojem na esenciální aminokyseliny z hnědých řas, jelikož obsahoval nejvyšší množství threoninu, fenylalaninu, isoleucinu, leucinu, valinu, lysinu.

Bylo provedeno srovnání aminokyselin s hodnotami v jiné studii [74], [75] v rámci jedné červené (*Porphyra tenera*) (Graf 8) a jedné hnědé mořské řasy (*Hizikia fusiformes*) (Graf 9). Nejvíce zastoupenou aminokyselinou v červených i hnědých řasách ve výše zmíněné studii byla kyselina glutamová – taktéž jako analýzou v této práci.



Graf 8 Porovnání aminokyselinového složení červené mořské řasy Nori (*Porphyra tenera*) stanovené v této práci a jinou studií

V obou pracích byla limitující aminokyselina červených řas methionin. Limitující aminokyselinou v hnědých řasách v jiné studii byl methionin, zatímco analýzou v této práci byl stanoven lysin.



Graf 9 Porovnání aminokyselinového složení hnědé mořské řasy Hiziky (*Hizikia fusiformes*) stanovené v této práci a jinou studií

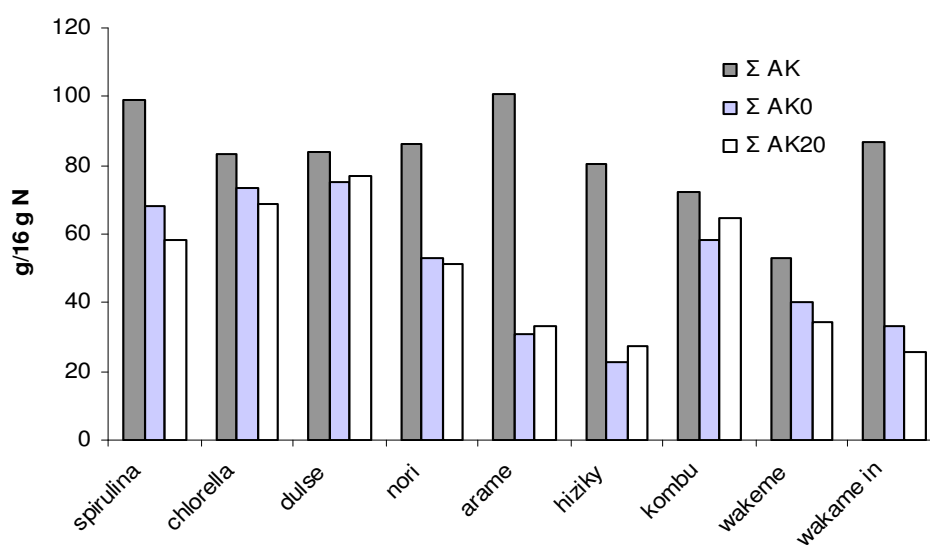
7.4 Obsah aminokyselin v trávenině

7.4.1 Obsah aminokyselin v trávenině ihned po působení enzymu

V trávenině byly stanoveny aminokyseliny a porovnány s obsahem v původním vzorku. V tabulce 3 jsou zaznamenány hodnoty A_0 , které vyjadřují změnu původního obsahu aminokyselin a jsou vyjádřeny v %. V grafu 10 jsou znázorněny změny celkových aminokyselin ihned po natrávení (AK_0) i po 20-ti dnech (AK_{20}).

Hodnocení bylo provedeno podle skupin aminokyselin rozdělených na základě jejich chemických vlastností, pro srovnání jsou uvedeny změny kaseinu (Tab. 3).

Z grafu 10 lze usoudit, že v trávenině hnědých řas bylo z původního množství nejméně aminokyselin obsaženo především u Arame, Hiziky a Wakame instant, kdy došlo k velkým úbytkům oproti původnímu množství. K nejmenším změnám aminokyselin došlo u Chlorelly a Dulse.



Graf 10 Grafické znázornění změn celkového obsahu aminokyselin v trávenině

K největším úbytkům došlo v případě sirných aminokyselin cysteinu a methioninu v hnědých řasách Arame a Hiziky. Naopak nejmenší změny byly zjištěny ve sladkovodní řase Spirulině a červené mořské řase Dulse, přičemž u Chlorelly a Dulse byly zjištěny poloviční hodnoty z původního množství.

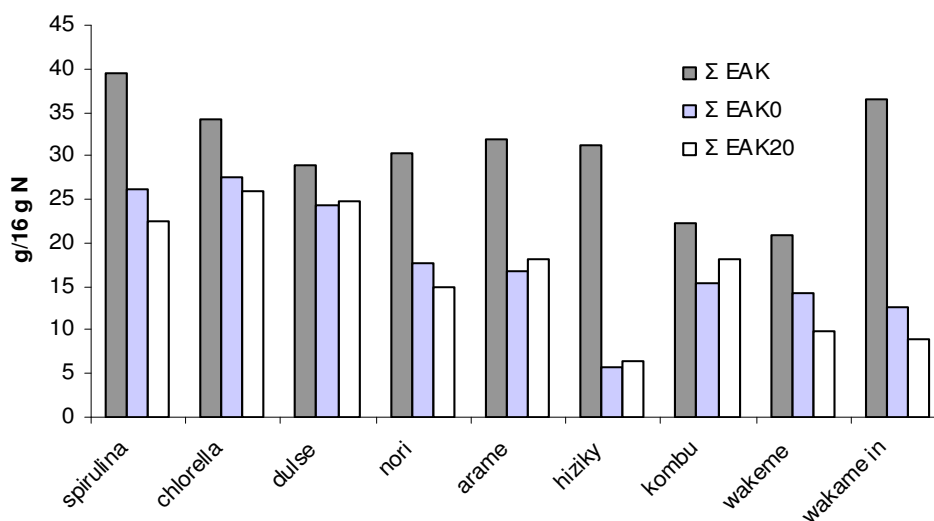
V případě hydroxykyselin nelze jednoznačně určit změny podle druhu řas. K největšímu úbytku došlo opět u Arame a Hiziky. Nejvíce threoninu bylo v Chlorelle, dokonce více než u kaseinu, přičemž Dulse, Kombu a Wakame měli vyšší procento threoninu než Spirulina. Tyrosinu bylo nejvíce v Kombu, opět více než v kaseinu a serinu bylo nejvíce v Dulse, kdy spolu s Chlorellou, Kombu a Wakame převyšovala hodnotu kaseinu.

V případě nejvíce zastoupených aminokyselin v řasách – kyseliny asparagové a glutamové, nelze říci, že byly změny jejich obsahů v jednotlivých řasách závislé na druhu. K nejmenšímu úbytku došlo u Chlorelly, Dulse, Kombu, přičemž jejich množství bylo vyšší než v trávěnině kaseinu. K největším úbytkům došlo opět u hnědých řas Arame a Hiziky.

Změny neutrálních aminokyselin nebyly opět závislé na skupině řas. Největší obsah byl v trávěnině Chlorelly, Dulse a Kombu. V trávěnině Chlorelly bylo obsaženo nejvíce alaninu, což bylo i více než v trávěnině kaseinu. V Chlorelle bylo také nejvíce glycinu, isoleucinu a valinu. Největší úbytek těchto aminokyselin byl zjištěn v trávěnině Hiziky.

U basických aminokyselin nelze změny rozlišit podle druhu řas. K největším úbytkům došlo opět u hnědých řas. Nejvíce argininu bylo zjištěno v trávěnině Chlorelly, Dulse, Kombu, přičemž ve všech případech přesahoval hodnotu v kaseinu.

V grafu 11 jsou znázorněny změny celkových esenciálních aminokyselin ihned po natrávení a po 20-ti dnech. Z tohoto grafu lze usoudit, že k největším změnám esenciálních aminokyselin došlo u hnědé řasy Hiziky a Wakame instant.



Graf 11 Grafické znázornění celkového obsahu esenciálních aminokyselin

V případě esenciálních aminokyselin threoninu, fenylalaninu, isoleucinu, leucinu a valinu byly největší obsahy zjištěny v trávěnině Chlorelly, která obsahovala i více threoninu a valinu než kasein. Trávenina Dulse obsahovala největší koncentrace methioninu a fenylalaninu ze všech vyšetřovaných řas.

Tab.3. Obsah aminokyselin v trávěnině řas k původnímu množství (%).

		A ₀ (%)									
		Sladkovodní řasy		Červené řasy		Hnědé řasy					Kasein
		Spirulina	Chlorella	Dulse	Nori	Arame	Hiziky	Kombu	Wakame	Wak. in	
Sírné	Cys	86	71	82	45	4	12	30	33	17	97
	Met	69	57	86	51	2	3	39	18	17	97
Hydroxy	Thr	72	95	91	55	27	26	83	80	40	92
	Tyr	62	80	84	68	29	30	98	41	54	91
	Ser	64	90	96	53	34	30	93	88	41	78
Kys.	Asp	76	96	95	64	28	37	84	85	43	97
	Glu	70	99	99	67	52	47	94	88	42	94
Neutrální	Ala	64	95	89	53	41	33	80	74	38	57
	Phe	61	79	79	51	14	17	69	65	32	89
	Gly	68	93	85	65	41	30	91	87	43	98
	Ile	65	85	82	61	20	19	71	70	35	84
	Leu	64	84	85	60	16	15	65	68	35	92
	Pro	73	92	96	67	45	42	81	70	38	90
	Val	64	87	83	60	18	17	66	70	37	84
Bazické	Arg	69	95	91	70	26	19	91	95	45	87
	His	71	95	83	72	44	37	78	67	41	91
	Lys	73	75	81	68	27	34	79	88	42	71

7.4.2 Vyhodnocení změn aminokyselin v trávěnině po 20-ti dnech

Pro stanovení vlivu doby skladování na obsah aminokyselin byla trávenina ponechána po dobu 20-ti dnů při teplotě 5 °C a po této době byly stanoveny obsahy aminokyselin. Tato zkouška byla provedena ke zjištění vhodnosti skladovat tráveninu před vlastní analýzou v případě malé kapacity přístroje na analýzu aminokyselin.

Porovnáním aminokyselin stanovených v trávěnině ihned po natrávení a po 20-ti dnech (A₂₀) skladování byly zjištěny změny v aminokyselinovém složení mezi jednotlivými dru-

hy řas, ale také mezi jednotlivými druhy v rámci jedné skupiny a to i v kaseinu, který byl použit jako referenční protein. Po 20-ti dnech skladování došlo v případě kaseinu k nárůstu většiny aminokyselin, pouze u cysteinu došlo ke snížení (Tab. 4, 5).

V rámci sladkovodních řas bylo možno u Chlorelly zaznamenat nárůst methioninu a tyrosinu, u všech ostatních aminokyselin došlo k poklesu. V případě Spiruliny došlo ke snížení obsahu všech aminokyselin.

V červené řase Dulse došlo k poklesu u čtyř aminokyselin, v Nori to bylo deset aminokyselin. Změny aminokyselin po 20-ti dnech v trávenině hnědých řas jsou velmi různé. V Hiziky došlo k nárůstu všech aminokyselin, naopak ve Wakame instant ke snížení obsahu všech aminokyselin, ve Wakame byly zvýšeny tři aminokyseliny, v Kombu se zvýšil obsah u čtrnácti a v Arame u osmi aminokyselin.

Jen v několika případech nedošlo k žádné změně ve složení aminokyselin po této době skladování tráveniny. U Dulse nedošlo ke změně v obsahu serinu a fenylalaninu, u Nori nedošlo ke změně koncentrace u threoninu, u Arame se nezměnil po této době cystein, methionin a fenylalanin a u Hiziky se nezměnila koncentrace tyrosinu, fenylalaninu, valinu.

Po 20-ti dnech došlo ke změnám aminokyselin v trávenině, ať jejich přírůstkem nebo úbytkem, tyto změny nebyly závislé na druhu řas ani na vlastnostech aminokyselin. Z toho vyplývá, že není vhodné skladovat tráveninu po inaktivaci enzymu vzhledem ke změnám v jejich obsahu, ale je nutné stanovit aminokyseliny ihned po natrávení.

Tab. 4. Změny jednotlivých aminokyselin po 20-ti dnech – Spirulina, Chlorella, Dulse, Nori, kasein.

%	SLADKOVODNÍ ŘASY						ČERVENÉ MOŘSKÉ ŘASY						KASEIN		
	SPIRULINA			CHLORELLA			DULSE			NORI					
AK	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z
Cys	86	63	↓	71	68	↓	82	80	↓	45	43	↓	86	63	↓
Met	69	53	↓	57	60	↑	86	90	↑	51	29	↓	69	53	↓
The	72	57	↓	95	87	↓	91	88	↓	53	53	-	72	57	↓
Tyr	62	55	↓	80	81	↑	84	82	↓	55	54	↓	62	55	↓
Ser	64	52	↓	90	88	↓	96	96	-	68	59	↓	64	52	↓
Asp	76	63	↓	96	86	↓	95	99	↑	64	71	↑	76	63	↓
Glu	70	58	↓	99	91	↓	99	97	↓	67	69	↑	70	58	↓
Ala	64	54	↓	95	85	↓	89	93	↑	53	48	↓	64	54	↓
Phe	61	54	↓	79	76	↓	79	79	-	51	42	↓	61	54	↓
Gly	68	59	↓	93	86	↓	85	89	↑	65	71	↑	68	59	↓
Ile	65	57	↓	85	80	↓	82	86	↑	61	48	↓	65	57	↓
Leu	64	57	↓	84	79	↓	85	86	↑	60	45	↓	64	57	↓
Pro	73	64	↓	92	85	↓	96	98	↑	67	73	↑	73	64	↓
Val	64	57	↓	87	79	↓	83	87	↑	60	50	↓	64	57	↓
Arg	69	61	↓	95	91	↓	91	98	↑	70	77	↑	69	61	↓
His	71	62	↓	95	84	↓	83	88	↑	72	61	↓	71	62	↓
Lys	73	64	↓	75	70	↓	81	86	↑	68	69	↑	73	64	↓

Tab. 5. Změny jednotlivých aminokyselin po 20-ti dnech – Arame, Hiziky, Kombu, Wakame, Wakame instant.

%	HNĚDÉ MOŘSKÉ ŘASY														
	ARAME			HIZIKY			KOMBU			WAKAME			WAKAME INS		
AK	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z	T0	T20	Z
Cys	4	4	-	12	15	↑	30	66	↑	33	30	↓	17	15	↓
Met	2	2	-	3	4	↑	39	78	↑	18	16	↓	17	14	↓
The	27	28	↑	26	33	↑	83	90	↑	80	58	↓	40	32	↓
Tyr	29	26	↓	30	30	-	98	95	↓	41	31	↓	54	35	↓
Ser	34	38	↑	30	39	↑	93	91	↓	88	67	↓	41	37	↓
Asp	28	29	↑	37	39	↑	84	91	↓	85	67	↓	43	34	↓
Glu	52	58	↑	47	52	↑	94	101	↑	88	96	↑	42	32	↓
Ala	41	44	↑	33	36	↑	80	90	↑	74	82	↑	38	29	↓
Phe	14	14	-	17	17	-	69	74	↑	65	39	↓	32	21	↓
Gly	41	48	↑	30	43	↑	91	93	↑	87	75	↓	43	41	↓
Ile	20	19	↓	19	20	↑	71	84	↑	70	46	↓	35	23	↓
Leu	16	15	↓	15	16	↑	65	78	↑	68	44	↓	35	22	↓
Pro	45	42	↓	42	87	↑	81	91	↑	70	95	↑	38	29	↓
Val	18	16	↓	17	17	-	66	76	↑	70	50	↓	37	24	↓
Arg	26	32	↑	19	33	↑	91	80	↑	95	72	↓	45	36	↓
His	44	37	↓	37	46	↑	78	96	↑	67	87	↑	41	31	↓
Lys	27	31	↑	34	44	↑	79	91	↑	88	69	↓	42	34	↓

ZÁVĚR

Mořské a sladkovodní řasy mohou být potenciálním zdrojem bílkovin v lidské výživě, avšak jejich využitelnost je omezena polysacharidy a fenoly přítomnými v buněčné stěně.

Cílem této práce bylo stanovení stravitelnosti bílkovin po působení proteolytického enzymu pepsinu. Ze získaných výsledků při hodnocení dvou sladkovodních, dvou červených a pěti hnědých mořských řas bylo zjištěno, že jsou bohatým zdrojem bílkovin.

Největší obsah dusíkatých látek byl zjištěn u sladkovodních řas, přičemž u *Chlorelly* byl stanoven vyšší obsah než u *Spiruliny*. U červených mořských řas *Dulse* a *Nori* byl zjištěn poloviční obsah oproti sladkovodním a nejméně dusíkatých látek bylo obsaženo v hnědých mořských řasách.

Pro zjištění kvality proteinu je nutné stanovit jeho stravitelnost. Hodnota stravitelnosti byla zjištěna jako úbytek dusíkatých látek vztažených k referenčnímu proteinu kaseinu a vyjádřena v procentech. Na rozdíl od publikovaných zdrojů byla stanovena největší stravitelnost u hnědé řasy *Kombu* a to 89 %. Stravitelnost sladkovodních a červených mořských řas byla srovnatelná, z níž *Dulse* měla 79 %, *Spirulina* 78 %, *Nori* 75 % a *Chlorella* 71 %. Ostatní hnědé řasy, mimo jmenovanou *Kombu*, vykazovaly stravitelnost od 35 % do 52 %.

Složení aminokyselin je důležitým faktorem pro stanovení nutriční hodnoty proteinu. Bylo zjištěno, že složení aminokyselin se lišilo mezi jednotlivými skupinami, ale i mezi jednotlivými řasami v rámci jedné skupiny. Ve shodě s publikovanými údaji nejvíce zastoupenou aminokyselinou ve všech řasách byla kyselina asparagová a glutamová a naopak v nejmenším množství byl v červených a hnědých řasách histidin a ve sladkovodních cystein.

Methionin byl stanoven jako limitující esenciální aminokyselina pro *Spirulinu*, *Dulse*, *Nori*, *Arame*, *Kombu*, *Wakame* i *Wakame instant*. Pro *Chlorellu* a *Arame* byl limitující isoleucin a pro *Hiziky* lysin.

Bylo potvrzeno, že mořské a sladkovodní řasy jsou dobrým zdrojem esenciálních aminokyselin, přičemž v největších koncentracích se vyskytoval leucin. Sladkovodní *Spirulina* byla nejbohatším zdrojem esenciálních aminokyselin, z důvodu vysokého obsahu leucinu, threoninu, valinu, isoleucinu. V hnědé mořské řase *Wakame instant* byl nejvyšší obsah methioninu a fenylalaninu a sladkovodní *Chlorella* byla bohatá na lysin.

Při stanovení aminokyselin po trávení bylo zjištěno, že nejméně využitelné byly aminokyseliny z hnědých řas Arame a Hiziky, zatímco nejvíce využitelné byly z obou sladkovodních řas a také z červené mořské řasy Dulse a hnědých mořských řas Kombu a Wakame.

Při zjišťování časové závislosti obsahu aminokyselin v trávenině řas stanovených po 20-ti dnech bylo zjištěno, že ve všech vzorcích došlo ke změnám aminokyselin, přičemž u některých došlo k úbytku, ale i přírůstku bez ohledu na druh řas. Stanovení aminokyselin je proto nutné provést ihned po inaktivaci enzymu.

Závěrem je možno konstatovat, že sladkovodní a mořské řasy jsou dobrým zdrojem bílkovin s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin, ale pro jejich využití je nutné se dále zabývat jejich stravitelností zejména faktory, které ji ovlivňují.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MARINHO – SORIANO E., FONSECA P.C., CORNEIRO M. A. A., MOREIRA W.S.C. *Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds*. Bioresource Technology, 2006. 2402 – 2406.
- [2] SANCHEZ – MACHADO D. I, LOPEZ – CERVANTES J., PASEIRO – LOSADA P. *Fatty acids, total lipid, protein and ash content of processed edible seaweeds*. Food Chemistry, 2004. 438 – 444.
- [3] FLEURENCE J. *Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses*. Trends in Food Science and Technology, 1999. 25 – 28.
- [4] JELÍNEK J., ZICHÁČEK V. *Biologie*. 1. vyd. Olomouc: Fin Publishing, 1996. 415 s. ISBN 80-86002-01-2.
- [5] POKORNÝ J., a kol. *Přehled fyziologie člověka Díl II*. Praha: Karolinum, 2002. 255 s.
- [6] VELÍŠEK J. *Chemie potravin I*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 352 s. ISBN 80-90239-3-7.
- [7] ŠÍPALA Z. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: SPN, 1992. 480 s. ISBN 80-04-21736-2.
- [8] VODRÁŽKA Z., RAUCH P., KÁŠ J. *Enzymologie*. 3. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. 171 s. ISBN 80-7080-330-4.
- [9] *Some picture*. [online]. [cit. 2008-03-27]. Dostupný z WWW: <http://www.jonolavsakvarium.com/blog/200708/blog200708.html>
- [10] POKORNÝ J., PÁNEK J. *Základy výživy a výživová politika*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1996. 158 s. ISBN 80-7080-260-X.
- [11] TROJAN S., a kol. *Lékařská fyziologie*. 4 vyd. Praha: Grada Publishing, 2003. 772 s. ISBN 80-247-0512-5.
- [12] NOVÁK V., BUŇKA F. *Základy ekonomiky výživy*. 1 vyd. Zlín: UTB, 2005. 119 s. ISBN 80-7318-262-9.
- [13] RAMOS V.M, MONTEIRO, MOREIRA R.A., CARVALVO F. U. *Amino acid composition of some Brazilian seaweed species*. Journal of Food Biochemistry, 2000. 33 – 39.

- [14] HOLEČEK M. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*, 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 2006. 288 s. ISBN 80-247-1562-7.
- [15] BUŇKA F., NOVÁK V., KADIDLOVÁ H. *Ekonomika výživy a výživová politika I*. Zlín: UTB, 2006. ISBN 80-7318-42-X.
- [16] ŠÍCHO V., VODRÁŽKA Z., KRÁLOVÁ B. *Potravinářská biochemie*. 2. vyd. Praha: STNL, 1981. 359 s. ISBN 04-815-81.
- [17] HOZA I., KRAMÁŘOVÁ D. *Potravinářská biochemie I*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2003. 168 s. ISBN 80-7318-295-5.
- [18] KOLB. E. *Životní procesy pod lupou*. 1. vyd. Praha: Horizont, 1984. 132 s. ISBN 40-003-84.
- [19] *Manuál II: Výživa*. [online]. [cit. 2008-03-17]. Dostupný z WWW: <http://sweb.cz/centrumprev/MANUAL/MANUALII-1.htm>
- [20] ALBERTS B., a kol. *Základy buněčné biologie*. 2 vyd. Ústí nad Labem: Espero Publishing, 1997. 630 s. ISBN 80-902906-2-0.
- [21] YADA Y.R. *Proteins in Food Processing*. Woodhead Pub, 2004. 686 s. ISBN 185573723X.
- [22] VODRÁŽKA Z. *Biochemie 2*. 1. vyd. Praha: Academia, 1992. 135 s. ISBN 80-200-0441-6.
- [23] *Proteiny*. [online]. [cit. 2008-03-20]. Dostupný z WWW: <http://www.psmorfeus.com/docs/vyziva/Proteiny.ppt>
- [24] *Kyselina glutamová*. [online]. [cit. 2008-04-01]. Dostupný z WWW: <http://encyklopedie.seznam.cz/heslo/135854-kyselina-glutamova>
- [25] MAROUNEK M., BŘEZINA P., ŠIMŮNEK J. *Fyziologie a hygiena výživy*. 1. vyd. Vyškov: RVOd VAV, 2003. 76 s. ISBN 80-7231-106-9.
- [26] ŠPAČEK J. *Hlenky, houby, řasy*. 1. vyd. Brno: Masarykova Univerzita, 1999. 134 s. ISBN 80-210-2157-8.
- [27] ZEMAN L. *Výživa a krmení hospodářských zvířat* [online]. [cit. 2008-03-2]. Dostupný z WWW [http:// old.mendelu.cz/~zeman/skripta/pef99.htm](http://old.mendelu.cz/~zeman/skripta/pef99.htm)

- [28] KUNZEL D. *Lidský organismus ve zdraví a nemoci*. 1. vyd. Praha: Avicenum, zdravotní nakladatelství, 1990. 376 s. ISBN 08-001-90.
- [29] KOCNA P. *Patobiochemie malabsorpčního syndromu*. Seminář ÚKBLD, prosinec 2006. [online]. [cit. 2008-02-22]. Dostupný z WWW: <http://www.if1.cuni.cz/~kocna/pkweb1.html>
- [30] SELIGER V., VINAŘICKÝ R., TREFNÝ Z. *Fyziologie člověka pro fakulty tělesné výchovy a sportu*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1983. 429 s. ISBN 14-612-83.
- [31] *Spirulina* [online]. [cit. 2008-04-05] <http://johnstodderinexile.files.wordpress.com/2006/03/Spirulina.jpg>
- [32] GLENK W., NEU S. *Enzymy*. 1. vyd. Heyne Verlag: Mnichov, 1990. 213 s. Bez ISBN.
- [33] *Fyziologie trávení a vstřebávání* [online]. [cit. 2008-02-06]. Dostupný z WWW: <http://www.profmartinik.cz/wp-content/soubory/fyziologie-traveni-a-vstrebavani.pdf>
- [34] WILHEM Z., HEGEI P. *Klinická fyziologie: Fyziologie a patofyziologie žaludku* [online]. [cit. 2008-02-07]. Dostupný z WWW: <http://www.solen.cz/pdfs/lek/2006/0315pdf>
- [35] PELOUCH V. *Základy obecné a klinické biochemie: Metabolismus bílkovin* [online]. [cit. 2008-02-03]. Dostupný z WWW: <http://ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap32.pdf>
- [36] JANKOVSKÝ L. *Viry, prokaryota, řasy, houby a lišejníky*. 1. vyd. Masarykova univerzita v Brně, 1997. 154 s. ISBN: 80-210-1555-1.
- [37] ČERNOHORSKÝ Z. *Základy soustavné botaniky I*. Praha, SNP. Bez ISBN.
- [38] McHUGH D.J. *A guide to the seaweed industry*. University of New South Wales, Australian Defence Force Academy Canberra. 2003. 105 s. ISBN 92-5-104958-0.
- [39] ROSYPAL. S. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003. 798 s. ISBN 80-7183-268-5.

- [40] *Oddělení: RHODOPHYTA – ruduchy* [online] [cit. 2008-03-10] <http://old.mendelu.cz/~agro/af/rybari/vyuka/hydbot/03RHODOPHYTA.pdf>
- [41] *Přehled hlavních taxonů bakterií, sinic a řas: Rudochy (Rhodophyta)* [online] [cit. 2008-03-10]. Dostupný z WWW: <http://old.mendelu.cz/~agro/af/rybari/vyuka/volitelne/botanika.pdf>
- [42] AMANO H., NODA H. *Protein of protoplasts form several seaweeds*. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992. 291 – 299.
- [43] MORGAN K.C., WRIGHT J.L.C., SIMPSON F.J. *Review of chemical constituents of the red algae Palmaria palmata (Dulse)*. Econ. Bot., 1980. 27-50.
- [44] CHOPIN T. *The seaweed resources of eastern Canada*. Critchley & Ohno, 1998, 289 – 291.
- [45] *Sea vegetable primer*. [online]. [cit. 2008-03-27]. Dostupný z WWW: http://www.wholefoodsmarket.com/recipes/images/seaveg_dulse.jpg
- [46] GALLAND IRMOULI A. V., FLEURENCE J., LAMGHARI R. *Nutritional value of proteins from edible seaweed Palmaria palmata (Dulse)*. The Journal of Nutritional biochemistry, 1999. 353 – 359.
- [47] *Sinice a řasy: Hnědé řasy (Chromophyta)* [online] [cit. 2008-03-10]. Dostupný z WWW: <http://www.biotox.cz/naturstoff/biologie/bi-sinicerasy.html>
- [48] ARASAKI A., ARASAKI T. *Low calories, High Nutrition. Vegetables from the Sea to Help you Look and Feel Berger*. Japan Publications Inc, 1984. 39 – 42.
- [49] FANTAO A. *Vitaminy a prevence*. České Budějovice: Dona, 1993. 250 s. ISBN 80-85463-18-0.
- [50] *Le cancer: une maladie chronique associée au mode de vie*. [online]. [cit. 2008-03-27]. Dostupný z WWW: www.nutrathérapie.uqam.ca/images/wakame_2.jpg
- [51] PRŮŠOVÁ J. *Byznys se zdravím*. 1. vyd. Praha: Inerkontaktservis, 1992. 190 s. ISBN 80-900342-4-1.
- [52] RUPERÉZ P. *Mineral content of edible marine seaweeds*. Food Chemistry, 2002. 23 – 26.

- [53] HOU X. *Determination of chemical species of iodine in some seaweeds*. Science of The Total Environment, 1997. 215 – 221.
- [54] *Dueto tengeri algák*. [online]. [cit. 2008-03-24]. Dostupný z WWW: <http://www.terebess.hu/tiszaorveny/alga.html>
- [55] *Třída: Chlorophyceae – zelenivky* [online] [cit. 2008-03-11]. Dostupný z WWW: <http://old.mendelu.cz/~agro/af/rybari/vyuka/hydbot/08c%20CHLOROPHYCEAE.pdf>
- [56] *Obsahové látky v Lycopodium clavatum* [online] [cit. 2008-03-11]. Dostupný z WWW: http://faf.vfu.cz/html/docs/plants/lycopodium_clavatum/ol.html.
- [57] ZELINKA M., SLADEČEK V. *Hydrobiologie pro vodohospodáře*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1964. 211 s.
- [58] WILLIAM H. L., ROSENBAUM M. *Chlorella*, 1987. 25 s. ISBN 0-87983-464-1.
- [59] *Sinice a řasy pro všechny: Oddělení sinice- Cyanobacteria* [online]. [cit. 2005-11-06]. Dostupný z WWW: <http://www.sinicearasy.cz/content/37>
- [60] *Cyanophyta- sinice*. [online]. [cit. 2008-03-29]. Dostupný z WWW: <http://kzr.agrobiologie.cz/natura/data/datarybarstvi/rost - I.pdf>
- [61] WATANABE F. *Dried green and purple lavers (Nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B₁₂ less of dietary of relative to other edible seaweeds*. J. Agric, 1990. 2341-2343
- [62] BURTIN P. *Nutritional value of seaweeds*. Elektron. J. Environ. Agric. Food Chem 2 (4), 2003.
- [63] *Chlorella centrum: Co všechno byste měli vědět o kvalitě*. [online]. [cit. 2008-03-17]. Dostupný z WWW: <http://www.cgplus.cz/index.asp?start=6&idc=546>
- [64] WONG K.H., CHEUNG C. K. *Nutritional evaluation of some subtropical red and brown seaweeds: Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profile of prtein concentrates*. Food Chemistry, 2001. 11 – 17.
- [65] DAVÍDEK J., a kol. *Laboratorní příručka analýza potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1981. 718 s.

- [66] *Analýza potravin přírodní látky* [online]. [cit. 2008-01-20]. Dostupný z WWW: http://utb.cepac.cz/Screens/ContentProvider.aspx/WtflCf_RaQQK-v0Mt65cE7M7OxXx1Wj1aVZw9V1sB501/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distancni_text_II/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distancni_text_II.pdf
- [67] *Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků*. [online]. [cit.2004-09-08]. Dostupný z WWW: http://mujweb.cz/www/polavolt/anorg/proprva_vzorku/mader_curdova.htm
- [68] Stanovení aminokyselin v krmivech [online]. [cit. 2008-03-24]. Dostupný z WWW: http://www.sweb.cz/HPLC1/Amk/amk.htm#_Stanovení_aminokyselin_v
- [69] LIŠKA I., KRÁČMAR S. *Acid hydrolyzate preparation for analysis of protein amino acids in the pollen of Pinus banksiana*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun. 1998. 57 – 64.
- [70] *Analyzátor aminokyselin AAA 400*. Návod k obsluze. Ignos s.r.o., Praha.
- [71] *Analyzátor aminokyselin AAA 400* [online]. [cit. 2008-03-24]. Dostupný z WWW: <http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzator-aminokyselin-aaa-400>
- [72] *Seznam zkušebních metod NRL pro krmiva: Stanovení obsahu dusíkatých látek rozpustných působením roztoku pepsinu v kyselině chlorovodíkové*, Věstník ÚKZUZ, Díl 1/3, 2005, 42 s.
- [73] LOURENCE S.O. *Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen – to – protein conversion factors for 19 tropical seaweeds*. Psychological Research, 2002.
- [74] WONG K. H., CHEUNG C. K. *Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds: Part I – proximate composition, amino acid profiles and some physico – chemical properties*. Food Chemistry, 2000. 475 – 482.
- [75] DAWCZYNSKI CH., SCHUBERT R., GERHARD J. *Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products*. Food Chemistry, 2007. 891 – 899.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

%	procento
GIT	gastrointestinální trakt
tj.	to je
m	metr
g	gram
kg	kilogram
w/w	hmotnostní procento
HPLC	vysokotlaká kapalinová chromatografie
vč.	včetně
Ala	alanin
Arg	arginin
His	histidin
Cys	cystein
Gly	glycin
Ile	isoleucin
Asp	kyselina asparagová
Glu	kyselina glutamová
Leu	leucin
Lys	lysin
Met	methionin
Phe	fenylalanin
Pro	prolin
Ser	serin
Thr	threonin

Tyr tyrosin

Val valin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Trávící soustava.	16
Obr. 2. Základní funkce GIT – trávící proces.	17
Obr. 3. Proces trávení bílkovin.	20
Obr. 4. <i>Porphyra tenera</i> (Nori).	24
Obr. 5. <i>Palmaria palmata</i> (Dulse).	25
Obr. 6. <i>Eisenia bicyclis</i> (Arame).....	26
Obr. 7. <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame).	27
Obr. 8. <i>Laminaria japonica</i> (Kombu).....	27
Obr. 9. <i>Spirulina pacifica</i>	29

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Charakteristika řasových produktů.....	38
Tab. 2. Obsah dusíkatých látek před a po působení proteolytického enzymu.....	45
Tab. 3. Obsah aminokyselin v trávěnině řas k původnímu množství.....	54
Tab. 4. Změny aminokyselin po 20-ti dnech – Spirulina, Chlorella, Dulse, Nori, ka- sein.....	56
Tab. 5. Změny aminokyselin po 20-ti dnech – Arame, Hiziky, Kombu, Wakame, Wakame instant.....	56

SEZNAM PŘÍLOH

- P I: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Spirulina (*Spirulina pacifica*)
- P II: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*)
- P III: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Dulse (*Palmaria palmata*)
- P IV: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Nori (*Porphyra tenera*)
- P V: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Arame (*Eisenia bicyclis*)
- P VI: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Hiziky (*Hizikia fusiformes*)
- P VII: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Kombu (*Laminaria japonica*)
- P VIII: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Wakame (*Undaria pinnatifida*)
- P IX: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v řase Wakame instant (*Undaria pinnatifida*)
- P X: Složení aminokyselin před a po působení proteolytického enzymu pepsinu v kaseínu

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Obsah dusíkatých látek v mořských a sladkovodních řasách.....	43
Graf 2 Porovnání stravitelnosti v jednotlivých řasách.....	46
Graf 3 Celkový obsah aminokyselin v jednotlivých řasách.....	47
Graf 4 Celkový obsah esenciálních aminokyselin v jednotlivých řasách.....	47
Graf 5 Složení aminokyselin ve sladkovodních řasách <i>Spirulina pacifica</i> a <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	48
Graf 6 Složení aminokyselin v červených mořských řasách <i>Palmaria palmata</i> (Dulse) a <i>Porphyra tenera</i> (Nori).....	49
Graf 7 Složení aminokyselin v hnědých mořských řasách.....	50
Graf 8 Porovnání aminokyselinového složení červené řasy Nori (<i>Porphyra tenera</i>) stanovené v této práci a jinou studií.....	51
Graf 9 Porovnání aminokyselinového složení hnědé řasy Hiziky (<i>Hizikia fusiformes</i>) stanovené v této práci a jinou studií.....	51
Graf 10 Grafické znázornění změn celkového obsahu aminokyselin v trávenině.....	52
Graf 11 Grafické znázornění celkového obsahu esenciálních aminokyselin.....	53

PŘÍLOHA P I: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBNÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE SPIRULINA (*SPIRULINA PACIFICA*)

<i>Spirulina Pacifica</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Sírné	Cys	1,36	1,17	0,85	86	63
	Met	3,52	2,41	1,85	69	53
Hydroxy	Thr	5,41	3,91	3,09	72	57
	Tyr	4,13	2,55	2,29	62	55
	Ser	4,73	3,01	2,47	64	52
Kyselé	Asp	10,25	7,77	6,47	76	63
	Glu	13,12	9,23	7,59	70	58
Neutrální	Ala	7,42	4,73	4,02	64	54
	Phe	4,94	2,99	2,68	61	54
	Gly	5,38	3,66	3,19	68	59
	Ile	5,79	3,77	3,32	65	57
	Leu	8,74	5,59	4,97	64	57
	Pro	4,02	2,94	2,57	73	64
	Val	6,30	4,02	3,61	64	57
Bazické	Arg	8,05	5,56	4,94	69	61
	His	2,03	1,44	1,25	71	62
	Lys	4,72	3,46	3,04	73	64
	Σ EAK	39,53	26,15	22,56		
	Σ AK	99,10	68,21	58,20		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P II: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE CHLORELLA (CHLORELLA PYRENOIDOSA)

<i>Chlorella</i> <i>Tabs</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Sírné	Cys	1,66	1,18	1,13	71	68
	Met	3,45	1,98	2,05	57	60
Hydroxy	Thr	3,86	3,65	3,35	95	87
	Tyr	2,78	2,21	2,24	80	81
	Ser	3,05	2,75	2,68	90	88
Kyselé	Asp	8,00	7,68	6,92	96	86
	Glu	9,26	9,19	8,42	99	91
Neutrální	Ala	6,42	6,11	5,47	95	85
	Phe	4,11	3,23	3,13	79	76
	Gly	4,99	4,65	4,29	93	86
	Ile	3,32	2,83	2,65	85	80
	Leu	7,33	6,14	5,76	84	79
	Pro	4,14	3,80	3,53	92	85
	Val	5,40	4,72	4,29	87	79
Basické	Arg	6,91	6,57	6,30	95	91
	His	1,96	1,85	1,65	95	84
	Lys	6,82	5,08	4,75	75	70
	Σ EAK	34,29	27,63	25,98		
	Σ AK	83,46	73,62	68,61		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P III: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBNÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE DULSE (*PALMARIA PALMATA*)

<i>Dulce vložky BIO</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Símé	Cys	2,89	2,37	2,33	82	80
	Met	2,44	2,10	2,19	86	90
Hydroxy	Thr	4,01	3,66	3,51	91	88
	Tyr	2,52	2,11	2,07	84	82
	Ser	3,77	3,61	3,60	96	96
Kyselé	Asp	9,68	9,21	9,56	95	99
	Glu	10,33	10,27	10,01	99	97
Neutrální	Ala	6,77	6,02	6,31	89	93
	Phe	3,69	2,92	2,91	79	79
	Gly	5,44	4,61	4,85	85	89
	Ile	3,47	2,85	2,98	82	86
	Leu	5,54	4,70	4,76	85	86
	Pro	6,43	6,18	6,28	96	98
Basické	Val	5,17	4,27	4,51	83	87
	Arg	5,49	5,00	5,39	91	98
	His	1,72	1,42	1,52	83	88
	Lys	4,64	3,77	4,01	81	86
	Σ EAK	28,96	24,27	24,87		
	Σ AK	84,00	75,07	76,79		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P IV: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE NORI (*PORPHYRA TENERA*)

<i>Nori</i> <i>vločky</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Sírné	Cys	2,80	1,25	1,21	45	43
	Met	3,08	1,57	0,89	51	29
Hydroxy	Thr	4,85	2,68	2,64	55	54
	Tyr	2,83	1,91	1,67	68	59
	Ser	4,61	2,44	2,46	53	53
Kyselé	Asp	10,06	6,41	7,14	64	71
	Glu	10,72	7,18	7,36	67	69
Neutrální	Ala	6,71	3,56	3,22	53	48
	Phe	4,20	2,14	1,78	51	42
	Gly	5,53	3,62	3,90	65	71
	Ile	3,37	2,06	1,60	61	48
	Leu	5,63	3,39	2,55	60	45
	Pro	3,60	2,41	2,64	67	73
	Val	5,41	3,25	2,73	60	50
Basické	Arg	7,23	5,06	5,58	70	77
	His	1,95	1,41	1,19	72	61
	Lys	3,81	2,59	2,62	68	69
	Σ EAK	30,35	17,65	14,81		
	Σ AK	86,39	52,93	51,18		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P V: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE ARAME (*EISENIA BICYCLIS*)

<i>Arame</i>		AK	AK ₀	AK ₂₀	A ₀	A ₂₀
		g/16g N	g/16g N	g/16g N	%	%
Sírné	Cys	7,47	0,29	0,30	4	4
	Met	6,63	0,13	0,16	2	2
Hydroxy	Thr	4,43	1,18	1,23	27	28
	Tyr	2,15	0,62	0,55	29	26
	Ser	3,61	1,23	1,36	34	38
Kyselé	Asp	9,37	2,62	2,71	28	29
	Glu	22,46	11,78	13,06	52	58
Neutrální	Ala	9,05	3,69	3,99	41	44
	Phe	4,04	0,56	0,58	14	14
	Gly	4,45	1,80	2,13	41	48
	Ile	3,49	0,70	0,65	20	19
	Leu	6,21	0,99	0,95	16	15
	Pro	3,83	1,72	1,63	45	42
	Val	5,09	0,92	0,82	18	16
Basické	Arg	3,90	1,03	1,27	26	32
	His	1,67	0,73	0,62	44	37
	Lys	4,10	1,12	1,27	27	31
	Σ EAK	31,99	16,82	18,14		
	Σ AK	101	31,11	33,28		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P VI: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBNÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE HIZIKY (*HIZIKIA FUSIFORMES*)

<i>Hiziky</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Sírné	Cys	1,98	0,24	0,29	12	15
	Met	3,39	0,12	0,13	3	4
Hydroxy	Thr	4,45	1,14	1,46	26	33
	Tyr	2,03	0,60	0,61	30	30
	Ser	3,75	1,13	1,45	30	39
Kyselé	Asp	9,57	3,53	3,75	37	39
	Glu	12,46	5,86	6,45	47	52
Neutrální	Ala	6,43	2,14	2,29	33	36
	Phe	4,49	0,74	0,75	17	17
	Gly	5,12	1,55	2,21	30	43
	Ile	4,02	0,77	0,79	19	20
	Leu	6,51	1,00	1,02	15	16
	Pro	2,15	0,90	1,87	42	87
	Val	5,31	0,90	0,92	17	17
Basické	Arg	4,14	0,79	1,37	19	33
	His	1,36	0,50	0,63	37	46
	Lys	3,01	1,02	1,33	34	44
	Σ EAK	31,18	5,69	6,4		
	Σ AK	80,17	22,93	27,32		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P VII: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBNÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE KOMBU (*LAMINARIA JAPONICA*)

<i>Kombu</i>		AK	AK ₀	AK ₂₀	A ₀	A ₂₀
		g/16g N	g/16g N	g/16gN	%	%
Sírné	Cys	2,14	0,63	1,41	30	66
	Met	1,99	0,78	1,55	39	78
Hydroxy	Thr	3,54	2,92	3,19	83	90
	Tyr	1,43	1,40	1,36	98	95
	Ser	2,93	2,73	2,68	93	91
Kyselé	Asp	8,48	7,08	7,73	84	91
	Glu	15,41	14,42	15,64	94	101
Neutrální	Ala	6,11	4,86	5,51	80	90
	Phe	2,80	1,92	2,08	69	74
	Gly	3,78	3,46	3,52	91	93
	Ile	2,51	1,78	2,11	71	84
	Leu	4,43	2,87	3,46	65	78
	Pro	5,06	4,12	4,60	81	91
	Val	3,77	2,47	2,87	66	76
Basické	Arg	3,32	3,03	2,64	91	80
	His	1,24	0,97	1,19	78	96
	Lys	3,21	2,55	2,92	79	91
	Σ EAK	22,25	15,29	18,18		
	Σ AK	72,15	57,99	64,46		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávenině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávenině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávenině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

PŘÍLOHA P VIII: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE WAKAME (*UNDARIA PINNATIFIDA*)

<i>Wakame</i>		AK	AK ₀	AK ₂₀	A ₀	A ₂₀
		g/16g N	g/16g N	g/16gN	%	%
Sírné	Cys	0,96	0,32	0,29	33	30
	Met	2,07	0,38	0,34	18	16
Hydroxy	Thr	2,71	2,17	1,57	80	58
	Tyr	1,39	0,57	0,43	41	31
	Ser	2,45	2,16	1,65	88	67
Kyselé	Asp	5,94	5,04	3,99	85	67
	Glu	6,63	5,86	6,36	88	96
Neutrální	Ala	4,65	3,45	3,83	74	82
	Phe	2,88	1,87	1,13	65	39
	Gly	3,37	2,94	2,52	87	75
	Ile	2,59	1,81	1,20	70	46
	Leu	4,42	3,01	1,96	68	44
	Pro	2,34	1,65	2,22	70	95
	Val	3,30	2,32	1,65	70	50
Basické	Arg	3,22	3,05	2,31	95	72
	His	1,06	0,71	0,92	67	87
	Lys	3,00	2,65	2,06	88	69
	Σ EAK	20,97	14,21	9,91		
	Σ AK	52,98	39,96	34,43		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

A₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

**PŘÍLOHA P IX: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ
PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V ŘASE WAKAME INSTANT
(*UNDARIA PINNATIFIDA*)**

<i>Wakame instant</i>		AK g/16g N	AK ₀ g/16g N	AK ₂₀ g/16gN	A ₀ %	A ₂₀ %
Sírné	Cys	1,41	0,24	0,21	17	15
	Met	3,69	0,61	0,52	17	14
Hydroxy	Thr	4,57	1,82	1,45	40	32
	Tyr	2,28	1,23	0,81	54	35
	Ser	4,01	1,66	1,49	41	37
Kyselé	Asp	9,14	3,91	3,09	43	34
	Glu	9,76	4,11	3,14	42	32
Neutrální	Ala	6,24	2,37	1,80	38	29
	Phe	4,93	1,58	1,05	32	21
	Gly	5,36	2,32	2,19	43	41
	Ile	4,52	1,58	1,02	35	23
	Leu	7,81	2,70	1,71	35	22
	Pro	4,54	1,73	1,31	38	29
	Val	5,87	2,15	1,40	37	24
Basické	Arg	5,65	2,55	2,03	45	36
	His	1,97	0,81	0,61	41	31
	Lys	5,02	2,10	1,70	42	34
	Σ EAK	36,41	12,54	8,85		
	Σ AK	86,77	33,47	25,53		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávěnině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávěnině po 20 dnech v g/16g N,

V₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávěnině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.

**PŘÍLOHA P X: SLOŽENÍ AMINOKYSELIN PŘED A PO PŮSOBENÍ
PROTEOLYTICKÉHO ENZYMU V KASEINU**

<i>Kasein</i>		AK	AK ₀	AK ₂₀	A ₀	A ₂₀
		g/16g N	g/16g N	g/16gN	%	%
Sírné	Cys	3,79	3,67	3,60	97	95
	Met	16,72	16,30	17,06	97	102
Hydroxy	Thr	16,12	14,76	15,48	92	96
	Tyr	20,06	18,29	18,50	91	92
	Ser	18,16	14,18	14,67	78	81
Kyselé	Asp	26,04	25,20	25,34	97	97
	Glu	79,99	75,21	78,97	94	99
Neutrální	Ala	16,34	9,37	9,89	57	61
	Phe	18,00	16,10	16,58	89	92
	Gly	6,67	6,55	6,82	98	102
	Ile	18,54	15,61	16,00	84	86
	Leu	31,48	29,06	29,92	92	95
	Pro	44,92	40,34	40,63	90	90
	Val	25,14	21,16	22,36	84	90
Basické	Arg	15,36	13,40	14,24	87	93
	His	10,51	9,53	9,87	91	94
	Lys	28,35	21,93	22,65	77	80
	Σ EAK	154,35	134,92	140,05		
	Σ AK	396,13	350,66	362,58		

AK – obsah aminokyselin v původním vzorku v g/16g N,

AK₀ – obsah aminokyselin v trávenině ihned po natrávení v g/16g N,

AK₂₀ – obsah aminokyselin v trávenině po 20 dnech v g/16g N,

V₀ – změna aminokyselin po natrávení k původnímu obsahu v %,

A₂₀ – změna aminokyselin v trávenině 20 dnů po natrávení v %,

Σ EAK – celkový obsah esenciálních aminokyselin v g/16g N,

Σ AK – celkový obsah aminokyselin v g/16g N.