

Mořské a suchozemské řasy jako významný zdroj důležitých komponent lidské stravy

Bc. Silvie Valoušková

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. Silvie VALOUŠKOVÁ**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Mořské a suchozemské řasy jako významný zdroj
důležitých komponent lidské stravy**

Zásady pro vypracování:

1. Zjistěte chemické složení mořských a suchozemských řas dostupných na našem trhu.
2. Zaměřte se na obsah aminokyselin, příp.vlákninu. Zjištěné hodnoty u jednotlivých druhů porovnejte.
3. Pokuste se navrhnout možnosti jejich využití pro lidskou výživu.



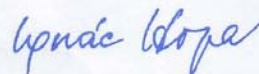
Rozsah práce:
Rozsah příloh:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**
Seznam odborné literatury:
Dle doporučení vedoucího práce

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ladislava Mišurcová**
Ústav potravinářského inženýrství
Datum zadání diplomové práce: **8. ledna 2007**
Termín odevzdání diplomové práce: **31. května 2008**

Ve Zlíně dne 2. května 2007



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Řasy díky svému nutričnímu složení a především, díky vysokému obsahu bílkovin, minerálních látek a vitamínů vystupují jako potencionální a alternativní zdroj ve výživě člověka. Diplomová práce byla zaměřena na stanovení aminokyselin u sladkovodních a mořských řas. Současně byla změřena sušina, dusík a chlorofyl. Stanovení aminokyselin je založeno na hydrolýze a následné chromatografii.

Klíčová slova: řasy, nutriční složení, aminokyseliny, chromatografie

ABSTRACT

Algae owing to their nutritional composition and primarily owing to high content of proteins, minerals and vitamins act as potential and alternative source of human nutrition. This diploma thesis is based on determination of amino acids in freshwater algae and seaweed. Dry basis, nitrogen and chlorophyll were gauged simultaneously. Determination of amino acids is based on hydrolysis and consequent chromatography.

Keywords: algae, nutritional constitution, amino acids, chromatography

Tímto děkuji vedoucí mé diplomové práce Ing. Ladislavě Mišurcové za její odborné vedení, vytrvalost, připomínky a rady, které se týkaly této diplomové práce.

Touto cestou bych také ráda poděkovala Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. za rady a pomoc, při laboratorní práci a paní Jarmile Řemenovské za její ochotu a pomoc.

Poděkování patří také mé rodině a přátelům za podporu 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 ŘASY	10
1.1 HNĚDÉ ŘASY (<i>CHROMOPHYTA</i>)	12
1.2 ČERVENÉ ŘASY (<i>RHODOPHYTA</i>)	16
1.3 ZELENÉ ŘASY (<i>CHLOROPHYTA</i>)	17
1.3.1 Chlorella	19
1.4 SINICE	21
1.4.1 Spirulina	22
2 ŽIVINY	24
2.1 BÍLKOVINY	24
2.1.1 Aminokyseliny	25
2.2 SACHARIDY	28
2.3 LIPIDY	29
2.4 MINERÁLNÍ LÁTKY	30
2.5 VITAMÍNY	31
2.6 VLÁKNINA	32
3 STANOVENÍ	34
3.1 STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK	34
3.2 STANOVENÍ AMINOKYSELIN	35
3.2.1 Příprava hydrolyzátu pro stanovení aminokyselin	35
3.2.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin	36
3.3 STANOVENÍ SUŠINY	36
3.4 STANOVENÍ CHLOROFYLU	37
II PRAKTICKÁ ČÁST	38
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	39
5 METODIKA PRÁCE	40
5.1 STANOVENÍ AMINOKYSELIN	40
5.1.1 Použité přístroje a pomůcky	40
5.1.2 Materiál	40
5.1.3 Metodika stanovení	41
5.2 STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK	42
5.2.1 Použité přístroje a pomůcky	42
5.2.2 Materiál	42
5.2.3 Metodika stanovení	42
5.3 STANOVENÍ SUŠINY	44
5.3.1 Použité přístroje a pomůcky	44

5.3.2	Materiál	44
5.3.3	Metodika stanovení	44
5.4	STANOVENÍ CHLOROFYLU	45
5.4.1	Použité přístroje, pomůcky a chemikálie	45
5.4.2	Materiál	45
5.4.3	Metodika stanovení	45
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
6.1	STANOVENÍ AMINOKYSELIN	47
6.2	OBSAH DUSÍKATÝCH LÁTEK, SUŠINY A CHLOROFYLU	68
	ZÁVĚR.....	70
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	72
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	78
	SEZNAM OBRÁZKŮ	80
	SEZNAM TABULEK.....	81
	SEZNAM GRAFŮ	82
	SEZNAM PŘÍLOH.....	83

ÚVOD

Správná výživa a složení živin v potravě jsou velmi důležité aspekty pro zdraví člověka. Velkým problémem současnosti je nesprávné složení stravy a nadměrný přísun energie, který se projevuje obezitou obyvatel.

Po celém světě jsou zkoumány nové druhy rostlin, které by se mohly stát alternativním řešením ve výživě člověka a mohly by tak poskytnout cenné složky v lidské stravě.

A takovým možným potenciálním zdrojem výživy mohou být řasy. Pro svůj vysoký obsah bílkovin, minerálních látek, vitaminů a velmi nízký obsah lipidů.

Původ řas, jejich využití a zpracování je tradiční pro Japonsko, Čínu a Koreu, o něco méně již pro Havaji či Skotsko. V asijských zemích se řasy využívají především pro přímou spotřebu, zatímco v ostatních zemích se setkáváme s využitím jako surovinou pro potravinářský průmysl (algináty, karagenany), hnojivo, krmivo pro dobytek, využití ve farmaceutickém průmyslu, v lékařství, kosmetice či papírenském průmyslu.

Řasy mají pozitivní vliv na zdraví člověka, podílí se na podpoře imunitního systému, nachlazení, zánětlivých onemocněních, při alergiích, podílí se na snižování hladiny cholesterolu a tuku v krvi a díky vysokému obsahu jodu se mořské řasy uplatňují také při onemocněních štítné žlázy.

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu aminokyselin, stanovení limitující esenciální aminokyseliny a zjištění hodnot esenciálních aminokyselin jednotlivých druhů řas. V souvislosti s tím byl také zkoumán vliv doby hydrolýzy na obsahu aminokyselin v daných vzorcích. V neposlední řadě byl stanoven obsah dusíku, chlorofylu a sušiny.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ŘASY

Nauka o řasách je označována jako algologie, dle latinského názvu *Algae*, popř. fykologie podle *Phycota*, *Phycophyta*. Řecké označení je v tomto případě dle slova fykos a označuje mořské řasy; anglicky seaweed. V české odborné literatuře se používá spojení „sinice a řasy“. Řasy jsou stélkaté autotrofní rostliny domény *Eukarya*, zahrnují několik nepříbuzných vývojových větví nižších rostlin [1,2,3,4,5].

Řasy jsou jednobuněčné či vícebuněčné primárně autotrofní, většinou vodní organismy. Stélky řas se v průběhu evoluce vyvíjely od jednobuněčných organismů až ke složitým pletivovým stélkám, ani u těch nejdříve vyvinutých forem nemluvíme o „pravých“ listech, lodyhách a kořenech. U těchto vyšších forem neexistují žádné vodivé struktury, které by byly plně srovnatelné s cévními svazky vyšších rostlin. Části stélek, které se podobají základním orgánům těla vyšších rostlin, většinou nemají rozvinutější anatomickou diferenciaci. Označují se jako fyloidy, kauloidy a rhizoidy. Hlavní typy stélek :

1. Jednobuněčné stélky, jejichž buňky jsou zpravidla jednojaderné. Do této skupiny jednobuněčných řas byly zařazovány jednotlivě žijící řasy, resp. řasy žijící v koloniích nebo cenobiích.
2. Trichální stélky jsou tvořeny rozvětvenými nebo nerozvětvenými vlákny, jejichž buňky jsou jednojaderné.
3. Sifonální jednobuněčné stélky jsou kulovitého až trubicovitého tvaru. Sifonokladální stélky jsou vícebuněčné, vláknité. Oba typy stélek mají buňky mnohjaderné.
4. Pletivné stélky jsou tvořeny nepravými pletivy ze spojených buněčných vláken nebo jsou z pravého pletiva, jehož buňky zůstávají od počátku spojeny [1,3].

Základním životním prostředím, ve kterém prodělávaly řasy svůj dlouhý vývoj, bylo moře nebo kontinentální vody s rozdílným obsahem rozpuštěných solí (brakické a sladké vody). Je pravděpodobné, že vodní prostředí mělo význam na utváření řasových stélek a způsobu rozmnožování řas. Poměrně malý počet řas se přizpůsobil životu v povrchových vrstvách půdy, na povrchu skal, na povrchu listů nebo na borce stromů. Více rozšířené, ale málo prozkoumané jsou řasy půdní [1,3].

Dýchají skrze listové čepele a vstřebávají minerály z mořské vody. Řasy a sinice často vstupují do symbiotických interakcí. Symbióza je jedním ze základních vztahů mezi organismy [3,7].

V přírodě jsou především důležitými producenty organické hmoty. Mořský fytoplankton pokrývá 70 % zemského povrchu, je nejrozšířenějším společenstvem na zemi. Řasy vylučováním kyslíku obnovují jeho množství ve vodě, a tím umožňují dýchání živočichů a život aerobních bakterií. Přijímáním a asimilací organických látek rozpouštěných ve vodě urychlují samočisticí proces ve vodě. Svým působením mění chemické a fyzikální vlastnosti vody. Některé řasy jsou v přírodě významné jako horninotvorné organismy. Stélky takových řas bývají inkrustovány solemi vápníku nebo křemíku. Po odumření těchto stélek vznikají sedimenty [3].

Fytoplankton je důležitou složkou potravního řetězce mnohých organismů a tím přímo nebo nepřímo ovlivňuje produkci ryb. Produkce fytoplanktonu je větší ve studených mořích než v teplých, a proto i rybolov je výnosnější v mořích studených. Hnojením rybníků se zvyšuje množství řas a sinic, jimi se vyživují planktonní korýši, kteří jsou důležitou složkou potravy ryb, a tím se nakonec zvyšují přírůstky ryb. V některých oblastech se řasy využívají jako hnojivo. Mořské řasy se také zpracovávají do krmiv pro hospodářská zvířata. Z hnědých řas se získává algin, užívaný v textilním průmyslu (umělé hedvábí) k zahušťování barev. Z ruduch se získává agar, používaný jako médium pro růst mikroorganismů a v potravinářském průmyslu. Perspektivním úkolem je zvládnout pěstování sladkovodních řas jako zdroje krmiv pro dobytek a potravin pro člověka, popř. jako alternativního zdroje energie (náhrada za uhlí a ropu) [3].

Jedlé mořské řasy jsou také označovány jako mořská zelenina. Obyvatelé východní Asie (Japonsko, Korea, Čína) je pravidelně konzumují již od pradávných časů. Stávají se tak součástí tradičních lidských pokrmů. Každý Japonec spotřebuje ročně více než 4kg mořských řas. V Evropě zájem o konzumaci těchto rostlin ještě není tak velký jako v přímořských a především asijských zemích. Evropa se s těmito rostlinami blíže seznámila až s makrobiotickou stravou, které jsou řasy součástí. Postupem času se zvyšuje množství jejich konzumace. Zvláště populárními se staly řasy v sušeném stavu [1,2,6,7,8,9].

Sinice a řasy jsou dlouhodobě využívány v různých oblastech lidské činnosti, ale těžiště i rozsah zájmu se měnily v průběhu času. Informace o sběru mořských řas jsou již ve

starých islandských ságách, řasy se připravují např. na Havaji či Novém Zélandu, ale i na druhé straně světa v Irsku či v Bretani. Dlouhou historii mají pokrmy z řas na Britských ostrovech, v Jižní a Severní Americe. Řasy jsou součástí jídelníčku také na jiných místech mořského pobřeží. V nehostinných poměrech Farských ostrovů slouží řasy vyvržené příbojem za potravu kozám, lidé je používají na vytápění svých příbytků. Ve 20. letech minulého století sloužily mořské řasy jako surovina pro výrobu potaše, sody a jódu. V 80. letech minulého století bylo využití nejrůznějších sinic a řas spojeno s programy, které řešily problémy výživy lidstva. Stoupající význam mají extrakce látek z biomasy řas. U ruduch a hnědých řas se jedná o fykokoloidy pigmentu fykocyaninu. Novou oblastí zájmu se staly velkoobjemové kultury mikroskopických řas a s nimi spojené biotechnologické postupy založené na metodách průmyslového pěstování bakterií a kvasinek. Významné místo v biotechnologii mikrořas zaujaly řasy zelené či sinice *Spirulina* [1,2].

Největší praktický význam mají hnědé řasy (oddělení *Chromophyta*), dále ruduchy neboli červené řasy (oddělení *Rhodophyta*) a zelené řasy (oddělení *Chlorophyta*). Řasy patří k jedněm z nejstarších forem života na zemi. Mořské řasy mohou mít dokonce delší historii než plodiny jako zrniny a rýže [4,6].

1.1 Hnědé řasy (*Chromophyta*)

U chaluhy, hnědých řas, jsou nejrůznější organizační stupně stélek, chybí však jednobuněčné stélky a jejich velikost je od rozměrů mikroskopických až po makroskopické. Stélky velkých hnědých i jiných řas vyvržené mořem jsou známé jako „kelp“ a patří k tradičním hnojivům některých pobřežních států. K hnědým řasám řadíme i rozsivky, jednobuněčné řasy žijící jednotlivě či v koloniích. Jsou to převážně vodní, mořské i sladkovodní rostliny, tvořící hlavní složku planktonu moří a pobřežního bentosu i sladkých vod. Odhaduje se, že se podílejí asi čtvrtinou na celkové primární produkci rostlin [3,4].

Téměř všechny chaluhy žijí v mořích, je jich asi 250 rodů s přibližně 1500-2000 druhy a z toho asi jen 5 rodů obývá sladké vody. Chaluhy se nejvíce nacházejí v mírných a chladných částech oceánů. Žijí přisedle (jsou to tedy řasy bentické, jsou připevněny rhizoidy nebo jsou přisedlé celou stélkou) na skalách, kamenech, trámech aj., mnohé při mělké vodě leží volně, drobné chaluhy se také objevují jako epifyti na jiných řasách nebo

jako endofyti v pletivech větších řas. Tvoří hlavní vegetaci nepísčitých mořských pobřeží a na skalnatých pobřežích vykazují zřetelnou zonaci druhů. Zástupci rodu *Sargasum* žijí pelagicky (bez spojení s pobřežím a dnem) v Sargasovém moři, které objevil Kolumbus při cestě do Ameriky a které je součástí Atlantského oceánu. Největší území osidlují právě druhy r. *Sargasum*. V Sargasovém moři je asi 4 - 10 milionů tun sargas. Drobné chaluhy jsou hojně rozšířeny mj. na skalách či na mušlích. V tropických mořích je menší množství pobřežních chaluh [3].

Hnědé řasy jsou fotoautotrofní řasy se značnými nároky na světlo. V moři obývají hnědé řasy úzký pruh pobřeží, označován jako litorál a sublitorál [1].

Buněčná stěna je složena z pevné a slizové části (obdobně jako u ruduch); pevná část obsahuje celulosu a alginát, zatímco slizovitá část je složena z alginátu a fukoidanu. Obsah bílkovin je u hnědých řas nižší v porovnání s řasami zelenými či červenými. Hnědé řasy jsou bohatým zdrojem minerálních látek a vitamínu C [3,10].

V chloroplastech hnědých řas je vedle chlorofylu *a*, chlorofylu *c* a β - karotenu obsažen hnědý xantofyl fukoxantin a také violaxantin. Ze stélek hnědých řas se získává kyselina alginová, její soli algináty mají mnohostranné použití, např. v potravinářství (stabilizace krémů, zmrzlin, médium pro kvasinky při výrobě piva a vína), v textilním a papírenském průmyslu, při výrobě linolea, imitací kůže, ve stavebnictví, k impregnaci proti vodě apod.. Algin je názvem pro alginovou kyselinu a její soli algináty. Kyselina alginová je hlavní složkou stélky hnědých řas. Sklizeň čerstvých hnědých řas, využívaných především pro výrobu alginátů, přesahuje půl milionu tun ročně. Algin tvoří asi 40 % sušiny řas [1,4,11].

Původ chaluh není dosud objasněn. Je známo poměrně málo fosilních chaluh, protože jejich zkameněliny vznikaly špatně vlivem měkké stélky. Fosilní jsou známy od triasu. Chaluchy přes veškerou svou mnohotvárnost představují skupinu, která má stejné biochemické znaky (pigmenty, produkty asimilace) a stejnou stavbu buněk pohyblivých stádií [3].

Pro lidskou výživu má význam řád *Laminariales*, jehož druhy však rostou hlavně při pobřeží studených moří. Druhy rodů *Laminaria*, *Alaria* a *Undaria* se v Číně a Japonsku, kde se místy i pěstují, používají jako zelenina nebo se z nich připravuje tzv. kombu (též v konzervách) nebo kurinori, přísada do polévek, omáček a rýže, nebo slouží i k přípravě čaje [3].

Kombu (*Laminaria japonica*)

Kombu je hnědá řasa, která roste v čistých, chladných vodách severu. Pro Kombu je nejtypičtějším místem Japonsko. Zvláště město Minamikayabe. Je také známa pod pojmy konbu, dashima či haidai. U nás také pod pojmem kelp. Roste ve velkých hloubkách oceánů. Po jeho sklizni je sušeno na pláži. Získává se z něj bílý prášek, jehož chuť je u vědců označována jako „umami“ [12].

První záznam o této řase pochází z roku 797 z města Shoku Nihongi. Předpokládá se však, že jeho historie sahá do mnohem dřívějších dob. Doposud však nebyl nalezen žádný archeologický důkaz. Sušení řas napomáhálo dlouhodobějšímu uchování této potraviny a díky této konzervaci se začala rozšiřovat také mimo Japonsko [13].

Velmi kvalitní japonské kombu je sklíženo z chladného severního moře u ostrova Hokkaido. Kombu tvoří tvrdé listy, které dorůstají 5 - 10 m a jsou široké 2 - 3 cm, po usušení mají tmavě zelenou barvu, což je způsobeno kyselinou glutamovou [12,13,14].



Obr. 1. *Laminaria japonica*(Kombu) [15].

Wakame (*Undaria pinnatifida*)

Wakame je dlouhá řasa s temně zelenými listy, rostoucí v okolí japonského ostrova Hokkaidó. Sklízí se od února do června pomocí dlouhých háků. Na pobřeží je postupně namáčena do horké vody, poté do vody studené a nakonec je na šňůrách sušena [16].

Patří mezi jednu z nejpopulárnějších mořských řas v Japonsku a Koreji již po staletí. Wakame se skládá především ze sacharidů, bílkovin, minerálů, tuků a vitaminů. V

porovnání s ostatními potravinami je Wakame zdrojem velkého množství vitaminů a minerálů [6].

Obsah bílkovin ve Wakame je téměř stejný jako v zrninách či zelenině, udává se množství 11 - 24 %. Obsah tuků je u Wakame velmi nízký. Uvádí se hodnota 3 % z celkového množství sušených řas. Složení mastných kyselin je téměř totožné s rostlinnými oleji. Je také bohatá na nenasycené mastné kyseliny (eikosapentaenová, linolenová či arachidonová kyselina) [17].

Wakame je zvláště bohatá na vitaminy B₁, B₂, C, niacin a karoteny (které jsou v těle přeměněny na vitamín A). Díky vstřebávání minerálních látek z mořské vody je Wakame bohatým zdrojem všech minerálů základních pro lidské tělo včetně vápníku, sodíku, hořčíku, draslíku, fosforu, síry, jódu, železa, zinku a různých stopových prvků. Je významným zdrojem železa a jódu [17,6].



Obr. 2. *Undaria pinnatifida* (Wakame) [18].

1.2 Červené řasy (*Rhodophyta*)

Ruduchy, červené řasy, jsou řasy, které obývají převážně teplejší moře, ve sladkých vodách je málo rodů a druhů. Velmi dobře se jim daří např. v teplých vodách při asijském a australském pobřeží, kde žije velké množství druhů. Většinou jsou to vícebuněčné organismy, jen málo je jich jednobuněčných. Vícebuněčné stélky ruduch jsou vláknité, listovité, značná část stélek ruduch je tvořena tkáňovými komplexy. Ruduchy se vyživují autotrofně. Žijí převážně v litorální zóně moří. Pronikají i do větších hloubek, kde je ještě slabé světlo (do 200 m). Jsou to řasy bentické, žijí přisedle, většinou na kamenech, mnohé z nich však rostou i na větších řasách. Sladkovodní druhy se vyskytují v čistých vodách. Rozeznáváme asi 500 - 600 rodů a asi 4000 druhů [3].

Červené řasy tvoří spolu s hnědými a zelenými řasami pobřežní pás mořské vegetace. Stélky některých ruduch, bohaté na vitaminy B a C, se pojídají jako salát nebo se vaří a různě se upravují [4].

Buněčná stěna je dvouvrstevná, vnitřní strana je tvořena celulosou, vnější z pektinů. Chloroplasty těchto řas, žijících hlavně v moři, řidčeji ve sladkých vodách, obsahují vedle chlorofylu *a*, karotenů (α a β -karoten), xantofyly a také červený r-fykoerythrin, někdy i modrý c-fykocyanin. Červené zbarvení umožňuje absorpci krátkovlnných složek světla (modrých a zelených), které pronikají do větších hloubek. Hlavní fotosyntetický pigment, chlorofyl *a* je obsažen v tylakoidech. U některých ruduch byl zjištěn také chlorofyl *d*, ale jeho distribuce není přesně zmapována. Dalšími pigmenty v chloroplastech jsou xantofyly zeaxantin a lutein. Výsledná barva ruduch závisí na poměrném zastoupení jednotlivých pigmentů v chloroplastech od jasně červené až po modrozelenou [1,4,19,20].

Zásobní látkou je florideový škrob. Obsah bílkovin dosahuje až 47 % [21,22].

Hospodářský význam ruduch je především v tom, že se z nich průmyslově získává polysacharid agar, používaný v mikrobiologii a lékařství jako živné médium pro kultivaci mikroorganismů, tkáňových kultur apod., v textilním, papírenském i potravinářském průmyslu (rosoly, čerění vína). Agary se z řas získávají nejčastěji extrakcí horkou vodou v neutrálním, kyselém nebo alkalickém prostředí. Agary se díky vysokému bodu tání gelů používají především do pekařských výrobků, dále při výrobě džemů a želé, cukrářských výrobků, mléčných výrobků, masových, rybích a drůbežích výrobků a nápojů [4,11].

Dalším významným zástupcem polysacharidů u řas je karagenan a furcellaran. Karagenany jsou extrakty z červených mořských řas. Karagenany se z řas extrahují nejčastěji horkou vodou v alkalickém prostředí jako sodné soli. Furcellaran se získává hlavně z červených řas rodu *Furcellaria*. Někdy bývá označován také jako dánský agar, protože se jeho zdroj vyskytuje především při pobřeží Dánska. V Japonsku se takto využívá zejména rod *Porphyra* (nori), na Havaji např. *Gracillaria* [4,11].



Obr. 3. Rhodophyta [23].

1.3 Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Patří k druhově nejbohatším a v přírodě k nejrozšířenějším. Z fylogenetického hlediska tvoří počátek mohutné, složitě diferencované vývojové linie zelených rostlin [4,20].

Většina zelených řas (asi 90 %) žije v planktonu a bentosu sladkých vod. Mnohé větší druhy se vyskytují i v moři, a to v blízkosti pobřeží. Na mořském planktonu se podílejí jen málo. Některé druhy osidlují vlhká stanoviště, jiné nacházíme i v půdě. Určité druhy snášejí značné vysušení a jsou to vysloveně suchozemské rostliny. Některé žijí symbioticky na lišejnících nebo intracelulárně v tělech nižších živočichů (zoochlorelly). Někteří zástupci ztratili asimilační pigmenty a žijí heterotrofně. Počet druhů se udává kolem 7000 ve 450 rodech [3,4].

U zelených řas jsou zastoupeny téměř všechny organizační stupně stélek. Chloroplasty jsou čistě zelené, obsahují chlorofyly *a* a *b*, karoteny a xantofyly, které však zelenou barvu chlorofylů nepřekrývají. Nejdůležitější rezervní látkou je škrob, který vzniká v podobě zrnků na pyrenoidech a ukládá se na jejich povrchu nebo volně v chloroplastech.

K rezervním látkám patří také značné množství tuků. Buněčná stěna je převážně z celulosy a celulosní složka je uložena v amorfni hmotě, tvořené různými polysacharidy. Množstvím bílkovin se podobají řasám červeným, a to obsahem 10 – 47 % [24,10].

Kombinací asimilačních pigmentů, škrobem a celulosními stěnami buněk připomínají vyšší rostliny, což podporuje domněnku, že počátky vyšších rostlin lze hledat právě v zelených řasách. Fosilní nálezy jsou známe již z prvohor, hojnější jsou z druhohor a z pozdějších geologických období [3].

Pro vysoký obsah lehce stravitelných bílkovin a schopnost rychlého rozmnožování se jednobuněčné zelené řasy pěstují ve velkoobjemových kultivačních zařízeních a používají se jako přídavek do krmiv pro skot a drůbež, jako surovina k výrobě papíru, dále do kosmetických přípravků, jako přírodní léčiva a také pro přímou lidskou výživu. Pro kultivaci mají význam zejména rody *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*. Řasy rodu *Ulva*, především *U. lactuca*, s vysokým obsahem vitaminů B, C a K, rostoucí při pobřeží světových moří, mají jedlé, asi 20 - 25 cm dlouhé stélky [4].



Obr. 4. Chlorophyta [25].

1.3.1 Chlorella

Jedná se o zelenou, sladkovodní, jednobuněčnou řasu, popsanou vědci již roku 1890. Její název je odvozen od latinského zelený a malý. Pro svůj vysoký obsah chlorofylu (nejvyšší ze všech známých rostlin) má sytě zelenou smaragdovou barvu. Po trávě voní i chutná. Vyskytuje se na Zemi 2,5 miliardy let. V příznivých podmínkách se silným slunečním svitem a v neznečištěném prostředí se množí vysokou rychlostí [26,27,28,29].

Nejdelší tradicí v pěstování *Chlorelly* mají asijské země, zejména Japonsko, které využívá několik tisíc tun *Chlorelly* ročně, hlavně v oblasti lidské výživy, farmacie a kosmetiky. Rozšiřuje se i využití v tzv. akvakulturách, kde tvoří cennou složku výživového řetězce v řízených intenzivních chovech choulostivých druhů ryb a garnátů. *Chlorella* se pěstuje nejčastěji v kruhových bazénech s otáčejícím se míchacím ramenem nebo v protáhlých bazénech písmene O, v nichž je 20 - 30 cm silná vrstva anorganického živného roztoku a spolu s řasami je vystavená slunečnímu svitu a probublává oxidem uhličitým, je v neustálém pohybu pomocí lopatkových míchadel [30].

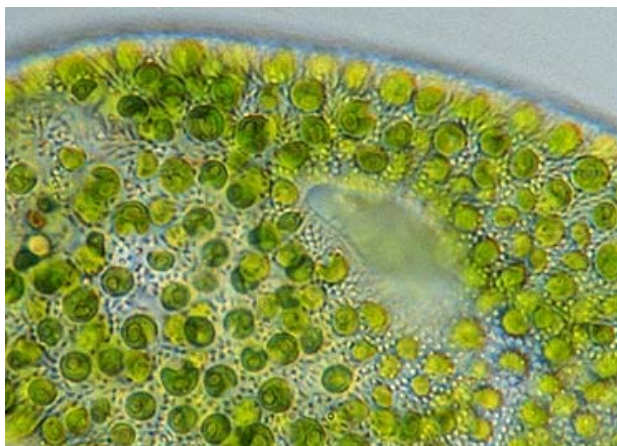
U nás se s pěstováním *Chlorelly* můžeme setkat v Sektoru autotrofních mikroorganismů Mikrobiologického ústavu Akademie věd na Opatovickém mlýně v Třeboni, který dnes patří v oboru řasových biotechnologií mezi světově uznávaná a velmi zkušená pracoviště. Třeboňský kultivační systém, vyvíjený a postupně optimalizovaný od r. 1960, je zcela odlišný. Je založen na použití nakloněných ploch, po nichž řasová suspenze během dne trvale stéká v tenké vrstvě optimální rychlostí, která je určena sklonem plochy a za optimální turbulence. V noci je suspenze řas uložena ve vzdušných sběrných nádržích. Zatímco v Třeboni je *Chlorella* sklizena za kultivační sezonu 150 dní, v přepočtu na 1ha plochy 20 -25 t suché hmoty řas, na jihu Evropy nebo severu Afriky s kultivačním obdobím 300 - 320 dní v roce, stoupají výnosy až na trojnásobek [30].

Buněčná stěna je velice silná, což zhoršuje stravitelnost a také její využití. Bílkoviny tvoří až 60 % buněčného obsahu. Obsahují ve vyváženém poměru všechny esenciální aminokyseliny, které si člověk neumí sám vytvořit (sója, nejvíce ceněný rostlinný zdroj bílkovin, jich neobsahuje více než 35 %) [30,31].

Sacharidy, nejčastěji škrob, tvoří asi 10 % suché hmoty řas a tuky 15 %. Jejich značnou část zastupují esenciální nenasycené mastné kyseliny, zejména kyselina linolová a linolenová, které jsou pro lidský organismus nenahraditelné. Jsou výchozí surovinou pro

tvorbu řady chemicky složitých látek (prostacyklinů, prostaglandinů, leukotrienů). Asi 8 % suché hmoty *Chlorelly* reprezentuje vláknina a polysacharidy buněčných stěn. Kromě 3 - 4 % chlorofylu (což je asi 10 x více, než u vojtěšky, ze které se chlorofyl nejčastěji získává), zeleného barviva s vysokým obsahem hořčíku, obsahuje *Chlorella* také karotenoidy, což jsou oranžová a žlutá barviva, z nichž je nejcennější β - karoten. Množství β - karotenu u *Chlorelly* je asi 10 – 20 x více než u karotky, nejznámějšího rostlinného zdroje této látky. Ke ztrátám β - karotenu dochází při sprejovém sušení *Chlorelly*. Vločky *Chlorelly* udržují 52 % obsahu β - karotenu, zatímco jemný prášek udržuje množství β - karotenu jen z 32 %. Důležitou složkou buňky *Chlorelly* jsou biologicky vázané a tedy i dobře v organismu využitelné základní minerální látky (fosfor, draslík, hořčík, vápník a železo). Jejich koncentrace je u řas většinou vyšší, než u suchozemských rostlin. Železa se v této řase vyskytuje 20x více než u špenátu či pažitky, rostlin na železo nejbohatších. Velmi cenný je obsah potřebných stopových prvků (mangan, zinek, měď a kobalt). Další skupinou látek, kterých obsahuje *Chlorella* výrazně více než jiné rostliny jsou vitaminy. Cenný je vysoký obsah vitaminů řady B (obsahuje více vitaminu B₁₂ než je v hovězích játrech), kyseliny askorbové (vitamin C), kyseliny nikotinové [26,30,32].

Chlorella růstový faktor (*Chlorella* Growth Factor – CGF), vodou extrahovatelná frakce buněk, která obsahuje volné aminokyseliny, peptidy, glykoproteiny, polyamidy, některé vitaminy, minerální látky a jiné, dosud nepříliš exaktně stanovené složky. Účinky tohoto extraktu podporují regeneraci tkání, dělení a růst buněk. Stimuluje tvorbu leukocytů a jejich fagocytární aktivitu (schopnost likvidovat cizorodé bakterie), stimuluje tvorbu lymfocytů, zodpovídajících za syntézu protilátek, které zabezpečují obranyschopnost organismu vůči infekcím. Je vhodným dietetikem při aplikaci probiotik, látek pozitivně ovlivňujících složení střevní mikroflóry [30].



Obr. 5. *Chlorella* [33].

1.4 SINICE

Sinice jsou prokaryotní organismy. Sinice jsou všeobecně rozšířené ve vodním prostředí, v půdě i v biotopech s extrémní teplotou (oblasti s vulkanickou aktivitou), salinitou (slaná jezera) i v oblastech s extrémními hodnotami pH. Vyskytují se také na pouštích i v polárních oblastech, kde nemají konkurenci jiných fotoautotrofů. Sinice vstupují do symbiotických interakcí. Nevýznamnější z nich je endosymbióza, která dala vznik chloroplastům všech fotoautotrofních organismů a rostlin. Sinice jsou nejstarší fotoautotrofní organismy na Zemi. S jejich vývojem je spojen vznik kyslíkové atmosféry. Na rozdíl od řas nemají buněčné jádro ohraničené jadernou membránou, nýbrž jadernou hmotu představuje jediná kruhová molekula DNA, fotosyntetická barviva (chlorofyl a , β - karoten, xantofyly, modrý c - fykocyanin a červený c - fykoerythrin) nejsou uzavřena v plastidech, ale na povrchu volně uložených fotosyntetických membrán (tylakoidů). Zásobní látkou je sinicový škrob [1,4].

Jedním z důvodů biotechnologického zájmu o sinice je vysoký obsah bílkovin. Díky schopnosti poutat ve specializovaných buňkách vzdušný dusík se podílejí na zúrodnění půd a výživě některých kulturních rostlin. To má zásadní význam např. pro vody rýžových polí zemí východní a jižní Asie. Sinice se účastní tvorby léčivých bahen a v lékařství jsou pokusně užívány při léčení těžko hojitelných zánětů a ran. Ve vodárenství a vodním hospodářství se negativně projevují vodní květy. Postihují zejména málo průtočné přehrady a rybníky, bohaté živinami. Mohutné vodní květy znemožňují nebo znesnadňují technologické využití těchto důležitých zásobáren vody v létě a na podzim. Při hromadném uhynutí jsou zdrojem zápachu a příčinou hynutí ryb [1,4,20].

V tropických jezerech žijí sinice rodu *Arthrospira* (*Spirulina*), pro vysokou reprodukční schopnost se využívají ke kultivaci. Ve velkém se tato sinice pěstuje např. v Japonsku a USA, neboť lehce stravitelné stélky jsou bohaté na karoten a vitamíny, zejména B₁₂. V některých oblastech tropické Afriky a Střední Ameriky domorodci pojídají suché placky z vodního květu tvořeného vlákny *A. geitleri*. V Číně a Japonsku odedávna považují za lahůdku kolonie rodů *Nostoc* a *Aphanothece* [4].

1.4.1 Spirulina

Spirulina bývá z obecného hlediska zařazena mezi modrozelené řasy, přítomností chlorofylů a fykocyaninu. Jedná se o řasu jednobuněčnou, které se daří v teplých oblastech. Jméno „*Spirulina*“ je odvozeno z latinského slova „helix - spirála“, což označuje fyzické uspořádání organismu, kdy se vytváří mikroskopické spirálovité vlákna. Přestože se jedná o jednobuněčný organismus, svou velikostí je relativně velká. Dosahuje velikosti až 0,5 mm na délku. Je to asi stokrát více, než velikost většiny ostatních řas. Velmi dobře se jí daří ve velmi teplých vodách s teplotou od 32 - 45 °C, a dokonce přežívá i v teplotách blízkých se k 60 °C. Určité druhy, které jsou adaptované na poušť, přežívají při vypařování rybníkových lokalit, a to účinkem slunečního záření. *Spirulina* rostoucí v horkém a alkalickém prostředí je indikátorem čistých vod. Mezi řasami je neobvyklá také proto, že udržuje svou výživovou hodnotu i při působení vyšších teplot. Její metabolický systém je založen na fotosyntéze, procesu, který využívá slunečního světla a chlorofylu [34,35].

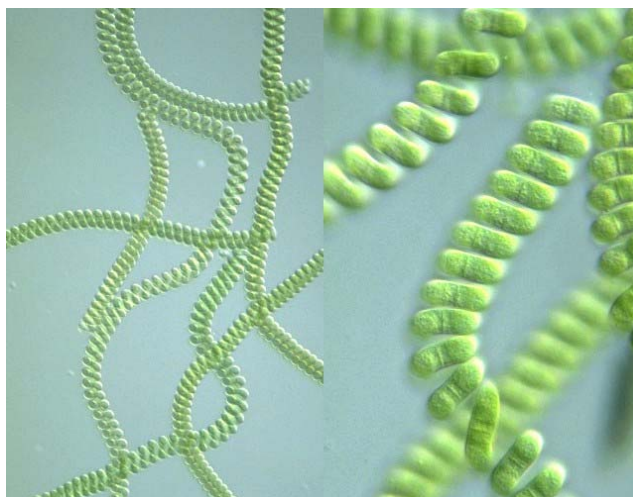
Živiny *Spiruliny* jsou velmi lehce stravitelné. Patří mezi ně bílkoviny, sacharidy, minerály a stopové prvky, β - karoten, chlorofyl, omega - 3 mastné kyseliny a spousta dalších. Obsahuje všech osm nepostradatelných aminokyselin. Poskytuje je ve formě, která je pětkrát stravitelnější než u masa či sójových bílkovin [34,35,36,37,38].

Neobsahuje v buněčných stěnách žádnou celulosu. Tato skutečnost dělá *Spirulinu* snadno a lehce stravitelnou. Je stravitelná z 85 - 95 %. Obsah polysacharidů se vyskytuje v rozmezí 10 - 15 %, a jde především o rhamnosu a glykogen. Obsahuje také malé množství škrobů. Obsah tuků ve *Spirulině* je pouze 5 %, což je nižší obsah než u všech zdrojů bílkovin, ve formě esenciálních mastných kyselin, které podporují normalizaci cholesterolu. Tyto esenciální mastné kyseliny jsou zapojeny do dýchání ve všech buňkách a jsou zvláště důležité pro přepravu kyslíku. Deset gramů *Spiruliny* má zhruba jen 36 kalorií [34].

Spirulina má asi o 4 % méně nukleových kyselin (DNA a RNA) než *Chlorella* a další mikrořasy, kvasnice a houby [39,40,41,42].

Spirulina je jedna z mála rostlinných zdrojů vitamínu B₁₂, který je obvykle nacházen pouze v živočišných tkáních. Obsahuje více než dvojnásobné množství tohoto vitamínu než se vyskytuje v odpovídající porci jater. Dále je významným zdrojem vitaminů B₁, B₂, B₆, C, E, H, kyseliny listové a nikotinové. Obsah β - karotenu, který je provitaminem vitamínu A, je 20 – 25 x vyšší než u mrkve. Dále je zdrojem železa, hořčíku, vápníku a draslíku. Je zdrojem 18ti aminokyselin, které jsou základními složkami lidských buněk a je významným zdrojem γ - linoleové kyseliny (GLA). *Spirulina* tedy poskytuje vysoké koncentrace mnoha jiných živin – aminokyseliny, minerály, barviva, cukry, stopové prvky a enzymy – které jsou v lehce stravitelné formě [34,37,35,43].

Hodnoty bílkovin, minerálů a vitaminů jsou u *Spiruliny* značné, ale vyznačuje se také velkým množstvím pigmentů, které jsou biochemicky důležité pro život. V případě těchto pigmentů se u *Spiruliny* jedná jednoznačně o chlorofyl, který je nejvíce zřejmým barvivem právě u *Spiruliny*. Fykocyanin je barvivo, které udává její modrozelené zbarvení, je nalezený v koncentracích kolem 7 % [34].



Obr. 6. *Spirulina* [44].

2 ŽIVINY

Chemické látky v potravě, které tělo vstřebává a používá k tvorbě buněk, jako zdroj energie či jimi uspokojuje jiné potřeby, nazýváme živinami neboli nutriety. Za základní živiny v potravě považujeme bílkoviny, sacharidy, lipidy, minerální látky, vitaminy a je zde zařazena také vláknina i přesto, že se nevstřebává [45].

2.1 Bílkoviny

Bílkoviny, též proteiny, jsou vysokomolekulární látky. Jsou zbudovány z aminokyselin a základem jejich molekuly je polypeptidový řetězec vytvořený vzájemnou vazbou sta až několik tisíc aminokyselin. Ze suché hmotnosti buňky tvoří bílkoviny zhruba jednu polovinu. Podílejí se na základních životních procesech (mají funkci strukturní, metabolickou a informační). Jsou základní živinou, jsou nenahraditelné a slouží k tvorbě vlastních proteinů orgánů a tkání a k tvorbě enzymů [46,47,48].

Doporučený příjem bílkovin je ovlivněn fyzickou zátěží organismu a obecně činí 10 – 15 % energetické hodnoty [49,50].

Obsah bílkovin v hnědých řasách je obecně nízký (průměrně 5 - 15 % hmotnosti sušiny), zatímco u zelených a červených řas je bílkovinný obsah vyšší (průměrně 10 - 30 % hmotnosti sušiny). V některých červených řasách jako je například *Palmaria palmata* (dulce) a *Porphyra tenera* (nori), se může obsah bílkovin dostat až k hranici 35 - 47 % sušiny. Tyto hodnoty jsou srovnatelné se zeleninou o vysokém obsahu bílkovin, sójových bobů (kde proteiny zastupují 35 % sušiny). U hnědých řas (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* a *Himanthalia elongata*) jsou obsahy bílkovin nízké, s výjimkou řasy *Undaria pinnatifida*. *Spirulina* (sladkovodní mikrořasa), je velmi známá pro svůj vysoký obsah bílkovin (70 % sušiny). Stravitelnost těchto proteinů v živém organismu není zatím zcela doložena. Fykobiliproteiny se vyskytují v červených a modrých řasách (modrý fykocyanin ve *Spirulině* a fykoerythrin v červených řasách). Tyto proteiny jsou vytvořené ve žluči. Nedávné studie ukázaly, že fykobiliproteiny prezentují antioxidační vlastnosti, které mohou být prospěšné v prevenci či léčení neurodegenerativních nemocí (Alzheimerova a Parkinsonova nemoc), stejně tak jako v případech žaludečních vředů. *Spirulina* obsahuje 65 - 71 % bílkovin. V porovnání s ostatními potravinami je to velmi vysoké množství. Obsah je daleko vyšší než u zvířecího a rybího

masa (15 - 25 %), sójových bobů (35 %), sušeného mléka (35 %), vejcích (12 %) či v plnotučném mléce (2 %) [35,38,51,52,53].

2.1.1 Aminokyseliny

Zastoupení různých aminokyselin v dané molekule bílkoviny lze snadno zjistit určováním jejich počtu (vyjadřuje se zpravidla v %) po úplné hydrolyze bílkoviny. Aminokyselinové složení je pro každý druh bílkoviny velmi charakteristické [47].

Aminokyseliny se v potravinách nacházejí jako stavební jednotky všech bílkovin, peptidů a také jako volné látky. V přírodních materiálech bylo prokázáno asi 700 různých aminokyselin [11].

Jedná se o sloučeniny, v jejichž molekule je přítomna alespoň jedna primární aminoskupina $-NH_2$ a současně alespoň jedna karboxylová skupina $-COOH$. Jedná se tedy o substituované kyseliny. Zabudování aminokyselin do molekul bílkovin je přísně řízeno a proto se označují jako kódované aminokyseliny [11,54].

Ve většině potravin bývá zhruba 99 % aminokyselin vázáno v bílkovinách a peptidech a zbytek (tj. asi 1 %) představují volné aminokyseliny. V bílkovinách většiny organismů se vyskytuje jen 20 základních aminokyselin (glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, serin, threonin, cystein, methionin, asparagová kyselina, glutamová kyselina, asparagin, glutamin, lysin, arginin, histidin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan a prolin). Některé aminokyseliny mohou být v organismu člověka syntetizovány z jiných aminokyselin, z glukosy, případně z mastných kyselin, aj. Určité aminokyseliny však není člověk schopen syntetizovat vůbec a musí je získávat výhradně z potravy. Tyto aminokyseliny se nazývají jako aminokyseliny esenciální. Poloesenciální aminokyseliny jsou arginin a histidin [11].

Limitujícími aminokyselinami pro většinu řas je methionin a lysin. V případě luštěnin je to methionin, u obilovin lysin a threonin a u kukuřice také tryptofan. Zatímco nejvyšších obsahů v řasách dosahuje kyselina asparagová a glutamová [24,55].

Valin se vyskytuje v živočišných i rostlinných bílkovinách (maso, obiloviny) v množství 5 - 7 %, v bílkovinách vajec a mléka v množství 7 - 8 %. V největším množství jej obsahují strukturální bílkoviny elastiny. Valin tvoří asi 13 % lidského těla. Stimuluje mentální funkce

a svalovou koordinaci, je potřebný pro růst a regeneraci tkání a udržuje rovnováhu dusíku v těle [11,28,56,57].

Leucin se vyskytuje ve všech běžných bílkovinách, nejčastěji v množství 7 - 10 %. Podněcuje mozkové funkce, zvyšuje svalovou energii. Leucin zlepšuje stav kostí, kůže i svalové hmoty. Zlepšuje regeneraci po chirurgických zákrocích, stimuluje tvorbu růstového hormonu, snižuje hladinu krevního cukru [34,58].

Isoleucin je nejvíce obsažen v mléčných a vaječných bílkovinách (6 - 7 %), v maso a obilovinách je přítomen v množství 4 - 5 %. Je využíván především srdečními i kosterními svaly jako zdroj energie po přeměně na glukosu, stabilizuje hladinu krevního cukru, chrání játra, podporuje tvorbu hemoglobinu. Musí být v rovnováze s leucinem a valinem. Je požadován pro optimální růst, mentální vývoj a pro rovnováhu dusíku v těle [11,34,58].

Bohatým zdrojem **threoninu** je maso a pivovarské kvasnice. Obsah v živočišných bílkovinách (maso, mléko, vejce) bývá kolem 5 %. Zlepšuje schopnost střev a zažívání. Pomáhá udržovat řádnou rovnováhu bílkovin v těle. Pomáhá při utváření kolagenu a elastinu [11,28,34].

Methionin – živočišné bílkoviny obsahují 2 - 4 %. V luštěninách je limitující aminokyselinou. Schopný metabolismu tuků a lipidů, udržuje správnou funkci jater. Pomáhá při odbourávání tuků a tím předchází hromadění tuku v tepnách. Je také velkým antioxidantem, je jeden ze dvou hlavních zdrojů síry v potravě [11,28,34].

Lysin – průměrný obsah v bílkovinách je 7 %. Vysoký obsah je v živočišných bílkovinách (maso, mléko, vejce), a to 7 - 9 %. Je však limitující aminokyselinou u většiny obilovin. Je potřebný pro růst a vývoj kostí u dětí a pomáhá při absorpci vápníku v těle. Bývá také spojován s rovnováhou dusíku v těle. Dále je potřebný k produkci hormonů, enzymů, kolagenu a také k regeneraci tkáně [28,50,57].

Fenylalanin je v potravě obsažen většinou v dostatečném množství. V běžných bílkovinách potravin je jeho obsah asi 4 - 5 %. U některých jedinců jeho přítomnost v potravě vyvolává tzv. fenylketonurii (vrozená metabolická porucha, jejíž podstatou je narušení metabolismu aminokyseliny fenylalaninu. Dochází k poruše štěpení bílkovin a následně k poruchám centrálního nervového systému). Je používán pro zlepšování nálady, využívá se v případě posílení paměti a učení [11,28,58].

Tryptofan je v živočišných bílkovinách zastoupen v množství 1 - 2 %. Cereálie obsahují méně než 1 %. Stabilizuje emoce a nervový systém. Lidské tělo ho používá pro tvorbu serotoninu, což je neurotransmitter potřebný pro normální nervovou a mozkovou funkci. Serotonin je dále důležitý pro spánek, stabilizuje emoční nálady, kontrolu bolesti či střevní peristaltiku [11,28,34].

Arginin je semiesenciální aminokyselina. Vyskytuje ve všech bílkovinách v množství 3 - 6 %. Je extrémně užitečný pro zvýšení odolnosti imunitního systému, zvyšuje velikost a aktivitu brzlíku, který je odpovědný za výrobu T - lymfocytů. U slinivky uvolňuje inzulín. Je také důležitý pro zdraví jater a pomáhá při neutralizaci amoniaku v játrech [11,28,58].

Histidin je obsažen v běžných bílkovinách v obsahu 2 - 3 %. V bílkovinách krevní plasmy až 6 %. Je potřebný pro růst a regeneraci tkáně. Dále je potřebný pro tvorbu červených a bílých krvinek, pomáhá tělu při ochraně proti poškození způsobenému zářením. V žaludku je nápomocný při výrobě žaludečních šťáv [11,28].

Glycin je ve značném množství obsažen zejména ve strukturálních proteinech (kolagen a také želatina), a to 25 - 30 %. Je výchozím metabolitem pro biosyntézu purinových basí a hemu. V mozku se podílí na excitačních účincích kyseliny glutamové, je významný zejména pro ukládání informací. V mozkovém kmeni, hřbetní míše a v sítnici oka má důležitou funkci jako inhibiční neurotransmitter [11,28].

Alanin se vyskytuje v množstvích 2 - 12 %, a to v běžných bílkovinách. Posiluje buněčné stěny. Je potřebný pro výměnu látek z glukosy a tryptofanu [11,28,34].

Serin se vyskytuje v mnoha bílkovinách zpravidla v množství 4 - 8 %. Pomáhá při tvorbě ochranného pouzdra, které obklopuje nervové vlákno [11,34].

Cystein - v nejvyšším množství je tato aminokyselina spolu s produktem oxidace - cystinem, přítomna v keratinech (až 17 %), v menším množství (1 - 2 %) v mnoha dalších bílkovinách. V organismu mohou částečně nahradit esenciální methionin. Je také nutný pro tvorbu aminokyseliny taurinu a je součástí antioxidantu glutathionu a je druhým hlavním zdrojem síry v potravě [11,28].

Asparagová kyselina a asparagin – průměrný obsah asparagové kyseliny v bílkovinách je kolem 5,5 % a asparaginu 4,4 %. Z živočišných bílkovin se v největším množství vyskytuje asparagová kyselina v globulinech a v albuminech (6 - 10 %). Rostlinné bílkoviny obsahují od 3 - 13 % asparagové kyseliny, především ve formě asparaginu

(např. bílkoviny pšenice asi 4 %, kukuřice asi 12 %). Hlavní význam kyseliny asparagové je při výměně látek během budování dalších aminokyselin a v citrátovém cyklu. Z kyseliny asparagové jsou syntetizovány asparagin, arginin, lysin, methionin, threonin, isoleucin a několik nukleotidů. Což je potřebné pro vytrvalost, mozek a napomáhá játrům při odstranění nadměrného množství amoniaku a dalších toxinů z krevního řečiště. Je také velmi důležitá pro funkci RNA a DNA, právě tak jako pro výrobu protilátek [11,28].

Glutamová kyselina a glutamin – průměrný obsah glutamové kyseliny v bílkovinách je 6,2 %, glutaminu 3,9 %. Glutamová kyselina je nejvíce zastoupenou aminokyselinou v nervové tkáni. V běžných bílkovinách jsou obě aminokyseliny většinou obsaženy ve větším množství (především v globulinech), v obilovinách a luštěninách v množství 18 - 40 %, v bílkovinách mléka bývá v množství 22 %. Je důležitá v metabolismu sacharidů a tuků. Glutamin není esenciální, patří mezi vůbec nejrozšířenější aminokyseliny. Je zdrojem stavebního materiálu pro enterocyty a imunocyty (významně zvyšuje imunitu, podporuje regeneraci střevní sliznice). Glutamin je důležitou součástí směsi aminokyselin, určených k rychlé obnově svalové hmoty a ke stimulaci její regenerace. Méně často bývá uváděna jako látka, nezbytná pro udržení dokonalé funkce tenkého střeva. Podporuje přirozenou odolnost organismu proti infekčním onemocněním. Je možným zdrojem energie, uplatňuje se při ochraně akutně přetíženého srdečního svalu, podporuje buněčnou regeneraci a růst, podporuje imunitu, tvoří součást podpůrných systémů při řešení nadváhy, obezity a diabetu. Stává se dočasně esenciální v případě, že dojde k zánětu, infekci či ke zranění. Je ideálním doplňkem výživy v průběhu chemoterapie a je prospěšný při zánětu sliznice ústní dutiny [11,28,58].

Tyrosin ve většině množství doprovází fenylalanin, vyskytuje se v množství 2 - 6 %, v želatině je přítomen pouze ve stopách [11].

Prolin je přítomen ve většině bílkovin v množství 4 - 7 %. Prolin je jeden z cyklických alifatických aminokyselin, který je hlavní složkou bílkoviny kolagenu, struktury pojivové tkáně, která spojuje a podporuje další tkáně. Prolin je syntetizován z glutamové kyseliny [11,28].

2.2 Sacharidy

Dle počtu cukerných jednotek vázaných v molekule se sacharidy dělí na monosacharidy, oligosacharidy, polysacharidy a složené (komplexní) sacharidy. Odhaduje se, že až 75 %

příjmu energie zajišťované sacharidy poskytují polysacharidy a 25 % oligosacharidy a monosacharidy [11].

V živočišných tkáních bývá obsah sacharidů jen několik procent, v rostlinných pletivech tvoří běžně 85 - 90 % sušiny. Jsou využívány především jako zdroj energie, proto se spolu s bílkovinami a lipidy řadí k hlavním živinám. Jsou základními stavebními jednotkami mnoha buněk, chrání buňky před působením vnějších vlivů. Jsou biologicky aktivními látkami nebo složkami mnoha biologicky aktivních látek jako jsou glykoproteiny, hormony či vitaminy. Podíl sacharidů ve stravě je doporučován ve výši 57 - 58 % z celkového množství přijímané energie [11].

Mořské řasy obsahují značné množství polysacharidů, zvláště pak buněčná stěna stavební polysacharidy, které jsou zvláštními hydrokoloidy průmyslu - algináty z hnědých řas, karagenany a agar z červených řas. Dalšími polysacharidy nalezenými v buněčné stěně jsou fucoidany (z hnědých řas), xylany (z jistých červených a zelených řas), a ulvany v zelených řasách. Mořské řasy obsahují také zásobní polysacharidy, významný je laminarin v hnědých řasách a škrob (amylopektin – jako glukán) v červených řasách. Většina těchto polysacharidů není lidmi strávena a mohou být proto považována za dietní vlákninu. Ve vodě rozpustná a nerozpustná vlákna byla spojena s různými fyziologickými efekty. Mezi polysacharidy byly zvláště studovány fucoidany, kvůli svým zajímavým biologickým aktivitám (působí proti srážení krve, působí proti bujení rakoviny, a protivirový a protizánětlivý prostředek). Tyto vlastnosti otevřely široké pole potenciálních léčebných aplikací, řada z nich je již předmětem patentů vztahující se k zabránění srážlivosti krve [59].

2.3 Lipidy

Lipidy patří k významným složkám potravin nezbytných pro zdraví a vývoj organismu. V organismu velice často slouží jako zdroj a zásoba energie, jsou součástí biomembrán nebo jinými stavebními složkami, mají ochranné a izolační funkce a slouží i jako rozpouštědlo některých lipofilních látek. Jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin, jsou nutné pro přirozený přísun lipofilních vitamínů a pozitivně ovlivňují sensorickou jakost potravin a pokrmů [11,60,61].

Podíl lipidů na celkovém příjmu energie by neměl dle současných doporučení přesáhnout 30 %. Lipidy nelze zcela nahradit jinými živinami, mají více jak dvojnásobný obsah

využitelné energie ve srovnání s bílkovinami či sacharidy. Z hlediska výživy je důležitá skladba mastných kyselin v tucích. Především obsah polyenových mastných kyselin – zejména kyseliny linolová a α – linolenová kyselina, organismus si je nedokáže sám vytvořit, a proto je nutný jejich přísun ze stravy [45,61].

Negativní působení tuků spočívá v jejich vysoké spotřebě a nesprávné skladbě. Jejich nadměrná konzumace je považována za jeden z nejdůležitějších rizikových faktorů řady tzv. civilizačních chorob [61].

Lipidy představují u řas pouze 1 - 5 % sušiny, ale ukazují zajímavé složení nenasycených mastných kyselin, zvláště omega - 3 a omega - 6 kyselin, které hrají roli v prevenci kardiovaskulárních nemocí, zánětů kostních kloubů a cukrovky. Zelené řasy vykazují zajímavé hodnoty α - linolenové kyseliny. Červené a hnědé řasy jsou zvláště bohaté na mastné kyseliny s 20ti atomy uhlíku - eikosapentaenová kyselina (EPA) a arachidonová kyselina. *Spirulina* nabízí zajímavý zdroj γ - linolenové kyseliny (GLA) (20 - 25 % celkového množství lipidů). *Spirulina* poskytuje také další alternativy známých zdrojů z GLA - rybízové pecky a olej z brutnáku lékařského. Mimo mastných kyselin byly nalezeny také karotenoidy (jako β - karoteny, lutein a violaxantin v červených a zelených řasách a fukoxantin v hnědých řasách), tokoferoly a steroly (jako fukosterol v hnědých řasách) a terpeny [62].

2.4 Minerální látky

Minerální látky potravin obvykle definujeme jako prvky obsažené v popelu potravin či jako prvky, které zůstávají ve vzorku potravin po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý, vodu aj. Minerální podíl tvoří u většiny potravin 0,5 – 3 hmotnostních %. Podle množství dělíme minerální látky na majoritní minerální prvky (dříve makroelementy), minoritní minerální prvky a stopové prvky (mikroelementy). Obsah minerálních látek se mezi jednotlivými potravinami velmi liší a také uvnitř určité komodity může být velmi variabilní. To je dáno odlišnostmi metabolismu prvků u různých organismů, genetickými faktory a zejména podmínkami produkce potravinářských surovin. U rostlin je obsah minerálních látek závislý na obsahu prvků v půdě, na vlastnostech půdy, způsobu a míře hnojení, na klimatických podmínkách či na stupni zralosti plodin [63].

Mořské řasy jsou významným zdrojem minerálních látek, makroelementů a stopových prvků. Minerální podíl některých mořských řas čítá až 36 % ze sušiny. Pokud jde o jód, *laminaria* je hlavní zdrojem a obsahuje 1500 – 8000 ppm hmotnosti sušiny (*fucals* obsahuje 500 - 1000 ppm hmotnosti sušiny jódu). Mořské řasy jsou také jedny z nejdůležitějších rostlinných zdrojů vápníku. Vápenatý obsah může dosahovat 7 % hmotnosti sušiny v makrořasách a až 25 - 34 % v práškovitých řasách lithotamne. Spotřeba řas tak může být užitečná v případě budoucích matek dospívajících a postarších lidí, protože všichni tito jsou vystaveni riziku vápenného nedostatku [64].

2.5 Vitamíny

Vitamíny jsou organické nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy. Vitamíny jsou v určitém minimálním množství nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Nejsou zdrojem energie, ani stavebním materiálem, ale vesměs mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí a proto bývají často označovány jako exogenní esenciální biokatalyzátory. Dělení vitaminů je možné dle rozpustnosti ve vodě a v tucích na vitamíny rozpustné ve vodě (hydrofilní) – vitamíny skupiny B a vitamin C či vitamíny rozpustné v tucích (lipofilní) – A, D, E, K. Potřeba většiny vitaminů je poměrně nízká. Množství potřebné k zajištění normálních fyziologických funkcí člověka je však závislé na mnoha faktorech jako je stáří, pohlaví, zdravotní stav, životní styl, stravovací zvyklosti či pracovní aktivita [63].

Řasy poskytují významný zdroj vitamínu C. Hodnoty vitamínu C jsou průměrně mezi 500 - 3000 mg/kg suchých zelených a hnědých řas (úroveň srovnatelná s hodnotami u petržele, černého rybízu a pepřů), zatímco červené řasy obsahují vitamin C kolem 100 - 800 mg/kg. Vitamin C je zajímavý z mnoha důvodů - posiluje imunitní obranný systém, aktivuje střevní vstřebávání železa, zachycuje volné radikály a obnovuje vitamín E. Řasy jsou zdrojem vitamínů skupiny B. Řasy obsahují vitamin B₁₂, mezi jedlými řasami je *Spirulina* nejbohatším zdrojem vitamínu B₁₂. Antioxidační vlastnosti vitamínu E zabraňují oxidaci lipoproteinů o nízké hustotě. Hnědé řasy obsahují více vitamínu E než řasy zelené a červené. Hnědé řasy obsahují α , β a γ - tokoferoly, zatímco zelené a červené řasy jen α - tokoferoly [65].

2.6 Vlákna

Pojem „dietní vlákna“ není příliš přesný, protože mnoho komponent zařazovaných mezi dietní vlákninu nemá vláknitou strukturu. Pojem „dietní vlákna“ označuje nestravitelná residua rostlinného původu v lidské stravě a nejsou to výhradně jen složky membrán rostlinných buněk. Dietní vlákninu dělíme na strukturální polysacharidy a necelulózoové polysacharidy (celulosa, hemicelulosa, pektiny), strukturální složky charakteru ligninu a nestrukturální polysacharidy (gumy, slizy). Z celkového množství dietní vlákniny je v lidské potravě obvykle 70 % necelulósových polysacharidů, 20 % celulosy a 10 % ligninu. Obsah vlákniny v rostlinné potravě závisí převážně na druhu ovoce nebo zeleniny, jejich zralosti a části (kořen, stonek, list, plod) [66].

Rozeznáváme vlákninu rozpustnou a nerozpustnou. Obecně lze konstatovat možnost použití vlákniny ve formě doplňků proti diabetu a obezitě, protože prodlužuje vyprazdňování žaludku, a tím oddaluje pocit hladu a současně snižuje glykemický index potravin. Upravuje kyselost vnitřního prostředí, ale stejně tak i prostředí ve střevě, a tak ovlivňuje mikroflóru. Snižuje cholesterol, chrání střevní sliznici (mukosu). Kromě dostatečně známého pektinu, který je přítomen ve významných množstvích především v ovoci, jsou to ještě insulin a oligofruktosa, které jsou na hranici mezi rozpustnou a nerozpustnou vlákninou [58].

Nerozpustná vlákna je nefermentovaná (celulosa a pšeničné otruby), to znamená, že ji nelze strávit. Proto zkracuje dobu průchodu přijaté potravy střevem a zvyšuje hmotnost výkalů, a tím pádem také působí preventivně proti zácpě. Neovlivňuje však metabolismus ani nesnižuje pH střevního obsahu [58].

Poměr rozpustné a nerozpustné vlákniny v potravě by měl být [1:3]. Vzhledem k tomu, že dosažení přiměřeného příjmu dietní vlákniny (35 - 40 g/den) znamená poměrně vysoký příjem rostlinné potravy, která je při stylu života a stravování v průmyslově vyspělých zemích špatně dostupná, jsou často používány přísady čisté vlákniny do hotových potravin (vlákna přidávaná do jogurtů, pečiva) nebo je podávána čistá dietní vlákna samostatně (tablety, sáčky, kapsle) [66].

V tenkém střevě zvětšuje dietní vlákna obsah potravy a tím způsobuje zrychlení pasáže obsahu tenkého střeva a současně snižuje absorpci živin. Zhoršená dostupnost a rozpustnost živin v potravě vlivem nestravitelné dietní vlákniny snižuje aktivitu

pankreatických a střevních fermentů a tím využitelnost živin obsažených v potravě. Dále dietní vláknina tlumí absorpci živin. Hrubá vláknina navíc snižuje obsah sekundárních žlučových kyselin v tlustém střevě, které mohou zvyšovat riziko kolorektálního karcinomu [66].

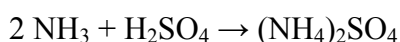
3 STANOVENÍ

3.1 Stanovení dusíkatých látek

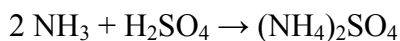
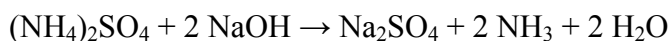
Stanovení obsahu dusíkatých látek v sušině je založeno na stanovení obsahu dusíku v sušině. Pro orientační stanovení obsahu bílkovin v potravinách je dostačující stanovení celkového obsahu dusíku, který je vyjádřen tzv. hrubou bílkovinou (značí celkový obsah dusíkatých látek). Celkový dusík se stanovuje 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 používat na některé formy dusíku, které se nedají mineralizací převést na amoniak. Zde patří např. diazosloučeniny, dusičnany a dusitany [47].

Kjeldahlova metoda využívá mineralizace organicky vázaného dusíku až na amoniakální dusík, působením koncentrované kyseliny sírové za varu. Následně probíhá vlastní mineralizace v Kjeldahlově baňce s koncentrovanou kyselinou sírovou. Mineralizace se urychluje přidávkem oxidačních látek jako je H_2O_2 , KMnO_4 , nebo katalyzátorů jako Hg, CuO, Se, případně směsi K_2SO_4 , HgO, V_2O_5 (Weiningerův katalyzátor), nebo v kombinaci s látkami zvyšující teplotu varu kyseliny sírové (K_2SO_4). Oxidaci organických látek katalyzuje i 30 % peroxid vodíku, který se opakovaně přidává v průběhu spalování do vychladlého vzorku [67].

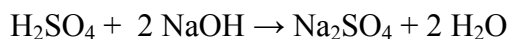
Mineralizací dusíku, který je v bílkovinách či aminokyselinách ve formě aminoskupiny či iminoskupiny, dochází k převedení na síran amonný :



Dochází k uvolnění amoniaku ze síranu amonného roztokem NaOH (30 % w/w) a destiluje se vodní parou v Parnas-Wagnerově destilačním přístroji do předlohy se známým nadbytečným množstvím odměrného roztoku kyseliny sírové.



Přebytek této kyseliny se poté titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného na indikátor Tashiro či metylčerveně.



Z množství spotřebované kyseliny sírové se vypočte obsah dusíku (1 ml 0,05 mol/l H₂SO₄ odpovídá 1,4 mg dusíku) a výsledek se vyjádří na 100 g vzorku. Obsah vzorku se přepočítá na obsah tzv. hrubé bílkoviny vynásobením faktorem 6,25, což je hodnota, která vychází z faktu, že bílkoviny obsahují 16 % dusíku. Faktor 6,25 je universální. Mimo tohoto universálního faktoru byly navrženy faktory jiné např. pro mouku, chléb, obiloviny a těstoviny 5,70; pro sušené mléko 6,38; pro ořechy 5,30 [68,69].

3.2 Stanovení aminokyselin

Stanovení aminokyselin v potravinách je jedna z nejpracnějších a nejdražších analytických operací v oblasti analýzy potravin. Stanovení aminokyselin je spojeno se dvěma okruhy problémů. V první řadě je nutné zajistit převedení aminokyselin, které jsou převážně vázané v bílkovinách, do formy volných aminokyselin a to beze ztráty 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 [67].

3.2.1 Příprava hydrolyzátu pro stanovení aminokyselin

V peptidech a bílkovinách jsou aminokyseliny vzájemně vázány peptidovými vazbami, musí se proto z těchto vazeb uvolnit hydrolyzou. Hydrolyza může probíhat v kyselém či alkalickém prostředí. Při kyselé hydrolyze se materiál hydrolyzuje za varu přebytkem kyseliny chlorovodíkové. Během hydrolyzy, která trvá 12 až 70 hodin při teplotě 100 až 110 °C, dochází k rozkladu tryptofanu a sirmých 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, se musí použít hydrolyza po dobu 70 hodin, u treoninu a serinu podle různých autorů dochází ke ztrátám ve výši 3 - 16 %, u tyrosinu jsou uváděny ztráty kolem 1 - 14 %. Tyroxin může být ještě 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 hydrolyzy se používá jednak grafická interpolace nebo řešení metodou lineárních nejmenších čtverců – ty však vyžadují 4 - 5 dob hydrolyzy. Prakticky se kyselá hydrolyza provádí pod zpětným chladičem, ve speciálních ampulích, které jsou evakuovány a následně naplněny dusíkem, nebo v autoklávu [67].

V současné době se k separaci a kvantifikaci aminokyselin používá výhradně metod vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC) nebo střednětlaké kapalinové chromatografie na iontoměničích [67].

3.2.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin

Aminokyseliny je možno oddělovat chromatografií založenou na výměně iontů. Chromatografická kolona je naplněna pryskyřicí s negativním nábojem a aminokyseliny jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH. Tím jsou všechny kladně nabitý. Za těchto podmínek nenastane chromatografické dělení. Aminokyseliny čekají na počátku kolony na změnu podmínek. 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. Podmínky jsou uraveny tak, že izoelektrické body, pro všechny aminokyseliny, se dosahují v různých časech. To umožňuje provést chromatografické dělení [61].

Automatický analyzátor aminokyselin 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 středotlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou, ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí [55].

3.3 Stanovení sušiny

S obsahem vody souvisí množství sušiny. Pojmeme sušina se rozumí suma všech organických i anorganických složek obsažených v potravině kromě vody. Pokud není možné některými metodami stanovit nerozpustné složky potravin, dělí se sušina na rozpustnou, nerozpustnou, organickou, apod. Celková sušina je suma rozpustné a

nerozpustné sušiny. Stanovuje se sušením do konstantního úbytku hmotnosti nebo nepřímo odečtem procenta vody od 100 [69].

Nejpoužívanější metodou pro stanovení sušiny a vody je sušení při 105 °C do konstantního úbytku hmotnosti, kde se využívá procesu difúze, tj. transport vody z vnitřních vrstev na povrch vyvolaný koncentračním spádem. Voda se povrchově odpařuje do okolí, čímž se naruší rovnováha mezi vnitřními a povrchovými vrstvami. Sušení pokračuje tak dlouho, dokud trvá tlakový gradient mezi parciálními tlaky odpařované kapaliny na povrchu materiálu a sušícím médiem. Rychlost sušení ovlivňuje povaha vzorku, tvar částic, množství navážky, teplota, vlhkost, rychlost a směr sušícího media [69].

3.4 Stanovení chlorofylu

Chlorofyly se z rostlinného materiálu izolují na základě extrakčních postupů acetonem, či směsí acetonu s petroletherem, hexanem, etanolem či ethyletherem a stanovíme je buď sumárně či po chromatografickém dělení spektrofotometricky. A to tak, že z čerstvého materiálu se extrahuje chlorofyl mixováním s acetonem. Po odfiltrování tuhých částí se filtr promývá acetonem, dokud není filtrát bezbarvý. Chlorofyl se přeextrahuje do ethyletheru, vysuší a změří se jeho absorbance při vlnové délce $\lambda = 660 - 642,5$ nm [69].

Metoda je velmi rychlá a jednoduchá, vhodná ke stanovení celkového chlorofylu v potravinách a jiných rostlinných materiálech [69].

PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo určení nutričních ukazatelů, jako je sušina, obsah dusíku, obsah chlorofylu a stanovení aminokyselin ve vybraných produktech mořských a sladkovodních řas. Zda by se řasy mohly díky svému složení stát zdrojem cenných látek pro člověka a zda by se mohly stát potencionálním řešením co do výživy člověka.

Aminokyseliny byly stanoveny po 24, 48 a 72 hodinové hydrolýze. Bylo provedeno srovnání mezi jednotlivým složením vzorků a byla brána v potaz různě dlouhá doba hydrolýzy co do obsahu aminokyselin. Byly stanoveny limitující aminokyseliny, spolu s chemickým skórem a indexem esenciálních aminokyselin, který vypovídal o kvalitě proteinu.

Pro stanovení chemického skóre bylo potřeba hodnoty dané aminokyseliny v testovaném proteinu vyděleny obsahem téže aminokyseliny ve standardním (referenčním) proteinu. Hodnota byla poté vynásobena stem a takto získané hodnoty esenciálních aminokyselin byly poté použity pro výpočet indexu esenciálních aminokyselin.

5 METODIKA PRÁCE

5.1 Stanovení aminokyselin

5.1.1 Použité přístroje a pomůcky

běžné laboratorní sklo a pomůcky

předvážky

třecí miska

analytické váhy – Explorer Pro model EP 214CM

lednička

vakuová odparka – RVO 400 (INGOS, ČR)

analyzátor aminokyselin – AAA 400 (INGOS, ČR)

termostat – Biological Termostat BT 120

5.1.2 Materiál

V rámci diplomové práce bylo použito pět druhů řas. Dva vzorky byly řasy sladkovodní – Spirulina a Chlorella a tři vzorky byly z hnědých řas mořských – Wakame, Wakame instant a Kombu muso. Veškeré užití řasy pro stanovení aminokyselin jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 1. Charakteristika zkoumaných druhů řas.

Produkt	Řasa	Výrobce	Původ suroviny
Spirulina Pacifica (zelenomodrá sladkovodní řasa)	<i>Spirulina Pacifica</i>	Nutrex, Inc. USA	Hawai
Chlorella Tabs (zelená sladkovodní řasa)	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Chlorella centrum s.r.o.	Taiwan
Kombu muso (hnědá mořská řasa)	<i>Laminaria japonica</i>	Country life s.r.o.	Japonsko
Wakame instant (hnědá mořská řasa)	<i>Undaria pinnatifida</i>	Country life s.r.o.	Japonsko
Wakame muso (hnědá mořská řasa)	<i>Undaria pinnatifida</i>	Country life s.r.o.	Japonsko

5.1.3 Metodika stanovení

Vlastnímu stanovení aminokyselin předcházela hydrolýza vzorků, která byla provedena po 24, 48 a 72 hodinách v závislosti na stanovovaných aminokyselinách. Pro stanovení v původních vzorcích byly navážky v hodnotách 0,3 – 2 g. Na analyzátoru aminokyselin bylo stanoveno sedmnáct aminokyselin, z nichž sedm bylo esenciálních, přičemž nebyl analyzován tryptofan.

Použité roztoky a chemikálie:

kyselina chlorovodíková (0,1 mol/l)

kyselina chlorovodíková (6mol/l)

kyselina mravenčí (85 % w/w)

peroxid vodíku (30 % w/w)

sodnocitrátový pufr pH 2,2 (0,2M)

Při otevřené kyselé hydrolýze bylo k naváženému vzorku přidáno 150 ml chlorovodíkové kyseliny (6 mol/l), obsah baňky byl promíchán. Poté byly vzorky vloženy do olejové lázně po dobu 23, 48 a 72 hodin. Po uplynulé době byly obsahy baněk přefiltrovány do odměrné

250 ml baňky a obsah byl doplněn kyselinou chlorovodíkovou (0,1 mol/l). Obsah baňky byl opět promíchán. Poté bylo odpipetováno 25 ml a tento vzorek byl odpařen na vakuové odparce do charakteristické strupovité konzistence. Pomocí tlumivého roztoku jsme tento odparek převedli do 25 ml odměrné baňky, z něhož byl 1ml zfiltrován na mikrofiltru (0,45 μm) a použit pro analýzu aminokyselin na analyzátoru AAA 400.

5.2 Stanovení dusíkatých látek

5.2.1 Použité přístroje a pomůcky

běžné laboratorní sklo a pomůcky

předvážky

analytické váhy – Explorer Pro model EP 214CM

lednička

destilační aparatura dle Parnase – Wagnera

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

5.2.2 Materiál

Materiál použitý k tomuto stanovení udává tab.1.

5.2.3 Metodika stanovení

Použité roztoky a chemikálie:

hydroxid sodný (30 % w/w)

kyselina boritá (2 % w/w)

kyselina sírová (konc.)

kyselina sírová (0,025 mol/l)

peroxid vodíku (30 % w/w)

Tashiro indikátor

Pro stanovení dusíkatých látek ve zkoumaných řasách bylo potřeba navážek jednotlivých vzorků od 0,15 – 1 g, a to přímo do mineralizačních baněk a k němu bylo přidáno 5 ml

konc. H_2SO_4 . Obsah baňky byl vložen do mineralizátoru a byl zahříván při $430\text{ }^\circ\text{C}$. Var byl udržován tak dlouho, dokud obsah baňky nepřestal pění a poté bylo přidáno 5 ml H_2O_2 (30 % w/w) a byl zahříván do vyčeření roztoku. Poté byl obsah baňky ochlazen a kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a mineralizát byl doplněn po rysku destilovanou vodou.

Stanovení dusíku probíhalo v Parnas – Wagnerově aparatuře. Bylo napipetováno 10 ml připraveného mineralizátu do destilační baňky přístroje, k němu bylo přidáno 20 ml roztoku hydroxidu sodného (30 % w/w), který uvolnil amoniak, který byl předestilován v destilační aparatuře s vodní parou a jímán do titrační baňky s 50 ml roztoku kyseliny borité (2 % w/w). Po konci destilace byla provedena titrace roztokem H_2SO_4 (0,025 mol/l) na Tashiro indikátor do stálého červenofialového zbarvení.

Z množství spotřebované kyseliny sírové byl vypočítán obsah dusíku ve vzorcích řas a vynásobením hodnot dusíku korekčním faktorem 6,25 bylo získáno množství hrubé bílkoviny (dusíkatých látek).

Výpočet obsahu dusíkatých látek % (w/w) :

$$W = \frac{a \cdot 10^{-3} \cdot c \cdot M_N \cdot f_t \cdot f_z \cdot f_{př}}{n} \cdot 100$$

a.....spotřeba odměrného roztoku H_2SO_4 při titraci (ml)

c (H_2SO_4).....koncentrace odměrného roztoku H_2SO_4 (0,025 mol/l)

M_Nmolární hmotnost dusíku ($M_N = 14,01\text{ g/mol}$)

f_ttitrační faktor ($f_t = 2$)

f_zzředovací faktor ($f_z = 5$)

$f_{př}$korekční faktor (6,25)

n.....navážka vzorku, která byla zmineralizována (g)

5.3 Stanovení sušiny

5.3.1 Použité přístroje a pomůcky

hliníková vysoušecí miska s víčkem

exsikátor

laboratorní váhy

sušárna

5.3.2 Materiál

Materiál použitý k tomuto stanovení udává tab.1.

5.3.3 Metodika stanovení

Vzorky řas byly sušeny v sušárně za stanovených podmínek (105 °C) do konstantní hmotnosti. Byl zjištěn rozdíl mezi hmotností vzorku před sušením a po vysušení. Z uvedeného rozdílu byl stanoven obsah sušiny v mořských a sladkovodních řasách.

Hliníková vysoušecí miska s víčkem byla předem připravena pro stanovení sušiny; vlastním vysušením (za shodných podmínek jako při vysušení vlastního vzorku) a uložena do exsikátoru k vychladnutí. Po vychladnutí byla zjištěna hmotnost takto připravené kompletní vysoušecí misky (tzn. i s víčkem). Navážka byla zapsána. Zaznamenalo se označení vysoušecí misky a navážilo se do ní 0,3 g vzorku, vážení na analytických vahách. Navážka byla zapsána. Otevřená vysoušecí miska i s víčkem byla vložena do sušárny a za předepsaných podmínek (105 °C) byl vzorek sušen do konstantní hmotnosti. Po uvedené době byla vysoušecí miska vyjmuta ze sušárny, uzavřena víčkem a vložena do exsikátoru pro vychladnutí. Po vychladnutí byl vzorek s kompletní vysoušecí miskou opět zvážen a hodnota byla zapsána. Zjištěný rozdíl hodnot na naváženém vzorku byl převeden na procentuelní podíl sušiny ve vzorku.

5.4 Stanovení chlorofylu

5.4.1 Použité přístroje, pomůcky a chemikálie

Standardní laboratorní vybavení:

laboratorní váhy

spektrofotometr

mořský písek

100 % aceton

MgCO₃

5.4.2 Materiál

Materiál použitý k tomuto stanovení udává tab.1.

5.4.3 Metodika stanovení

Vzorky řas byly podrobeny homogenizaci a to ve třecí misce, poté byly podrobeny extrakci acetonem a vlastnímu stanovení ve spektrofotometru.

Použité roztoky a chemikálie:

100 % aceton

MgCO₃

Na stanovení chlorofylu v původních řasách bylo naváženo 0,5 g. Tento vzorek byl převeden do třecí misky spolu s malým množstvím mořského písku a uhličitanu hořečnatého. Obsah třecí misky byl důkladně rozetřen a poté promyt 5 ml acetonu. Nechali jsme jej chvíli ustát a poté byl extrakt přes skleněnou tyčinku filtrován přes filtrační papír, který byl předem zvlhčený acetonem, do 50 ml odměrné baňky. Tento postup byl opakován tak dlouho, dokud nedošlo k úplnému odbarvení obsahu třecí misky. Acetonem byl promyt také filtrační papír a tím bylo dosaženo kvantitativní převedení chlorofylu do roztoku. Acetonový extrakt chlorofylu byl doplněn po značku. Takto získaný vzorek byl použit na měření absorbance při dvou vlnových délkách a to $\lambda = 645 \text{ nm}$ a $\lambda = 663 \text{ nm}$.

$$\text{chlorofyl } a = 12,70 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645} \text{ [mg/l]}$$

$$\text{chlorofyl } b = 22,90 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663} \text{ [mg/l]}$$

$$Ca + Cb = 8,02 \times A_{663} + 20,20 \times A_{645}$$

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci diplomové práce byly provedeny analýzy obsahu aminokyselin, chlorofylu, sušiny a dusíku. Hodnotily se vzorky zakoupené v České republice a Spirulina, původem z Ameriky, Havaje.

6.1 Stanovení aminokyselin

Stanovení aminokyselin bylo provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 5.1.3. V příloze P I/1 až P V/2 jsou uvedeny závislosti v obsahu aminokyselin po 24, 48 a 72 hodinové hydrolyze. Chemické skóre je vypočítáno a vztaženo ke standardnímu proteinu celého vejce, což vyjadřuje příloha P VI.

V tabulce 1 – 5 jsou uvedeny obsahy všech zkoumaných aminokyselin u vzorků řas, včetně chemického skóre.

V moderním určení nutriční hodnoty proteinů se vychází ze skutečnosti, že organismus není schopen syntetizovat esenciální aminokyseliny, zatímco skladbu ostatních aminokyselin může regulovat téměř libovolně podle potřeby. Proto se v proteinech stanovuje složení esenciálních aminokyselin a výsledky se vztahují k obsahu esenciálních aminokyselin přítomných v určeném referenčním proteinu. Tím je protein, který má z hlediska výživy optimální složení esenciálních aminokyselin (celovaječný protein). Je tedy v organismu velmi dobře využitelný. K hodnocení jsme použili dvě různá kritéria a to : chemické skóre (CS) a index esenciálních aminokyselin (EAAI).

Esenciální aminokyselina, která má ze všech EAA nejnižší hodnotu kritéria CS, určuje tedy nutriční hodnotu proteinu (může limitovat rozsah biosyntézy dalších aminokyselin), se nazývá limitující aminokyselina.

Tab. 2. Obsah aminokyselin u *Chlorelly*.

AA	Počet hodnot	Obsah AA [g/kg]		Obsah AA [g/16g N]	
		průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CS(%)
Val	25	33,84 ± 1,50	4,44	5,21 ± 0,23	76,62
Ile	23	10,12 ± 2,07	20,40	1,56 ± 0,32	24,76
Leu	25	21,51 ± 0,47	2,19	3,31 ± 0,07	37,61
Phe	22	18,36 ± 0,77	4,18	2,82 ± 0,12	49,47
Thr	25	27,64 ± 1,22	4,42	4,25 ± 0,19	83,34
Lys	22	12,72 ± 0,29	2,29	1,96 ± 0,04	28,00
Met	21	21,65 ± 2,89	13,37	3,33 ± 0,45	97,94
Cys	21	10,02 ± 0,94	9,35	1,54 ± 0,14	64,17
Pro	22	26,30 ± 5,77	21,94	4,05 ± 0,89	96,43
Gly	25	33,36 ± 0,98	2,93	5,13 ± 0,15	155,45
Ala	25	46,15 ± 1,42	3,07	7,09 ± 0,22	120,17
Ser	25	23,53 ± 0,69	2,91	3,62 ± 0,11	47,63
Tyr	25	52,04 ± 1,04	2,00	8,01 ± 0,16	190,71
Asp	25	53,24 ± 1,32	2,48	8,19 ± 0,20	85,31
Glu	25	66,02 ± 5,09	7,71	10,16 ± 0,78	80,00
His	22	26,54 ± 0,79	2,97	4,08 ± 0,12	170,00
Arg	22	44 ± 1,15	2,60	6,77 ± 0,18	110,98
Σ EAA		145,84		22,44	
EAAI (%)				50,23	
Σ sirné AA		31,67		4,87	
Σ AA		527,04		81,08	

Chlorella je ze všech sledovaných aminokyselin největším zdrojem glutamové kyseliny, kde množství dodané touto řasou bylo stanoveno na 66,02 g/kg. Poté následovala asparagová kyselina, s hodnotou obsahu 53,24 g/kg. Celkové množství aminokyselin u *Chlorelly* činilo 527,04 g/kg, z toho esenciální aminokyseliny 145,85 g/kg což představovalo přibližně 23 % dusíkatých látek. A obsah sirných aminokyselin byl stanoven na hodnotou 31,67 g/kg. Limitující aminokyselinou byl u *Chlorelly* isoleucin.

Tab. 3. Obsah aminokyselin u Spiruliny.

AA	Počet hodnot	Obsah AA [g/kg]		Obsah AA [g/16g N]	
		průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CS(%)
Val	29	33,44 ± 0,68	2,02	5,70 ± 0,12	83,82
Ile	29	10,9 ± 1,67	15,31	1,86 ± 0,28	29,52
Leu	29	29,62 ± 0,56	1,91	5,05 ± 0,10	57,39
Phe	25	22,21 ± 0,52	2,33	3,79 ± 0,09	66,49
Thr	29	31,14 ± 1,16	3,72	5,31 ± 0,20	104,12
Lys	25	10,92 ± 0,44	4,04	1,86 ± 0,08	29,52
Met	20	19,95 ± 0,57	2,85	3,40 ± 0,10	100,00
Cys	20	7,94 ± 0,28	3,55	1,35 ± 0,05	56,25
Pro	29	23,49 ± 0,90	3,84	4,00 ± 0,15	95,24
Gly	28	29,75 ± 0,85	2,86	5,07 ± 0,15	153,64
Ala	29	42,59 ± 1,01	2,37	7,26 ± 0,17	123,05
Ser	29	28,18 ± 0,81	2,89	4,80 ± 0,14	63,16
Tyr	29	49,59 ± 0,99	2,00	8,45 ± 0,17	201,20
Asp	29	58,96 ± 2,24	3,80	10,05 ± 0,38	104,69
Glu	29	77,88 ± 2,89	3,72	13,28 ± 0,49	104,57
His	25	25,97 ± 0,59	2,27	4,43 ± 0,10	184,58
Arg	25	25,74 ± 0,43	1,67	4,39 ± 0,07	71,97
Σ EAA		158,18		26,97	
EAAI (%)				59,41	
Σ sirné AA		27,89		4,75	
Σ AA		528,26		90,05	

Největší obsah u Spiruliny měla glutamová kyselina, a to 77,88 g/kg. Stejně jako u Chlorelly je druhé největší zastoupení u kyseliny asparagové, v obsahu 58,96 g/kg. Ze všech zkoumaných druhů řas měla Spirulina největší obsah aminokyselin celkem, a to 528,26 g/kg. Obsah esenciálních aminokyselin činil 158,18 g/kg, což představovalo přibližně 27 % dusíkatých látek. Limitujícími aminokyselinami byli isoleucin a lysin.

Vzájemným porovnáním obsahu jednotlivých aminokyselin ve sladkovodních řasách lze říci, že Spirulina byla bohatším zdrojem aminokyselin 528,26 g/kg oproti Chlorelle 527,04 g/kg. Což potvrzuje tvrzení, které říká, že Spirulina je významnějším zdrojem stravitelných bílkovin v porovnání s Chlorellou [70]. Přičemž nejvíce zastoupenými aminokyselinami byly u obou řas kyselina glutamová a kyselina asparagová. Shodné bylo také další pořadí,

kdy následoval tyroxin a alanin. Aminokyselinou s nejmenším obsahem byl v obou případech cystein.

Co se týká celkových esenciálních aminokyselin, tak větší obsah měla Spirulina 158,18 g/kg oproti Chlorelle 145,84 g/kg. V případě esenciálních aminokyselin měla Spirulina vyšší obsah isoleucinu, leucinu, fenylalaninu a threoninu, zatímco Chlorella měla vyšší obsah valinu, lysinu a metioninu. Limitující aminokyselinou u Spiruliny byl isoleucin, u Chlorelly to byl isoleucin spolu s lysinem. Bylo provedeno srovnání limitujících aminokyselin v jiné studii, která uvádí, že pro většinu řas je limitující aminokyselinou methionin a lysin. Analýzou v této práci byla potvrzena skutečnost, že pro některé druhy řas je limitující aminokyselinou právě lysin [55].

Index esenciálních aminokyselin vypovídá o tom, že Spirulina má vyšší hodnotu (59,41 %) oproti Chlorelle (50,23 %) a poskytuje tak kvalitnější protein.

Tab. 4. Obsah aminokyselin u Wakame instant.

AA	Počet hodnot	Obsah AA [g/kg]		Obsah AA [g/16g N]	
		průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CS(%)
Val	25	12,41 ± 0,54	4,37	5,57 ± 0,24	81,91
Ile	25	5,68 ± 0,16	2,86	2,55 ± 0,07	40,48
Leu	25	9,52 ± 0,35	3,66	4,27 ± 0,16	48,52
Phe	25	5,67 ± 0,17	3,06	2,54 ± 0,08	44,56
Thr	25	10,87 ± 0,51	4,73	4,88 ± 0,23	95,69
Lys	25	4,35 ± 0,13	3,08	1,95 ± 0,06	27,86
Met	16	7,47 ± 0,34	4,50	3,35 ± 0,15	98,53
Cys	18	2,99 ± 0,10	3,46	1,34 ± 0,05	55,83
Pro	24	9,63 ± 0,59	6,10	4,31 ± 0,27	102,62
Gly	25	12,04 ± 0,46	3,86	5,4 ± 0,21	163,63
Ala	25	14,87 ± 0,48	3,23	6,67 ± 0,22	113,05
Ser	25	10,29 ± 0,40	3,89	4,62 ± 0,18	60,79
Tyr	25	18,03 ± 0,51	2,84	8,08 ± 0,23	192,38
Asp	25	21,82 ± 1,09	4,98	9,78 ± 0,50	101,88
Glu	24	22,98 ± 1,25	5,43	10,31 ± 0,57	81,18
His	25	10,95 ± 0,33	2,99	4,91 ± 0,15	204,58
Arg	24	11,03 ± 0,32	2,88	4,95 ± 0,15	81,14
Σ EAA		55,97		25,11	
EAAI (%)				56,69	
Σ sirné AA		10,46		4,69	
Σ AA		190,62		85,48	

U Wakame instant byla situace obdobná, jako u dvou předešlých řas, a to tak, že největší zastoupení měla kyselina glutamová (22,98 g/kg) a druhá byla kyselina asparagová (21,82 g/kg). Nejmenší obsah v této řase měl cystein, 2,99 g/kg, ale limitující aminokyselinou byl v tomto případě lysin. Obsah esenciálních aminokyselin činil 55,97 g/kg, což představovalo přibližně 25 % dusíkatých látek. Co se týká celkového obsahu aminokyselin v této řase, představoval 190,62 g/kg a sirné aminokyseliny 10,46 g/kg.

Tab. 5. Obsah aminokyselin u Wakame muso.

AA	Počet hodnot	Obsah AA [g/kg]		Obsah AA [g/16g N]	
		průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CS(%)
Val	28	7,48 ± 0,26	3,45	4,04 ± 0,14	59,41
Ile	28	2,60 ± 0,24	9,06	1,40 ± 0,13	22,22
Leu	28	5,70 ± 0,18	3,21	3,08 ± 0,10	35,00
Phe	28	2,46 ± 0,23	9,52	1,33 ± 0,13	23,33
Thr	28	6,41 ± 0,32	4,95	3,46 ± 0,17	67,84
Lys	28	3,29 ± 0,10	3,11	1,77 ± 0,06	25,26
Met	19	4,41 ± 0,30	6,74	2,38 ± 0,16	70,00
Cys	19	2,01 ± 0,11	5,33	1,09 ± 0,06	45,42
Pro	28	8,1 ± 0,39	4,80	4,37 ± 0,21	104,05
Gly	28	8,08 ± 0,28	3,45	4,36 ± 0,15	132,12
Ala	28	23,62 ± 0,91	3,84	12,74 ± 0,49	215,93
Ser	28	6,51 ± 0,31	4,79	3,51 ± 0,17	46,18
Tyr	28	10,67 ± 0,35	3,26	5,76 ± 0,19	137,14
Asp	28	13,67 ± 0,74	5,41	7,38 ± 0,40	76,88
Glu	28	20,09 ± 1,10	5,50	10,84 ± 0,60	85,35
His	28	6,36 ± 0,22	3,38	3,43 ± 0,12	142,92
Arg	28	7,58 ± 0,28	3,66	4,09 ± 0,15	67,05
Σ EAA		32,35		17,46	
EAAI (%)				38,68	
Σ sirné AA		6,42		3,47	
Σ AA		139,04		75,02	

U Wakame muso byl v nejvyšším zastoupení alanin v množství 23,62 g/kg, poté následovala kyselina glutamová, 20,09 g/kg. Cystein byl u Wakame muso obsažen nejméně. Limitující aminokyselinou byl isoleucin. Celkový obsah aminokyselin byl stanoven na 139,04 g/kg, z čehož esenciální aminokyseliny zaujímaly 32,35 g/kg a představovaly tak přibližně 17,5 % dusíkatých látek. V případě sirných kyselin se jednalo o obsah 6,42 g/kg.

Tab. 6. Obsah aminokyselin u Kombu muso.

AA	Počet hodnot	Obsah AA [g/kg]		Obsah AA [g/16g N]	
		průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CS(%)
Val	27	4,95 ± 0,17	3,52	4,14 ± 0,15	60,88
Ile	27	2,15 ± 0,06	2,62	1,80 ± 0,05	28,57
Leu	27	3,30 ± 0,11	3,35	2,77 ± 0,09	31,47
Phe	27	2,19 ± 0,15	6,91	1,83 ± 0,13	32,11
Thr	27	5,19 ± 0,25	4,78	4,34 ± 0,21	85,10
Lys	27	1,78 ± 0,08	4,53	1,49 ± 0,07	21,29
Met	18	2,42 ± 0,11	4,50	2,02 ± 0,09	59,41
Cys	18	2,36 ± 0,05	2,15	1,97 ± 0,04	82,08
Pro	26	7,12 ± 0,31	4,41	5,97 ± 0,26	142,14
Gly	27	5,36 ± 0,18	3,29	4,49 ± 0,15	136,06
Ala	27	9,75 ± 0,27	2,82	8,17 ± 0,23	138,47
Ser	27	4,87 ± 0,25	5,22	4,08 ± 0,21	53,68
Tyr	27	6,65 ± 0,16	2,46	5,57 ± 0,14	132,62
Asp	27	10,98 ± 0,42	3,81	9,20 ± 0,35	95,83
Glu	27	20,60 ± 0,98	4,78	17,25 ± 0,82	135,83
His	27	3,73 ± 0,11	2,98	3,12 ± 0,09	130,00
Arg	26	4,58 ± 0,14	3,16	3,84 ± 0,12	62,95
Σ EAA		21,98		18,39	
EAAI (%)				40,83	
Σ sirné AA		4,78		3,99	
Σ AA		97,98		82,05	

Kyselina glutamová je u této řasy v převažujícím množství nad ostatními aminokyselinami, dokazuje to obsah 20,6 g/kg, přičemž druhý nejhojnější výskyt je u kyseliny asparagové (10,98 g/kg), kde je však obsah takřka poloviční v porovnání s převládající kyselinou glutamovou. Kombu muso je nejmenším zdrojem lysinu, který je zároveň limitující v případě této řasy. Celkový obsah esenciálních aminokyselin byl stanoven na množství 21,98 g/kg, což představovalo přibližně 18,4 % dusíkatých látek. Sirné aminokyseliny zaujímaly nejmenší obsah právě zde, a to 4,78 g/kg. Suma všech aminokyselin představovala 97,98 g/kg.

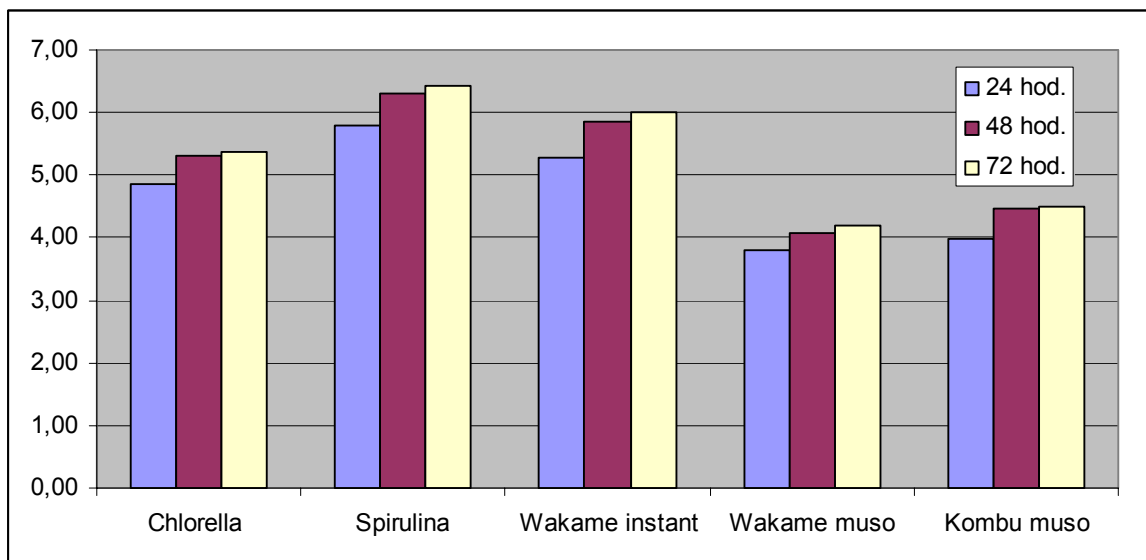
Porovnáním obsahů jednotlivých aminokyselin u hnědých řas lze říci, že Wakame instant byla nejbohatším zdrojem aminokyselin 190,62 g/kg, poté následovala Wakame muso a nejnižší obsah měla Kombu muso. Nejvíce zastoupenými aminokyselinami v hnědých

řasách byla kyselina glutamová a kyselina asparagová. U Wakame muso to však byl alanin a až poté kyselina glutamová. Skutečnost, že nejvíce zastoupenými aminokyselinami u řas jsou právě kyselina glutamová s kyselinou asparagovou dokazuje také jiná studie. A zároveň dokazuje také velice podobné množství celkových aminokyselin u Wakame (*Undaria pinnatifida*), kde byl obsah stanoven na 87,3 g/16g N, v našem případě bylo u Wakame instant 85,48 g/16g N [24].

Z hlediska esenciálních aminokyselin byla z hnědých řas nejbohatší Wakame instant, u které obsah esenciálních aminokyselin činil 55,97 g/kg. Měla zároveň nejvyšší obsahy všech esenciálních aminokyselin. Z esenciálních aminokyselin bylo u Wakame instant a Wakame muso nejvíce valinu, zatímco u Kombu muso to byl threonin. Limitující aminokyselinou u Wakame instant a Kombu muso byl lysin, zatímco u Wakame muso to byl isoleucin.

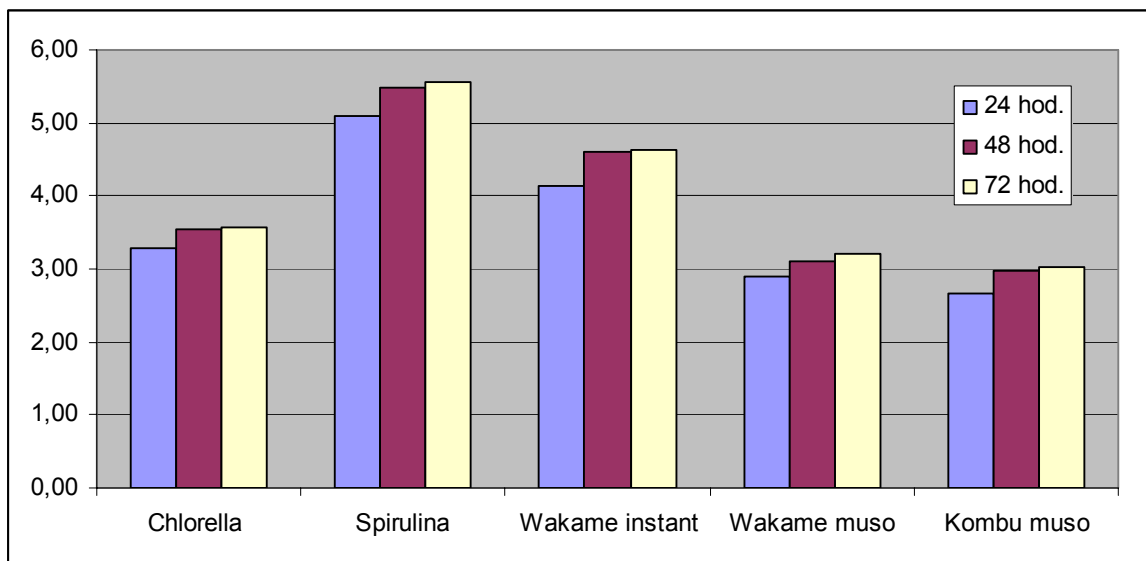
Nejvyšší hodnotu AEEI měla Wakame instant, poté Kombu muso a nejnižší hodnotu měla Wakame muso. V případě hnědých řas tak nejkvalitnější protein poskytuje již zmíněné Wakame instant (56,69 %).

V následujícím přehledu je znázorněn obsah jednotlivých aminokyselin zvláště, pro veškeré druhy zkoumaných řas. Hodnoty jednotlivých obsahů jsou znázorněny a porovnány po 24, 48 a 72 hod. hydrolyzy. V textu je u slovního srovnání použita pouze 24 hod. hydrolyza.



Graf 1. Obsah valinu v závislosti na době hydrolyzy [g/16g N]

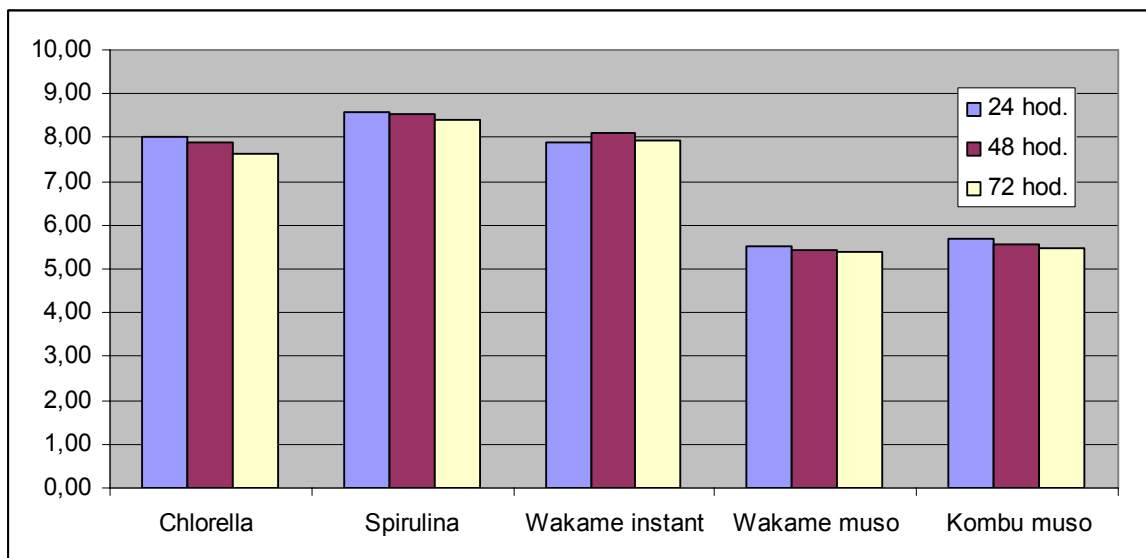
Graf 1. ukazuje hodnoty valinu u všech zkoumaných druhů řas. Nejvyšší obsahy vykazovala Spirulina a to 5,80 g/16g N, následovala Wakame instant s množstvím 5,29 g/16g N. Nejnižší obsahy vykazovala Wakame muso s hodnotou 3,80 g/16g N. U všech řas docházelo s dobou hydrolyzy k navýšení této aminokyseliny, nárůst byl především při 48 hod. hydrolyze, po 72 hod již vzrůst v obsahu nebyl tak velký.



Graf 2. Obsah isoleucinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

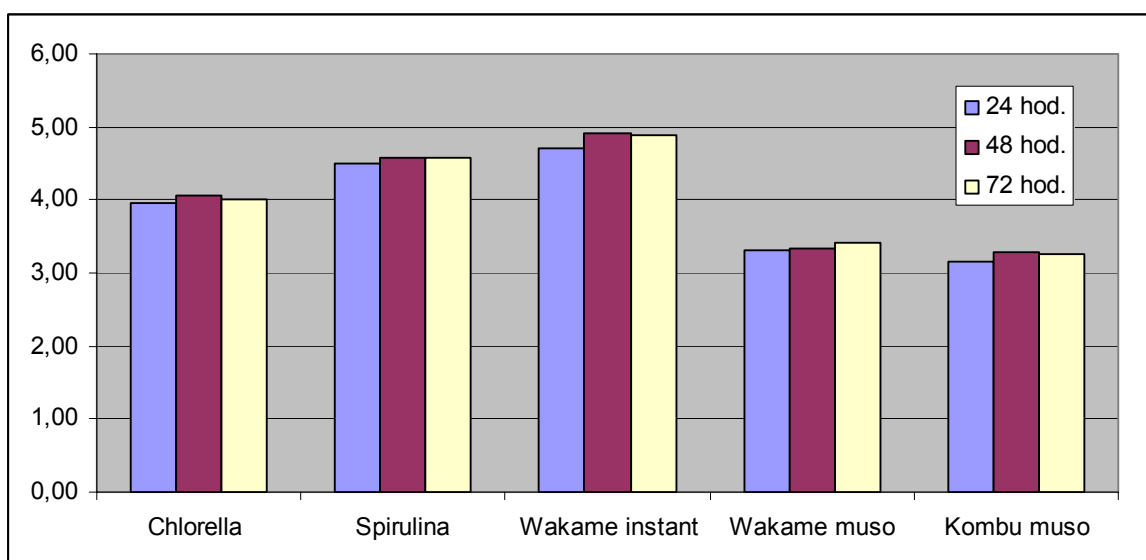
Obsah isoleucinu byl nejvyšší u Spiruliny, 5,11 g/16g N. Druhý nejvyšší obsah vykazovala Wakame instant s množstvím 4,14 g/16g N. Nejnižší obsah vykazovala Kombu muso, a to množstvím 2,68 g/16g N. I zde je situace stejná, jako u valinu, s dobou hydrolyzy dochází k navýšení obsahu aminokyseliny u všech zkoumaných druhů řas.

Isoleucin byl v této práci stanoven jako limitující aminokyselina v případě Chlorelly, Spiruliny a Wakame muso.



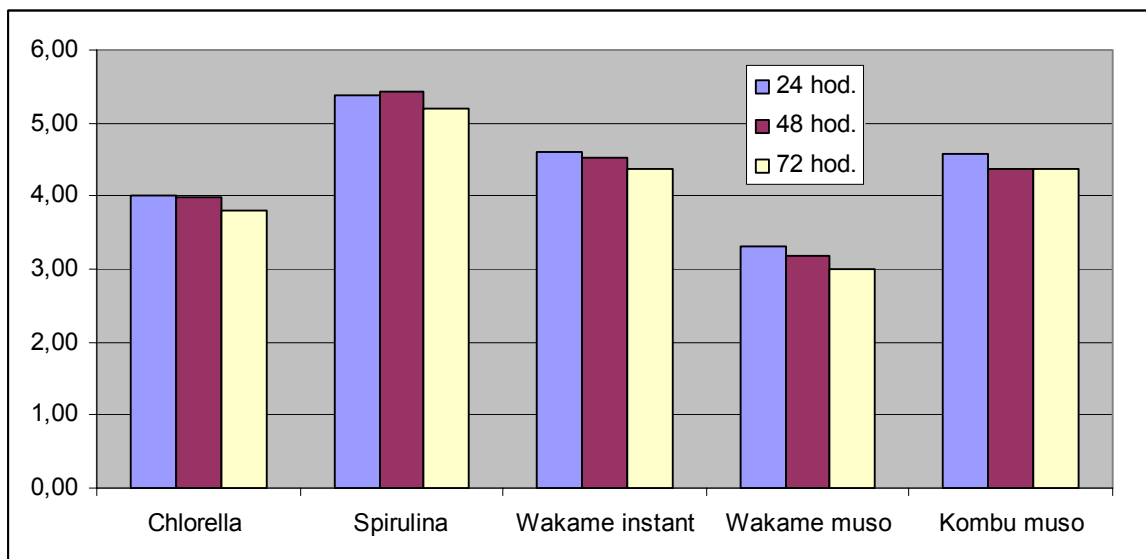
Graf 3. Obsah leucinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Obsah leucinu je nejvyšší u Spiruliny, 8,58 g/16g N, následovala Chlorella, 8 g/16g N. Nejnižší hodnota je u Wakame muso, a to 5,53 g/16g N. Zde je obsah leucinu při 24 hodinové hydrolyze nejvyšší, mimo Wakame instant. S postupnou dobou hydrolyzy již dochází k postupnému úbytku aminokyseliny v řase.



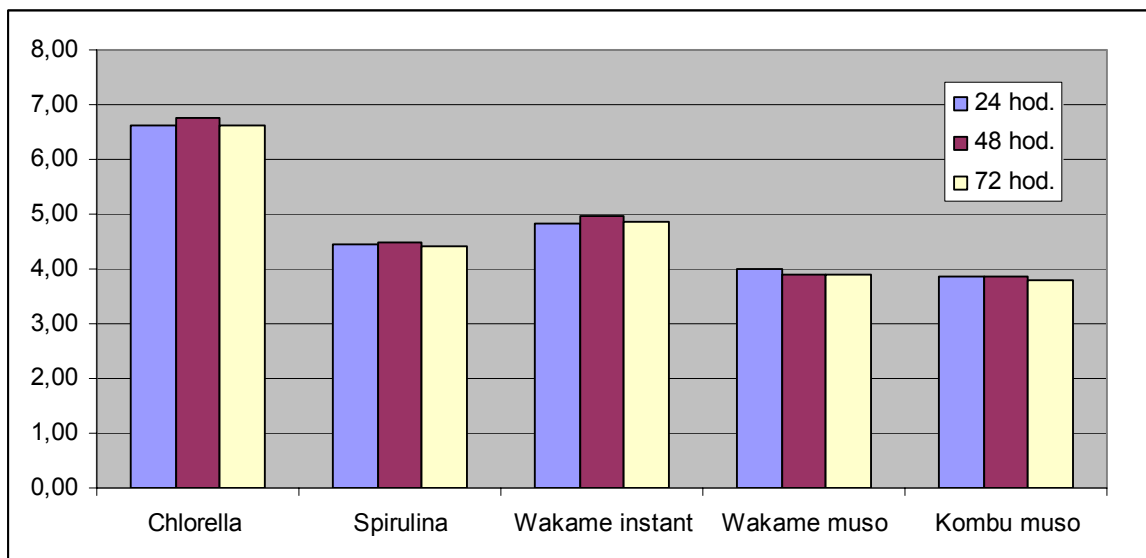
Graf 4. Obsah fenylalaninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvyšší obsahu fenylalaninu vykazuje Wakame instant, a to 4,72 g/16g N, druhý nejvyšší obsah této aminokyseliny měla Spirulina, 4,50 g/16g N. Naopak, nejmenší zastoupení je u Kombu muso, 3,17 g/16g N. Co se týče doby hydrolyzy v závislosti na obsahu této aminokyseliny, nedocházelo k příliš velkým změnám. Nejmarkantnější nárůst je v případě Wakame instant, mezi 24 hod. a 48 hod. hydrolyzou, kde rozdíl činil 0,2 g/16g N.



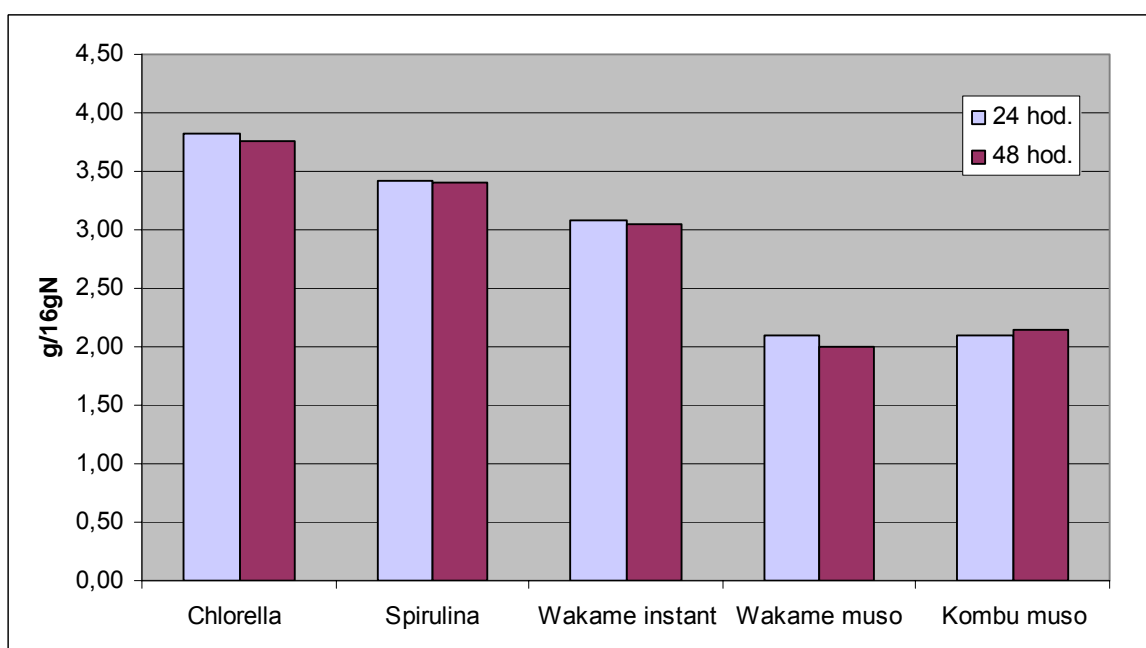
Graf 5. Obsah threoninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvyšší obsah threoninu vykazovala Spirulina s obsahem 5,38 g/16g N. Druhý nejvyšší obsah byl u Wakame instant, a to 4,61 g/16g N. Rozdíl mezi těmito dvěma řasami činil 0,77 g/16g N. Nejmenší obsah byl stanoven u Wakame muso, 3,31 g/16g N. V případě threoninu obsah s dobou hydrolyzy u všech řas klesá, mimo Spiruliny.



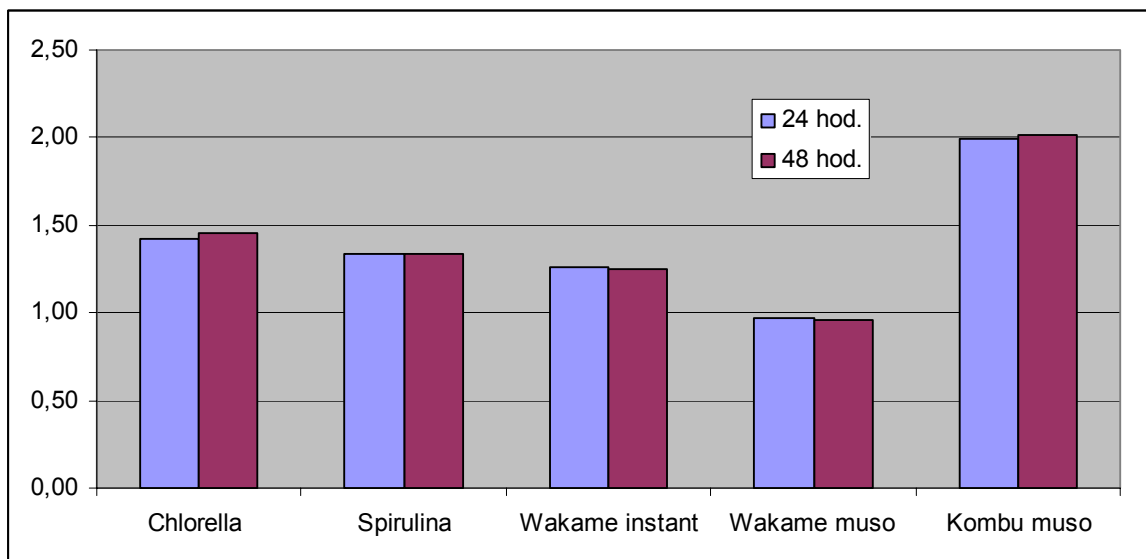
Graf 6. Obsah lysinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvyšší obsah lysinu měla Chlorella, 6,60 g/16g N. Poté následovala Wakame instant s obsahem 4,81 g/16g N. Obsahy u ostatních řas (Spirulina, Wakame muso a Kombu muso), se pohybovaly v rozmezí 4,45 – 3,85 g/16g N. Lysin se v této práci stal limitující aminokyselinou pro Spirulinu, Wakame instant a Kombu muso.



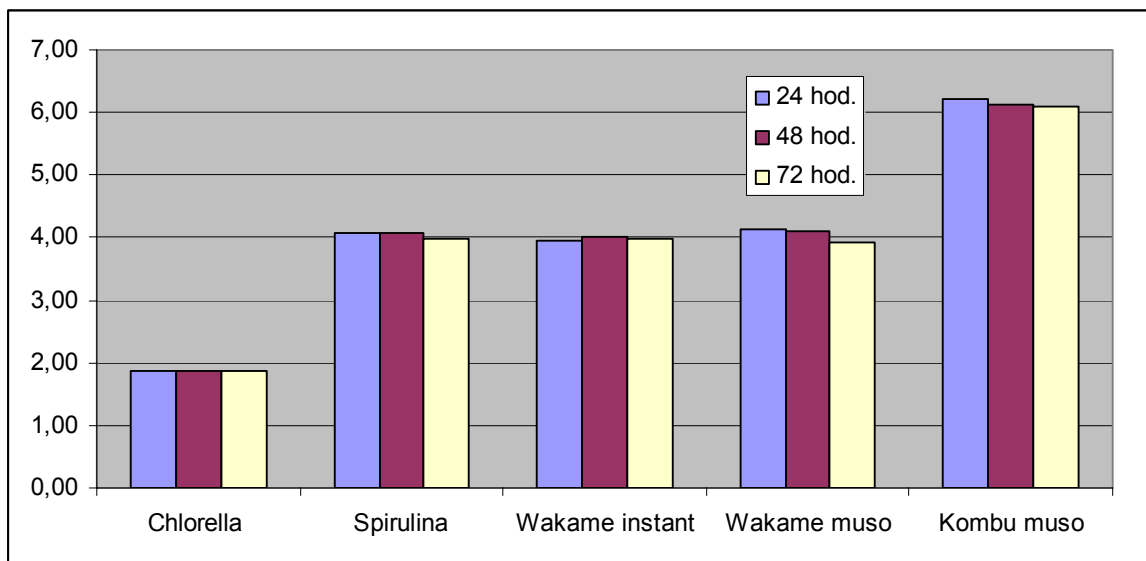
Graf 7. Obsah methioninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Obsah methioninu byl prokazatelně nejvyšší u Chlorelly, kde bylo stanoveno množství 3,83 g/16g N. Spirulina vykazovala druhé nejvyšší množství, a to hodnotou 3,42 g/16g N. Nejmenší obsahy byly stanoveny u Wakame muso a Kombu muso na hodnotě 2,10 g/16g N. Rozdíl mezi nejvyšším a nejnižším obsahem činil 1,73 g/16g N. Mimo Kombu muso docházelo k poklesu v obsahu methioninu s dobou hydrolýzy.



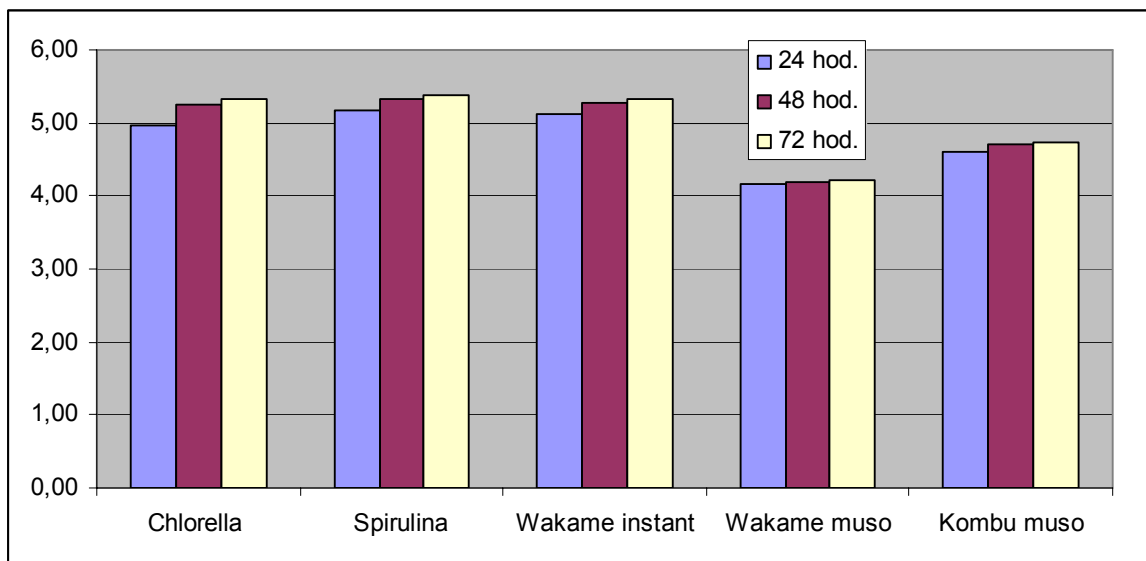
Graf 8. Obsah cysteinu v závislosti na délce hydrolýzy [g/16g N]

Nejvyšší obsah cysteinu byl zjištěn u Kombu muso, 2 g/16g N, poté následovala Chlorella s obsahem 1,43 g/16g N. Nejmenší zastoupení této aminokyseliny bylo u Wakame muso, kde hodnota obsahu klesla nepatrně pod 1 g/16 g N a to na hodnotu 0,97 g/16g N. U Chlorelly, Spiruliny a Kombu muso došlo k velmi malému nárůstu obsahu, zatímco u Wakame instant a Wakame muso byla situace opačná. Změny jsou však velmi malé, pro všechny řasy platí rozdíl 0,01 – 0,02 g/16g N. Cystein je aminokyselina, která se vyskytovala u většiny řas v nejmenším množství.



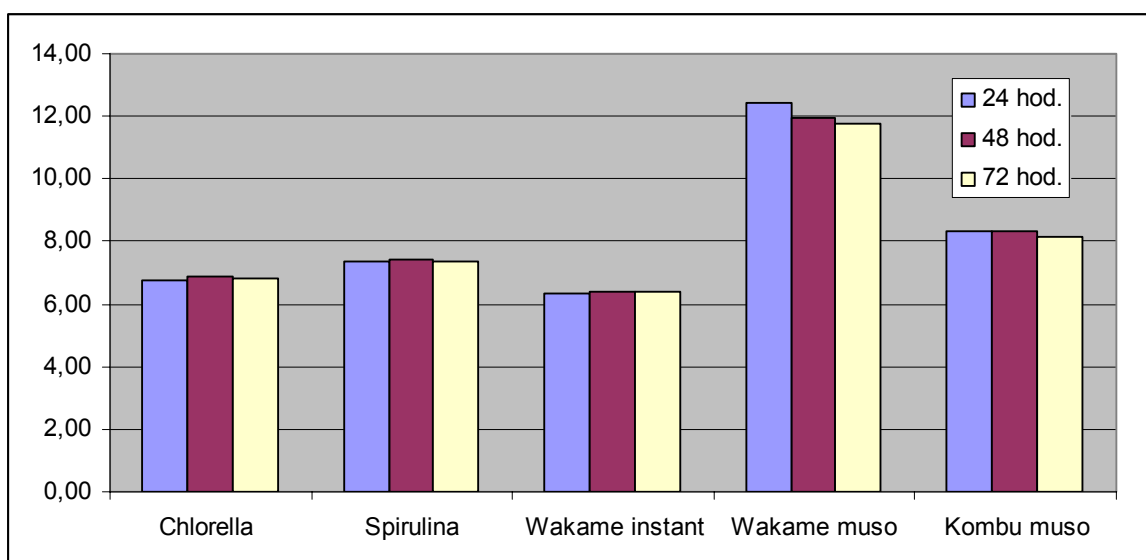
Graf 9. Obsah prolinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvíce prolinu bylo zjištěno u Wakame muso, kde byl obsah stanoven na 6,20 g/16g N. Obsahy u Spiruliny, Wakame instant a Wakame muso jsou velmi podobné, pohybují se v rozmezí 3,95 – 4,13 g/16g N. Nejnižší obsah byl prokazatelně stanoven u Chlorelly, 1,88g/16g N. Rozdíl v obsahu mezi Chlorellou a Kombu muso činil 4,32 g/16g N. U prolinu nelze jednoznačně stanovit, jak se různě dlouhá doba hydrolyzy projevuje co do obsahu této aminokyseliny. U Chlorelly a Wakame instant je obsah u všech hydrolyz takřka totožný. U Spiruliny, Wakame muso a Kombu muso došlo k mírnému poklesu s dobou hydrolyzy.



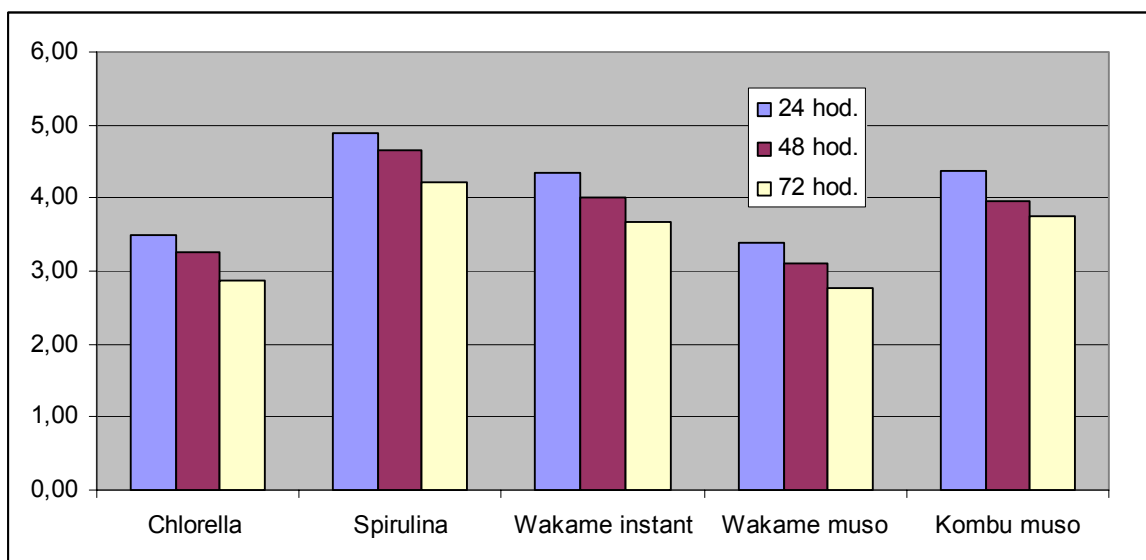
Graf 10. Obsah glycinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvyšší obsah glycinu vykazovala Spirulina, 5,17 g/16g N. Nepatrně nižší obsah vykazovala Wakame instant a to 5,13 g/16g N. Nejmenší obsah byl stanoven u Wakame muso, 4,17 g/16g N. U všech řas došlo k postupnému nárůstu obsahu glycinu s dobou hydrolyzy.



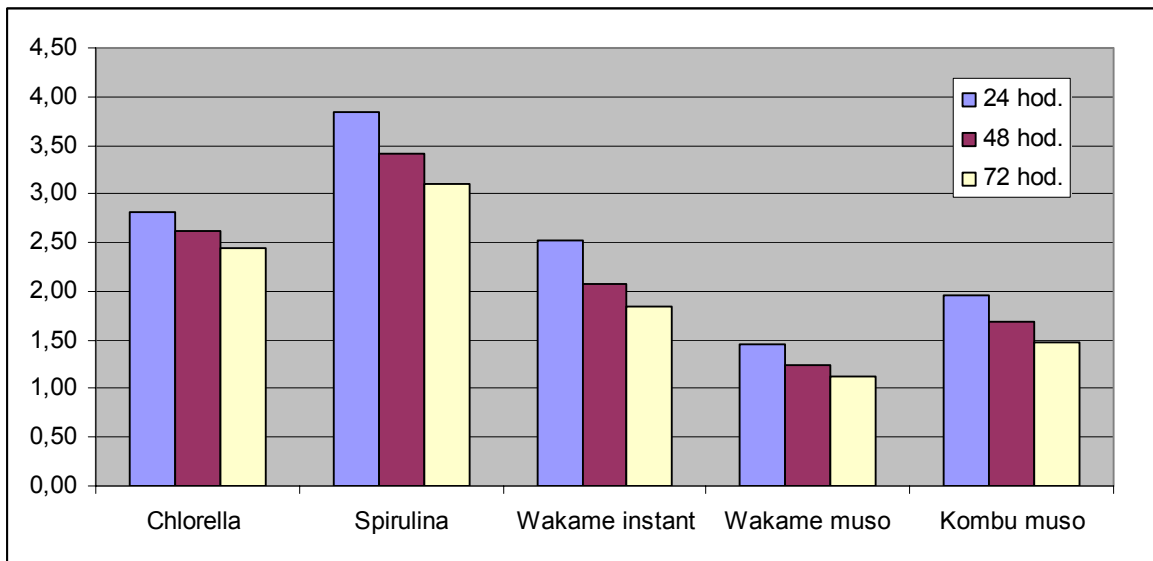
Graf 11. Obsah alaninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Prokazatelně nejvyšší obsah alaninu byl zjištěn u Wakame muso. Obsah u této řasy činil 12,40 g/16g N, následovala Kombu muso s obsahem 8,31 g/16g N. Rozdíl mezi těmito dvěma řasami činil 4,09 g/16g N. Nejméně alaninu bylo zjištěno u Wakame instant, kde bylo stanoveno 6,33 g/16g N.



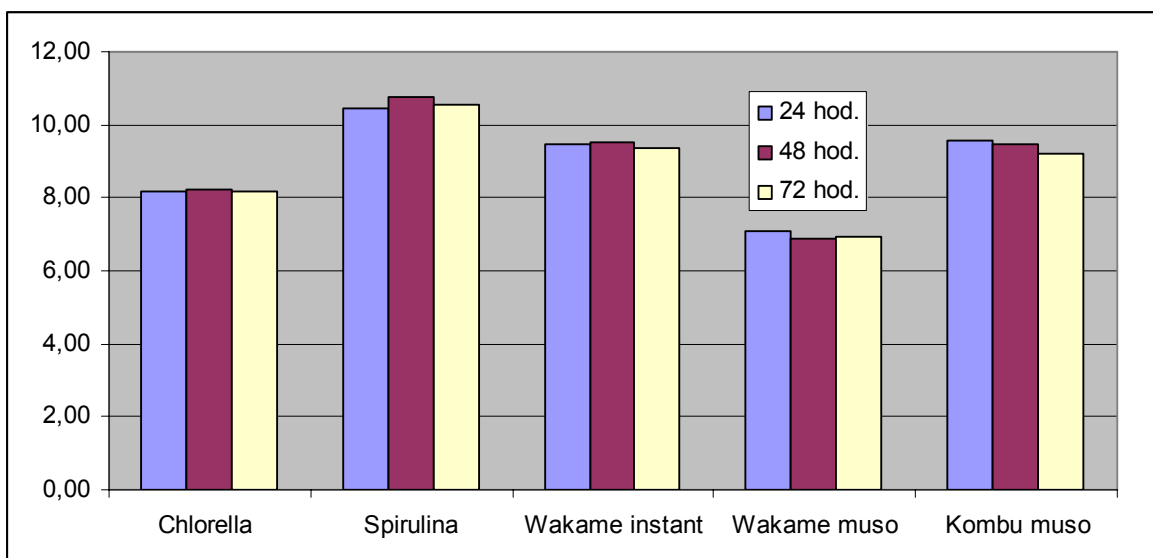
Graf 12. Obsah serinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Nejvíce serinu bylo stanoveno u Spiruliny a to 4,88 g/16g N. Následovalo Kombu muso a Wakame instant s takřka shodnými obsahy a to 4,37 a 4,36 g/16g N. Nejmenší množství serinu bylo u Wakame muso - 3,40 g/16g N. U všech řas došlo k úbytku serinu s dobou hydrolyzy.



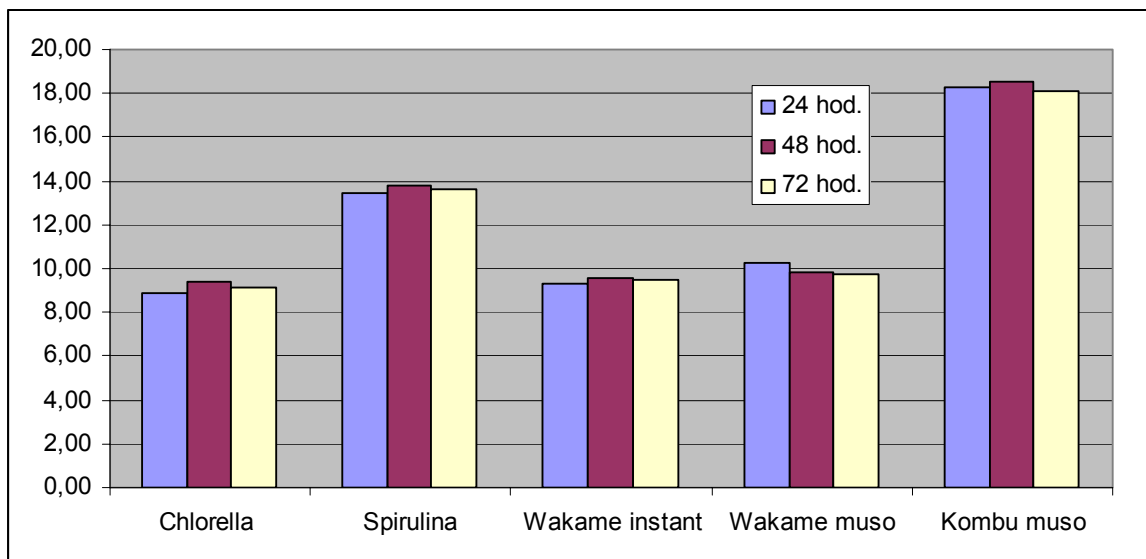
Graf 13. Obsah tyrosinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Spirulina obsahuje 3,84 g/16g N, což je nejvyšší obsah u tyrosinu. Následuje Chlorella s obsahem 2,82 g/16g N. Nejmenší množství bylo stanoveno u Wakame muso – 1,46 g/16g N. U všech řas jsou nejvyšší obsahy při 24 hodinové hydrolyze, s dobou hydrolyzy obsah klesá.



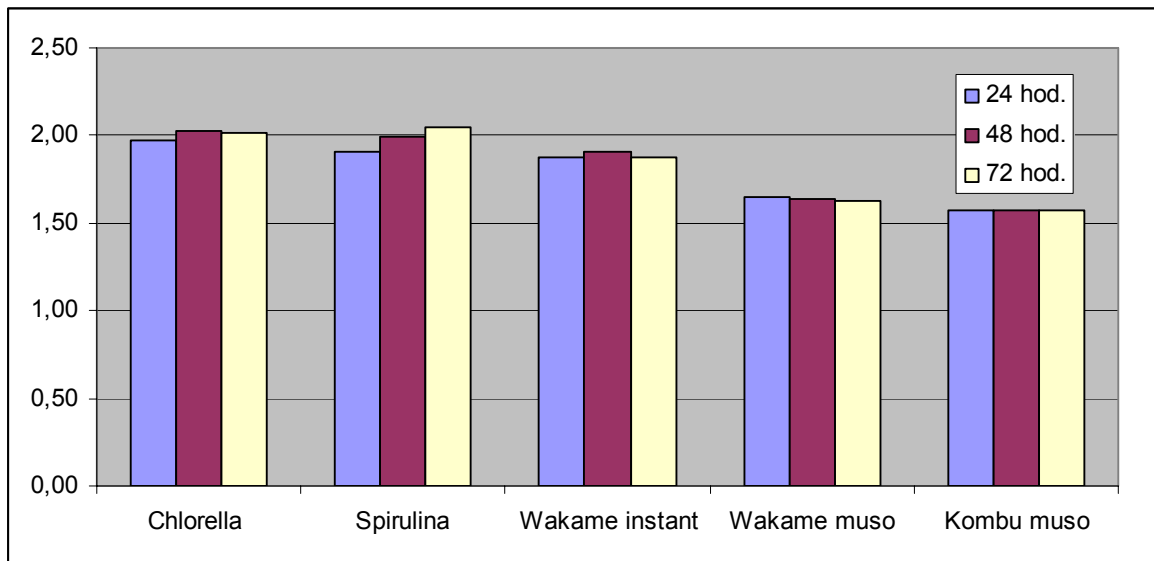
Graf 14. Obsah kyseliny asparagové v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

V případě asparagové kyseliny byl nejvyšší obsah stanoven u Spiruliny, 10,45 g/16g N, poté u Kombu muso s hodnotou 9,58 g/16g N. Nejmenší obsah byl u Wakame muso, a to 7,11 g/16g N. Mimo Spiruliny, došlo k poklesu obsahu v porovnání s 24 a 72 hodinovou hydrolýzou. Asparagová kyselina byla stanovena jako aminokyselina, která se u vzorků řas vyskytuje nejhojněji, spolu s kyselinou glutamovou.



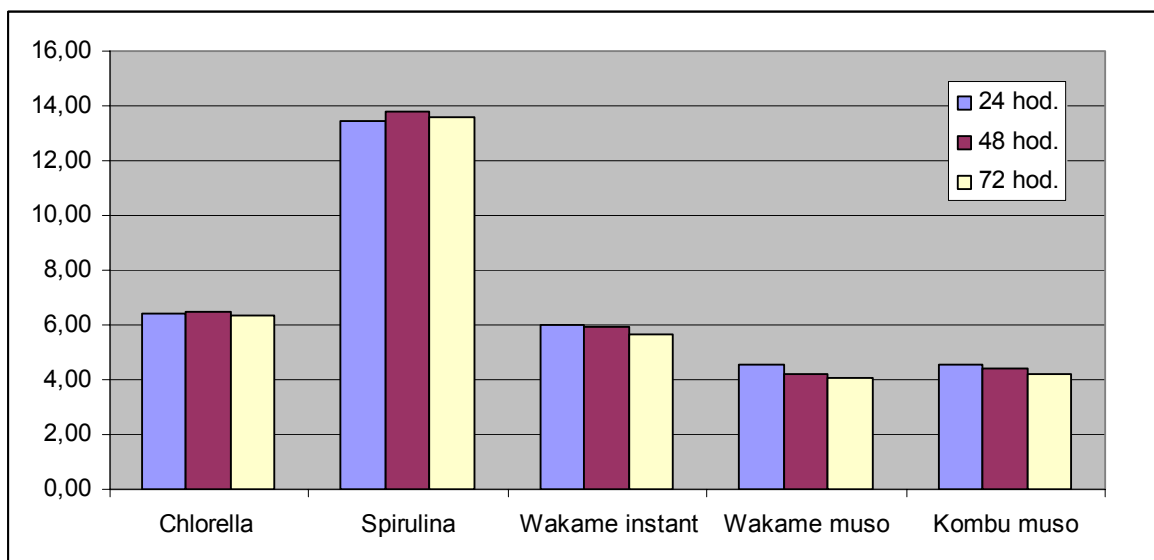
Graf 15. Obsah glutamové kyseliny v závislosti na délce hydrolýzy [g/16g N]

Kombu muso byla vyhodnocena jako největší zdroj glutamové kyseliny ze zkoumaných druhů řas. Obsah byl stanoven na 18,28 g/16g N. Druhým nejbohatším zdrojem této aminokyseliny byla Spirulina – 13,43 g/16g N. Rozdíl mezi těmito dvěma řasami činil 4,85 g/16g N. Nejmenší obsah byl stanoven u Chlorelly – 8,90 g/16g N. Mimo Wakame muso došlo k nepatrnému nárůstu obsahu při 48 hodinové hydrolýze a poté k poklesu při 72 hod. hydrolýze.



Graf 16. Obsah histidinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Chlorella se prokázala jako nejbohatší zdroj v případě histidinu, a to obsahem 1,97 g/16g N. Následovala Spirulina s hodnotou 1,91 g/16g N. A poté Wakame instant – 1,88 g/16g N. Nejméně histidinu bylo stanoveno u Kombu muso – 1,57 g/16g N. Obsahy jsou však u všech řas poměrně vyrovnány. Rozdíl mezi Chlorellou a Kombu muso činil 0,4 g/16g N.



Graf 17. Obsah argininu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]

Jednoznačně nejvyšší obsah argininu vykazovala Spirulina a to 13,43 g/16g N. Poté následovala Chlorella s obsahem 6,43 g/16g N. Rozdíl mezi těmito dvěma řasami činil 7 g/16g N. Nejméně argininu bylo stanoveno u Kombu muso a Wakame muso a to 4,57 a 4,53 g/16g N.

6.2 Obsah dusíkatých látek, sušiny a chlorofylu

Stanovení dusíkatých látek bylo provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 5.2.3., sušiny dle postupu uvedeného v kapitole 5.2.3. a chlorofyl dle postupu v kapitole 5.4.3.

Tab. 7. Obsah dusíkatých látek (hrubá bílkovina) ve zkoumaných druzích řas [g/kg]

Řasy	Dusíkaté látky [g/kg]
Chlorella	650,02
Spirulina	586,65
Wakame instant	223,09
Wakame muso	185,33
Kombu muso	119,41

Obsah dusíkatých látek byl u sladkovodních řas vyšší než u řas mořských, přičemž Chlorella obsahovala 650,02 g/kg a Spirulina 586,65 g/kg. Hnědé řasy vykazovaly hodnoty mnohem nižší a to v rozmezí 223,09 – 119,41 g/kg. Nejmenší obsah dusíkatých látek byl stanoven u Kombu muso.

Tab. 8. Obsah sušiny ve zkoumaných druzích řas [%]

Řasy	Sušina [%]
Chlorella	91,775
Spirulina	95,296
Wakame instant	89,499
Wakame muso	90,283
Kombu muso	91,597

U Spiruliny byla zjištěna nejvyšší sušina a to takřka 95,3%. Následovala Chlorella s 91,78 % a nejmenší obsah sušiny byl stanoven u Wakame instant.

U Wakame instant byla stanovena sušina 89, 499 % a u Wakame muso 90,283 %. Tuto skutečnost potvrzuje také jiná studie [24].

Tab. 9. Obsah chlorofylu ve zkoumaných druzích řas [mg/g]

Řasa	Množství chlorofylu [mg/g]
Chlorella	28,481
Spirulina	5,803
Wakame instant	0,201
Wakame muso	0,27
Kombu muso	0,262

Největší obsah chlorofylu byl stanoven u Chlorelly a to 28,5 mg/g a Chlorella se tak stala v této práci největším zdrojem. Poté následovala Spirulina a to 5,8 mg/g. Obsahy v ostatních řasách jsou takřka vyrovnány, pohybují se v rozmezí 0,3 – 0,27 mg/g.

Vysoký obsah chlorofylu u Chlorelly je potvrzen také v publikaci, která zároveň tvrdí, že je Chlorella nejbohatším zdrojem chlorofylu na Zemi [70].

ZÁVĚR

Díky výsledkům v této práci lze říci, že řasy by mohly být potencionálním zdrojem bílkovin v lidské výživě. Nicméně je jejich využitelnost a stravitelnost omezena díky polysacharidům a fenolům, které jsou přítomné v buněčné stěně.

Cílem této práce bylo stanovení aminokyselin, byly zjištěny také hodnoty po různě dlouhé době hydrolyzy, zjištěn obsah celkových a esenciálních aminokyselin ve vzorcích. A na základě výsledků bylo posouzeno, zda by mohly řasy najít plnohodnotné uplatnění v lidské výživě. Byly hodnoceny dvě sladkovodní řasy, a to Spirulina a Chlorella a poté tři hnědé mořské řasy a to Wakame instant, Wakamu muso a Kombu muso.

Jednoznačně nejvyšší obsahy dusíkatých látek byly stanoveny u sladkovodních řas, kde dominovala Chlorella (650,02 g/kg). U hnědých řas došlo k razantnímu poklesu co do obsahu dusíkatých látek. Nejnižší hodnota byla stanovena u Kombu muso (119,41 g/kg).

Hodnoty sušiny u zkoumaných druhů řas se pohybovaly v rozmezí 89,5 – 95,3 %. V případě chlorofylu byla jednoznačně nejbohatší Chlorella. Nižší obsah u Spiruliny je zapříčiněn také tím, že obsahuje pouze chlorofyl *a*. Obsahy chlorofylu v hnědých řasách jsou velice nízké. Všechny se pohybují v rozmezí 0,2 – 0,27 g/kg.

Celkový obsah aminokyselin byl u sladkovodních řas vyšší než u řas hnědých. Nejvíce zastoupenými aminokyselinami se staly kyselina glutamová s kyselinou asparagovou, pouze v případě Wakame muso byl nejvyšší obsah stanoven u alaninu a až poté následovala kyselina glutamová a kyselina asparagová. V nejmenším množství byl u sladkovodních řas stanoven cystein a u řas hnědých tomu bylo obdobně, pouze u Kombu muso byl stanoven lysin.

Lysin byl stanoven jako limitující esenciální aminokyselina pro Spirulinu, Wakame instant a Kombu muso a isoleucin byl stanoven jako limitující esenciální aminokyselina pro Chlorellu, Spirulinu (lysin a isoleucin mají stejné hodnoty, proto pro tuto řasu byly stanoveny dvě limitující aminokyseliny) a Wakame muso.

Mořské a sladkovodní řasy jsou také významnými zdroji esenciálních aminokyselin, kde v největších koncentracích se vyskytoval valin, pouze u Kombu muso tomu byl threonin. Nejbohatším zdrojem esenciálních aminokyselin byla Spirulina.

V této práci bylo provedeno stanovení aminokyselin a jejich obsahu po různě dlouhé době hydrolyzy a to po 24, 48 a 72 hodinách. V průběhu jednotlivých hydrolyz nedocházelo k markantním změnám v obsahu aminokyselin, ale pokud budeme brát v úvahu náročnost tohoto stanovení, čas a finance, jeví se jako dostačující 24 hodinová hydrolyza.

Jak dokazuje tato práce, řasy jsou významným zdrojem bílkovin, a jsou také dobrým zdrojem esenciálních aminokyselin či chlorofylu. V případě řas je vedeno mnoho studií, které se pokoušejí dokázat pozitivní účinky na zdraví člověka, neustále se sleduje jejich nutriční složení, využitelnost živin a s tím související využití pro lidskou výživu. Mnohdy bývají označovány jako potraviny budoucnosti. Řasy jsou využívány jako zelenina či koření a otvírají tak nové možnosti v potravinářském průmyslu, kde jsou v současné době předmětem mnoha studií.

V našich geografických podmínkách nejsou řasy pro svou specifickou chuť, vůni a tradici konzumování zrovna vyhledávány. V České republice jsou k dostání spíše ve stavu sušeném či ve formě doplňků stravy, a to i přesto, že se na našich pultech začínají objevovat také ve stavu chlazeném. Pro naši populaci je charakteristická nízká spotřeba ryb, což může vypovídat o podobném problému v oblasti konzumace řas.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1]. KALINA T., VÁŇA J. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*, 1.vyd. Universita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2005, ISBN 80-246-1036-1.
- [2]. JANKOVSKÝ L. *Viry, prokaryota, řasy, houby a lišejníky*, 1. vyd. Masarykova univerzita v Brně, 1997, ISBN: 80-210-1555-1.
- [3]. ŠPAČEK J. *Hlenky, houby, řasy*, 1.vyd. Brno: Masarykova universita, 1999, 134 s., ISBN 80-210-2157-8.
- [4]. VALÍČEK P. A KOL. *Užitkové rostliny tropů a subtropů*, 1. vyd. Academia Praha, 2002, 496 s. ISBN 80-200-0000-3.
- [5]. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ J. *Encyklopedie hydrologie, výkladový slovník*, Praha, Vydavatelství VŠCHT Praha, 2007.
- [6]. ARASAKI S., ARASAKI T., "Tales of Seaweeds", Tokai University Press, 1978
- [7]. *Sea Vegetables for Food and Magazine*. [online]. [cit. 2008-02-04]. Dostupné na WWW: <http://www.partnereartheducationcenter.com/sexpan1.html>(2003)
- [8]. JIMENÉZ-ESCRIG A., GONI CAMBRODON I., *Effect of the marine algae Sargassum spp. on the productive parameters and cholesterol content of the brown shrimp, Farfantepenaeus californiensis*, Arch. Latinoamer. Nutr. 49, 1999, 114-120 s.
- [9]. *Seaweeds or Sea Vegetables*. [online]. [cit. 2008-02-04]. Dostupné na WWW: <http://drizzle.com/-newroots/seaveg.html>(2002)
- [10]. ARASAKI A., ARASAKI T., *Low calories, High nutrition. Vegetables from the Seato Help you Look and Feel Berger*, Japan Publications Inc, 1984. 39 – 42 s.
- [11]. VELÍŠEK J. *Chemie potravin 1*, Osis, Tábor 1999, ISBN 80-902391-3-7.
- [12]. *What's Kombu*. [online]. [cit. 2007-10-15]. Dostupné na WWW: <http://hpcgi1.hotweb.or.jp/~foma/main/whatis.html>
- [13]. DAVIDSON A. „*Kombu*“, Oxford Companion to Food, 1999, 435 s., ISBN 0-19-211579-0.

- [14]. *Řasa Kombu*. [online]. [cit. 2007-10-15]. Dostupné na WWW: <http://onelove.cz/view.php?navezclanku=rasa-kombu&cisloclanku=2005082002>
- [15]. *Laminaria japonica (Kombu)*. [online]. [cit. 2007-10-15]. Dostupné na WWW: <http://www.seaweed.ie/algae/Images/Lamdig7.jpg>
- [16]. *Řasa Wakame*. [online]. [cit. 2007-10-15]. Dostupné na WWW: <http://onelove.cz/view.php?navezclanku=rasa-wakame&cisloclanku=2005091601>
- [17]. *Standard Tables of Food Composition in Japan*, Japan National Institute of Resource, The Science and Technology Agency, 1983.
- [18]. *Undaria pinnatifida (Kombu)* [online]. [cit. 2008-02-02]. Dostupné na WWW: www.mothernature.com
- [19]. ČEMAN R. *Živý svět – rostliny, geografická encyklopedie*, 1 vyd., MAPA Slovakia Bratislava, 2001, 335 s. ISBN 80-8067.046-3.
- [20]. URBAN Z., KALINA T. *Sinice, řasy, houby – systém a vývoj*, 1.vyd. Praha:Universita Karlova Praha, 1979.
- [21]. ČERNOHORSKÝ Z. *Základy soustavné botaniky I*. SNP, Praha, 1957, Bez ISBN.
- [22]. 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 s.
- [23]. *Rhodophyta*. [online]. [cit. 2008-02-02]. Dostupné na WWW: <http://rivers.snre.umich.edu/>
- [24]. DAWCZYNSKI CH., SCHUBERT R., GERHARD J. *Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products*, Food Chemistry, 2007, 891-899 s.
- [25]. *Chlorophyta*. [online]. [cit. 2007-03-12]. Dostupné na WWW: <http://www.treasuresofthesea.org.nz/green-macroalgae>
- [26]. STEENBLOCK D. *Chlorella - Natural Medicine Algae*, Aging Research Institute, El Toro, 1987.
- [27]. *Chlorella*. [online]. [cit. 2007-03-12]. Dostupné z WWW: <http://web.quick.cz/otahalova.r/>
- [28]. *Did You Know*. [online]. [cit. 2007-10-15]. Dostupné z WWW: <http://chlorella-europe.com/>

- [29]. JENSEN B., *Chlorella: Gem of the Orient*. Escondido, California, Jensen Publications, 1987.
- [30]. *Chlorella*. [online]. [cit. 2007-06-12]. Dostupné na WWW: www.chlorella.cz
- [31]. ADAMS M., *Superfoods For Optimum Health: Chlorella and Spirulina*, Truth Publishing International, 2005.
- [32]. *Beta – carotene studies in Spirulina*, Bioresource Technology ,Volume 38, Issues 2-3, 1991, 111-113 s.
- [33]. *Chlorella*. [online]. [cit. 2008-01-18]. Dostupné na WWW: <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/wimsmall/green.html>
- [34]. *What is Spirulina*. [online]. [cit. 2007-06-12]. Dostupné z WWW: <http://www.naturalways.com/spirul1.htm>
- [35]. *US Food and Drug Admin*, FDA Talk Paper, No. 41,160, June 23, 1981
- [36]. TROXLER R., SAFFER B. (Harvard School of Dental Med. Researchers) *Algae Derived Phycocyanin is both Cytostatic and Cytotoxic (dose-response) to oral squamous cell carcinoma (human or hamster)*. Paper delivered at International Association for Dental Research General Session, 1987 .
- [37]. *Spirulina Benefits*. [online]. [cit. 2007-06-12]. Dostupné na WWW: <http://www.gd-1.com/benefit.htm>
- [38]. JASSBY A., *Nutritional and Therapeutic Properties of Spirulina*, Proteus Corp. ,1983.
- [39]. WASLEIN C. at al., *Uric acid levels in men fed algae and trast a protein*, J.Food Sci, 1970, 294-8 s.
- [40]. BOUDENE C. at al., *Evaluation of long term toxicity on rats with Spirulina*, Ann Nutr.Aliment., 1976, 577-588 s.
- [41]. TIL H.P., WILLIAMS M., *Sub-chronic toxicity study with dried algae in rats*, Cent.Inst. for nutrition and Research, Twist, Ned, 1971.
- [42]. FEVRIER C., SEVE B., *Incorporation of spirulina into pig diets*, Ann.Nur.Aliment, 1976, 625-30 s.

- [43]. DILLON JC., PHUC AP., DUBACQ JP., *Nutritional value of the alga spirulina*. World Rev Nutr Diet, 1995; 32–46 s.
- [44]. *Spirulina*. [online]. [cit. 2007-05-05]. Dostupné z WWW: <http://eatanddowhatido.blogspot.com/2008/03/spirulina-good-for-diabetes.html>
- [45]. BRÁZDOVÁ Z., *Výživa člověka*, 1.vyd. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1995.
- [46]. ŠICHO V., VODRÁŽKA Z., KRÁLOVÁ B. *Potravinářská biochemie*, 2.vyd. SNTL/ALFA, Praha 1981.
- [47]. N – látky. [online]. [cit. 2008-03-01]. Dostupný z WWW : <http://www.vukrom.cz/www/kvalita/analyzy/n-latky.htm>
- [48]. ROSYPAL S. a kol., *Nový přehled biologie*, Praha, Scientia 2003, ISBN 80-7183-268-5.
- [49]. BUŇKA F., NOVÁK V., KADIDLOVÁ H. *Ekonomika výživy a výživová politika I*. Zlín:UTB, 2006, ISBN 80-7318-42-X.
- [50]. *Manuál II: Výživa*. [online]. [cit. 2008-02-02]. Dostupný z WWW: <http://sweb.cz/centrumprev/MANUALII-1.htm>
- [51]. FUJIWARA, ARASAKI T. *Proteins of two brown algae, Heterochordaria abietina and Laminaria japonica*, Soc. Food Nutr., 408 – 412 s.
- [52]. GONZALES R., RODRIGUEZ S., ROMAY C., ANCHETA O., GONZALEZ A., ARMESTA J., REMIREZ D., MERINO N. *Anti – inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid – induced colitis in rats*, Pharmacological research, 1999, 55 – 59 s.
- [53]. BOUSSIBA S., RICHMOND A.E. *Isolation and characterization of phycocyanins from the blue – green alga Spirulina platensis*, Arch. Microbiol., 1979, 155 – 159 s.
- [54]. *Chemie organická a biochemie pro gymnásia*, SPN, Praha 2000, ISBN 80-85937-49-2.
- [55]. FLEURENCE J., *Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses*. Trends in Food Science and Technology, 1999, 25-28 s.

- [56]. HOLEČEK M., *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*, 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 2006, 288 s. ISBN 80-247-1562-7.
- [57]. *Proteiny*. [online]. [cit. 2008-02-02]. Dostupný z WWW: <http://www.psmorfeus.com/docs/vyziva/Proteiny.ppt>
- [58]. FOŘT P., *Zdraví a potravní doplňky*, Ikar, 2005, ISBN 80-249-0612-0.
- [59]. LAHAYE M., *Marine algae as sources of fibers: Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some, sea vegetables*, Journal of Science and Food Agriculture 54, 1991, 587–594 s.
- [60]. *Lipidy* [online]. [cit. 2008-05-15]. Dostupné z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Lipidy>
- [61]. NOVÁK V., BUŇKA F., *Základy ekonomiky výživy*, 1.vyd. Zlín:UTB, 2005, ISBN 80-7318-262-9.
- [62]. FLEURENCE J., GUTBIER G., MABEAU S., LERAY C., *Fatty acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany coast*, Journal of Applied Phycology 6, 1994, 527–532 s.
- [63]. VELÍŠEK J., *Chemie potravin 2*, 1.vyd. Tábor : OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-4-5.
- [64]. SUZUKI H., HIGUCHI T., SAWA K., OHTAKI S., TOLLI J. *Endemic coast goitre in Hokkaido*, Japan. Acta Endocr., 1965, 161 – 176 s.
- [65]. WATANABE., KATSURA H., TAKENAHA S., FUJITA T., ABE K., TAMURA Y., *Pseudovitamin B₁₂ is the predominant cobamide of an algae health food*, Journal of Agriculture and Food Chemistry 47, 1999, 4736–4741 s.
- [66]. *Význam dietní vlákniny ve výživě* [online]. [cit. 2007-11-15]. Dostupné z WWW: http://nova.medicina.cz/odborne/clanek.dss?s_id=602
- [67]. *Stanovení aminokyselin v krmivech* [online]. [cit. 2008-02-02]. Dostupný z WWW: <http://www.sweb.cz/HPLC1/Amk/amk.htm>
- [68]. DAVÍDEK J., a kol. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1981, 718s.
- [69]. *Analýza potravin přírodní látky* [online]. [cit. 2008-01-07]. Dostupné z WWW: http://utb.cepac.cz/Screens/ContentProvider.aspx/WtflCf_RaQQK-

v0Mt65cE7M7OxXx1wjlaVZw9V1sB501/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distancni_text_II/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distancni_text_II.pdf

- [70]. ADAMS M., *Superfoods For Optimum Health: Chlorella and Spirulina*, Truth Publishing International, Ltd., 2005,

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	aminokyselina
%	procento
mg	miligram
g	Gram
kg	kilogram
t	tuna
mm	milimetr
cm	centimetr
m	metr
ha	hektar
r.	rok
hod	hodina
tj.	to je
popř.	popřípadně
např.	například
tzv.	takzvaně
obr.	obrázek
EPA	eikosapentaenová kyselina
GLA	Γ – linolenová kyselina
DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
GCF	Chlorella Growth Factor – Chlorella růstový faktor
N	dusík
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
CS	chemické skóre
CV	variační koeficient
S.D.	směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Laminaria japonica (Kombu)</i>	14
<i>Obr. 2. Undaria pinnatifida (Wakame)</i>	15
<i>Obr. 3. Rhodophyta</i>	17
<i>Obr. 4. Chlorophyta</i>	18
<i>Obr. 5. Chlorella</i>	21
<i>Obr. 6. Spirulina</i>	23

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Charakteristika zkoumaných druhů řas.....</i>	<i>41</i>
<i>Tab. 2. Obsah aminokyselin u Chlorelly.</i>	<i>48</i>
<i>Tab. 3. Obsah aminokyselin u Spiruliny.</i>	<i>49</i>
<i>Tab. 4. Obsah aminokyselin u Wakame instant.</i>	<i>51</i>
<i>Tab. 5. Obsah aminokyselin u Wakame muso.</i>	<i>52</i>
<i>Tab. 6. Obsah aminokyselin u Kombu muso.....</i>	<i>53</i>
<i>Tab. 7. Obsah dusíkatých látek (hrubá bílkovina) ve zkoumaných druzích řas [g/kg]</i>	<i>68</i>
<i>Tab. 8. Obsah sušiny ve zkoumaných druzích řas [%]</i>	<i>68</i>
<i>Tab. 9. Obsah chlorofylu ve zkoumaných druzích řas [mg/g].....</i>	<i>69</i>

SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf 1. Obsah valinu v závislosti na době hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>55</i>
<i>Graf 2. Obsah isoleucinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>56</i>
<i>Graf 3. Obsah leucinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>57</i>
<i>Graf 4. Obsah fenylalaninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>57</i>
<i>Graf 5. Obsah threoninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>58</i>
<i>Graf 6. Obsah lysinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>59</i>
<i>Graf 7. Obsah methioninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>59</i>
<i>Graf 8. Obsah cysteinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>60</i>
<i>Graf 9. Obsah prolinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>61</i>
<i>Graf 10. Obsah glycinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>62</i>
<i>Graf 11. Obsah alaninu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>62</i>
<i>Graf 12. Obsah serinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>63</i>
<i>Graf 13. Obsah tyrosinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>64</i>
<i>Graf 14. Obsah kyseliny asparagové v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>64</i>
<i>Graf 15. Obsah glutamové kyseliny v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>65</i>
<i>Graf 16. Obsah histidinu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>66</i>
<i>Graf 17. Obsah argininu v závislosti na délce hydrolyzy [g/16g N]</i>	<i>66</i>

SEZNAM PŘÍLOH

- P I/1: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v řase Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*)
- P I/2: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v řase Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*)
- P II/1: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v řase Spirulina (*Spirulina pacifica*)
- P II/2: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v řase Spirulina (*Spirulina pacifica*)
- P III/1: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze ve Wakame instant (*Undaria pinnatifida*)
- P III/2: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze ve Wakame instant (*Undaria pinnatifida*)
- P IV/1: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze ve Wakame muso (*Undaria pinnatifida*)
- P IV/2: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze ve Wakame muso (*Undaria pinnatifida*)
- P V/1: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v Kombu muso (*Laminaria japonica*)
- P V/2: Obsah aminokyselin po 24, 48 a 72 hod. hydrolyze v Kombu muso (*Laminaria japonica*)
- P VI: Obsah aminokyselin ve slepičích vejcích (g/16g N)

**PŘÍLOHA P I/1 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE CHLORELLA**

(CHLORELLA PYRENOIDOSA)

AA	Obsah AA [g/kg]					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)
Val	31,52 ± 0,41	1,31	34,61 ± 0,39	1,11	34,98 ± 0,38	1,09
Ile	21,39 ± 0,44	2,05	22,99 ± 0,37	1,59	23,27 ± 0,48	2,06
Leu	52,03 ± 1,02	1,95	51,40 ± 0,58	1,13	49,64 ± 0,90	1,81
Phe	25,70 ± 0,38	1,48	26,39 ± 0,17	0,66	26,09 ± 0,17	0,67
Thr	26,11 ± 0,64	2,45	25,87 ± 1,55	5,98	24,67 ± 1,64	6,63
Lys	42,93 ± 0,60	1,39	43,87 ± 0,78	1,78	42,98 ± 0,69	1,61
Met	24,87 ± 0,52	2,09	24,45 ± 0,41	1,67	-	-
Cys	9,27 ± 0,26	2,83	9,45 ± 0,28	2,92	-	-
Pro	12,24 ± 1,03	8,41	12,12 ± 1,12	9,28	12,21 ± 1,42	11,65
Gly	32,21 ± 0,37	1,15	34,20 ± 0,49	1,42	34,65 ± 0,39	1,14
Ala	44,11 ± 0,58	1,32	44,71 ± 0,63	1,41	44,18 ± 0,61	1,37
Ser	22,72 ± 0,64	2,84	21,21 ± 0,53	2,49	18,65 ± 0,73	3,92
Tyr	18,30 ± 0,30	1,62	17,00 ± 0,28	1,63	15,93 ± 0,55	3,47
Asp	53,26 ± 0,67	1,26	53,42 ± 0,87	1,62	53,01 ± 0,95	1,79
Glu	57,83 ± 1,05	1,81	60,95 ± 1,03	1,68	59,67 ± 1,98	3,31
His	12,84 ± 0,35	2,70	13,21 ± 0,21	1,61	13,09 ± 0,25	1,92
Arg	41,81 ± 1,35	3,22	42,09 ± 0,43	1,03	41,30 ± 0,87	2,11
∑ EAA	224,55		229,58		201,63	
∑ sirné AA	34,14		33,9		-	
∑ AA	529,16		537,93		494,33	

**PŘÍLOHA P I/2 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE CHLORELLA**

(CHLORELLA PYRENOIDOSA)

AA	Obsah AA [g/16g N]		
	24 hod.	48 hod.	72 hod.
Val	4,85 ± 0,06	5,32 ± 0,06	5,38 ± 0,06
Ile	3,29 ± 0,07	3,54 ± 0,06	3,58 ± 0,07
Leu	8,00 ± 0,16	7,91 ± 0,09	7,64 ± 0,14
Phe	3,95 ± 0,06	4,06 ± 0,03	4,01 ± 0,03
Thr	4,85 ± 0,12	5,32 ± 0,32	5,38 ± 0,36
Lys	6,60 ± 0,09	6,75 ± 0,12	6,61 ± 0,11
Met	3,83 ± 0,08	3,76 ± 0,06	-
Cys	1,43 ± 0,04	1,45 ± 0,04	-
Pro	1,88 ± 0,16	1,86 ± 0,17	1,88 ± 0,22
Gly	4,96 ± 0,06	5,26 ± 0,07	5,33 ± 0,06
Ala	6,79 ± 0,09	6,88 ± 0,10	6,80 ± 0,09
Ser	3,50 ± 0,10	3,27 ± 0,08	2,87 ± 0,11
Tyr	2,82 ± 0,05	2,61 ± 0,04	2,45 ± 0,09
Asp	8,19 ± 0,10	8,22 ± 0,13	8,16 ± 0,15
Glu	8,90 ± 0,16	9,37 ± 0,16	9,18 ± 0,30
His	1,97 ± 0,05	2,03 ± 0,03	2,01 ± 0,04
Arg	6,43 ± 0,21	6,47 ± 0,07	6,35 ± 0,13
Σ EAA	34,54	35,32	31,01
EAAI (%)	81,41	84,71	80,56
Σ sirné AA	5,26	5,21	-
Σ AA	81,41	82,76	76,05

**PŘÍLOHA P II/1 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE SPIRULINA**

(SPIRULINA PACIFICA)

AA	Obsah AA [g/kg]					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)
Val	33,66 ± 0,31	0,93	36,67 ± 0,47	1,29	37,36 ± 0,41	1,09
Ile	29,64 ± 0,27	0,91	31,90 ± 0,03	0,09	32,33 ± 0,34	1,05
Leu	49,82 ± 0,59	1,18	49,55 ± 0,24	0,48	48,77 ± 0,27	0,55
Phe	26,13 ± 0,33	1,27	26,52 ± 0,23	0,87	26,62 ± 0,16	0,62
Thr	31,26 ± 1,20	3,83	31,56 ± 1,06	3,36	30,20 ± 0,96	3,18
Lys	25,82 ± 0,27	1,04	25,96 ± 0,20	0,77	25,69 ± 0,19	0,75
Met	19,84 ± 0,42	2,10	19,80 ± 0,29	1,46	-	-
Cys	7,74 ± 0,13	1,68	7,79 ± 0,16	2,09	-	-
Pro	23,62 ± 0,80	3,40	23,70 ± 0,54	2,26	23,10 ± 0,83	3,60
Gly	30,04 ± 0,46	1,53	31,00 ± 0,64	2,05	31,30 ± 0,52	1,67
Ala	42,82 ± 0,44	1,02	43,12 ± 0,51	1,18	42,82 ± 0,42	0,98
Ser	28,36 ± 0,67	2,35	27,09 ± 0,71	2,64	24,53 ± 0,62	2,53
Tyr	22,28 ± 0,32	1,42	19,81 ± 0,40	2,02	18,00 ± 1,25	6,96
Asp	60,67 ± 1,88	3,10	62,61 ± 1,54	2,46	61,31 ± 1,21	1,98
Glu	77,99 ± 1,67	2,14	80,09 ± 2,39	2,98	78,84 ± 1,23	1,56
His	11,07 ± 0,13	1,14	11,55 ± 0,13	1,14	11,90 ± 0,52	4,39
Arg	44,65 ± 0,53	1,19	44,30 ± 0,05	0,12	43,60 ± 0,50	1,15
Σ EAA	216,17		221,96		200,97	
Σ sirné AA	27,58		27,59		-	
Σ AA	565,42		573,02		536,35	

**PŘÍLOHA P II/2 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE SPIRULINA**

(SPIRULINA PACIFICA)

AA	Obsah AA [g/16g N]		
	24 hod.	48 hod.	72 hod.
Val	5,80 ± 0,05	6,32 ± 0,08	6,43 ± 0,07
Ile	5,11 ± 0,04	5,50 ± 0,01	5,57 ± 0,06
Leu	8,58 ± 0,10	8,53 ± 0,04	8,40 ± 0,05
Phe	4,50 ± 0,06	4,57 ± 0,04	4,59 ± 0,03
Thr	5,38 ± 0,21	5,44 ± 0,18	5,20 ± 0,17
Lys	4,45 ± 0,05	4,47 ± 0,03	4,42 ± 0,03
Met	3,42 ± 0,07	3,41 ± 0,05	-
Cys	1,33 ± 0,02	1,34 ± 0,03	-
Pro	4,07 ± 0,14	4,08 ± 0,09	3,98 ± 0,14
Gly	5,17 ± 0,08	5,34 ± 0,11	5,39 ± 0,09
Ala	7,37 ± 0,08	7,43 ± 0,09	7,37 ± 0,07
Ser	4,88 ± 0,11	4,67 ± 0,12	4,22 ± 0,11
Tyr	3,84 ± 0,05	3,41 ± 0,07	3,10 ± 0,22
Asp	10,45 ± 0,32	10,78 ± 0,27	10,56 ± 0,21
Glu	13,43 ± 0,29	13,79 ± 0,41	13,58 ± 0,21
His	1,91 ± 0,02	1,99 ± 0,02	2,05 ± 0,09
Arg	7,69 ± 0,09	7,63 ± 0,01	7,51 ± 0,09
Σ EAA	37,24	38,23	34,61
EAAI (%)	86,39	88,66	86,32
Σ sirné AA	4,75	4,75	-
Σ AA	97,38	98,69	92,38

**PŘÍLOHA P III/1 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE WAKAME INSTANT**

(UNDARIA PINNATIFIDA)

AA	Obsah AA [g/kg]					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)
Val	12,11 ± 0,13	1,10	13,43 ± 0,31	2,28	13,75 ± 0,13	0,92
Ile	9,47 ± 0,12	1,26	10,53 ± 0,25	2,42	10,59 ± 0,25	2,32
Leu	18,10 ± 0,27	1,49	18,54 ± 0,45	2,42	18,19 ± 0,42	2,29
Phe	10,81 ± 0,14	1,33	11,26 ± 0,29	2,61	11,12 ± 0,18	1,64
Thr	10,55 ± 0,13	1,26	10,34 ± 0,24	2,36	10,02 ± 0,11	1,08
Lys	11,02 ± 0,24	2,14	11,36 ± 0,33	2,87	11,11 ± 0,26	2,39
Met	7,07 ± 0,05	0,76	7,00 ± 0,06	0,92	-	-
Cys	2,90 ± 0,04	1,35	2,85 ± 0,03	1,12	-	-
Pro	9,04 ± 0,21	2,30	9,16 ± 0,18	1,96	9,14 ± 0,15	1,64
Gly	11,74 ± 0,15	1,28	12,09 ± 0,28	2,34	12,22 ± 0,01	0,08
Ala	14,49 ± 0,19	1,28	14,65 ± 0,37	2,49	14,62 ± 0,12	0,81
Ser	9,98 ± 0,12	1,24	9,20 ± 0,26	2,81	8,43 ± 0,07	0,84
Tyr	5,76 ± 0,10	1,71	4,75 ± 0,16	3,39	4,22 ± 0,20	4,79
Asp	21,69 ± 0,31	1,44	21,75 ± 0,76	3,49	21,39 ± 0,19	0,87
Glu	21,42 ± 0,30	1,39	21,92 ± 1,48	6,74	21,73 ± 0,36	1,66
His	4,31 ± 0,08	1,88	4,38 ± 0,12	2,77	4,30 ± 0,09	2,15
Arg	13,70 ± 0,40	2,95	13,54 ± 0,29	2,16	12,89 ± 0,51	3,95
Σ EAA	79,13		82,46		74,78	
Σ sirné AA	9,97		9,85		-	
Σ AA	194,15		196,77		183,81	

..

**PŘÍLOHA P III/2 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE WAKAME INSTANT**

(UNDARIA PINNATIFIDA)

AA	Obsah AA [g/16g N]		
	24 hod.	48 hod.	72 hod.
Val	5,29 ± 0,06	5,87 ± 0,13	6,00 ± 0,06
Ile	4,14 ± 0,05	4,60 ± 0,11	4,63 ± 0,11
Leu	7,90 ± 0,12	8,10 ± 0,2	7,94 ± 0,18
Phe	4,72 ± 0,06	4,92 ± 0,13	4,89 ± 0,08
Thr	4,61 ± 0,06	4,51 ± 0,11	4,37 ± 0,05
Lys	4,81 ± 0,10	4,96 ± 0,14	4,85 ± 0,12
Met	3,09 ± 0,02	3,06 ± 0,03	-
Cys	1,26 ± 0,02	1,25 ± 0,01	-
Pro	3,95 ± 0,09	4,00 ± 0,08	3,99 ± 0,07
Gly	5,13 ± 0,07	5,28 ± 0,12	5,34 ± 0,01
Ala	6,33 ± 0,08	6,4 ± 0,16	6,38 ± 0,05
Ser	4,36 ± 0,05	4,02 ± 0,11	3,68 ± 0,03
Tyr	2,51 ± 0,04	2,08 ± 0,07	1,84 ± 0,09
Asp	9,47 ± 0,14	9,5 ± 0,33	9,34 ± 0,08
Glu	9,35 ± 0,13	9,57 ± 0,65	9,49 ± 0,16
His	1,88 ± 0,04	1,91 ± 0,05	1,88 ± 0,04
Arg	5,98 ± 0,18	5,91 ± 0,13	5,63 ± 0,22
∑ EAA	34,56	36,02	32,68
EAAI (%)	80,26	83,47	81,73
∑ sirné AA	4,35	4,31	-
∑ AA	84,78	85,92	80,26

**PŘÍLOHA P IV/1 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE WAKAME MUSO**

(UNDARIA PINNATIFIDA)

AA	Obsah AA [g/kg]					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)
Val	7,46 ± 0,29	3,89	8,01 ± 0,25	3,07	8,23 ± 0,10	1,21
Ile	5,67 ± 0,17	3,04	6,09 ± 0,06	0,97	6,28 ± 0,07	1,09
Leu	10,86 ± 0,35	3,20	10,64 ± 0,18	1,73	10,58 ± 0,06	0,56
Phe	6,50 ± 0,16	2,40	6,55 ± 0,08	1,24	6,69 ± 0,05	0,76
Thr	6,49 ± 0,32	4,99	6,24 ± 0,32	5,09	5,87 ± 0,14	2,33
Lys	7,83 ± 0,24	3,05	7,61 ± 0,08	1,00	7,65 ± 0,08	1,02
Met	4,11 ± 0,07	1,79	3,92 ± 0,08	2,11	-	-
Cys	1,91 ± 0,04	2,30	1,87 ± 0,05	2,40	-	-
Pro	8,10 ± 0,38	4,74	8,08 ± 0,40	4,99	7,68 ± 0,06	0,73
Gly	8,19 ± 0,34	4,13	8,23 ± 0,30	3,67	8,29 ± 0,07	0,90
Ala	24,34 ± 0,96	3,95	23,45 ± 0,62	2,66	23,09 ± 0,45	1,95
Ser	6,67 ± 0,32	4,87	6,07 ± 0,28	4,68	5,41 ± 0,18	3,27
Tyr	2,87 ± 0,06	2,02	2,45 ± 0,05	1,90	2,20 ± 0,04	2,00
Asp	13,95 ± 0,56	4,00	13,54 ± 0,46	3,37	13,62 ± 0,26	1,91
Glu	20,08 ± 1,23	6,11	19,36 ± 1,17	6,02	19,04 ± 0,26	1,39
His	3,23 ± 0,04	1,34	3,23 ± 0,13	4,12	3,20 ± 0,09	2,66
Arg	8,89 ± 0,22	2,53	8,22 ± 0,03	0,32	8,00 ± 0,10	1,29
Σ EAA	48,92		49,06		45,3	
Σ sirné AA	6,02		5,79		-	
Σ AA	147,15		143,56		135,83	

**PŘÍLOHA P IV/2 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE WAKAME MUSO**

(UNDARIA PINNATIFIDA)

AA	Obsah AA [g/16g N]		
	24 hod.	48 hod.	72 hod.
Val	3,80 ± 0,15	4,08 ± 0,13	4,19 ± 0,05
Ile	2,89 ± 0,09	3,11 ± 0,03	3,20 ± 0,03
Leu	5,53 ± 0,18	5,42 ± 0,09	5,39 ± 0,03
Phe	3,31 ± 0,08	3,34 ± 0,04	3,41 ± 0,03
Thr	3,31 ± 0,17	3,18 ± 0,16	2,99 ± 0,07
Lys	3,99 ± 0,12	3,88 ± 0,04	3,90 ± 0,04
Met	2,10 ± 0,04	2,00 ± 0,04	-
Cys	0,97 ± 0,02	0,95 ± 0,02	-
Pro	4,13 ± 0,20	4,12 ± 0,21	3,91 ± 0,03
Gly	4,17 ± 0,17	4,2 ± 0,15	4,23 ± 0,04
Ala	12,40 ± 0,49	11,95 ± 0,32	11,76 ± 0,23
Ser	3,40 ± 0,17	3,09 ± 0,14	2,76 ± 0,09
Tyr	1,46 ± 0,03	1,25 ± 0,02	1,12 ± 0,02
Asp	7,11 ± 0,28	6,90 ± 0,23	6,94 ± 0,13
Glu	10,23 ± 0,62	9,87 ± 0,59	9,70 ± 0,13
His	1,65 ± 0,02	1,64 ± 0,07	1,63 ± 0,04
Arg	4,53 ± 0,11	4,19 ± 0,01	4,08 ± 0,05
Σ EAA	24,93	25,01	23,08
EAAI	57,73	57,87	57,84
Σ sirné AA	3,07	2,95	-
Σ AA	74,98	73,15	69,21

**PŘÍLOHA P V/1 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE KOMBU MUSO**

(LAMINARIA JAPONICA)

AA	Obsah AA [g/kg]					
	24 hod.		48 hod.		72 hod.	
	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)	průměr ± S.D.	CV(%)
Val	4,78 ± 0,10	2,12	5,34 ± 0,13	2,50	5,39 ± 0,19	3,48
Ile	3,20 ± 0,09	2,79	3,57 ± 0,09	2,42	3,63 ± 0,13	3,67
Leu	6,78 ± 0,15	2,15	6,66 ± 0,12	1,77	6,55 ± 0,15	2,25
Phe	3,79 ± 0,07	1,90	3,93 ± 0,05	1,34	3,90 ± 0,08	2,15
Thr	5,46 ± 0,38	6,93	5,23 ± 0,59	11,24	5,23 ± 0,35	6,75
Lys	4,61 ± 0,13	2,88	4,61 ± 0,03	0,72	4,54 ± 0,09	2,04
Met	2,52 ± 0,07	2,81	2,57 ± 0,03	1,09	-	-
Cys	2,39 ± 0,05	2,22	2,41 ± 0,04	1,46	-	-
Pro	7,42 ± 0,33	4,49	7,34 ± 0,49	6,70	7,29 ± 0,38	5,26
Gly	5,52 ± 0,21	3,82	5,62 ± 0,34	6,06	5,66 ± 0,35	6,26
Ala	9,95 ± 0,20	2,03	9,99 ± 0,32	3,23	9,75 ± 0,30	3,10
Ser	5,24 ± 0,27	5,10	4,75 ± 0,41	8,58	4,48 ± 0,35	7,71
Tyr	2,34 ± 0,04	1,90	2,01 ± 0,05	2,34	1,77 ± 0,05	2,76
Asp	11,46 ± 0,40	3,47	11,33 ± 0,62	5,51	11,03 ± 0,59	5,35
Glu	21,87 ± 1,07	4,89	22,14 ± 1,47	6,63	21,72 ± 1,59	7,33
His	1,88 ± 0,03	1,85	1,88 ± 0,03	1,65	1,88 ± 0,04	2,04
Arg	5,47 ± 0,14	2,48	5,28 ± 0,07	1,35	5,05 ± 0,11	2,09
Σ EAA	31,14		31,91		29,24	
Σ sirné AA	4,91		4,98		-	
Σ AA	104,69		104,64		97,86	

**PŘÍLOHA P V/2 : OBSAH AMINOKYSELIN PO 24, 48 A 72 HOD.
HYDROLÝZE V ŘASE KOMBU MUSO**

(LAMINARIA JAPONICA)

AA	Obsah AA [g/16g N]		
	24 hod.	48 hod.	72 hod.
Val	4,00 ± 0,09	4,46 ± 0,11	4,51 ± 0,16
Ile	2,68 ± 0,07	2,98 ± 0,07	3,03 ± 0,11
Leu	5,67 ± 0,12	5,56 ± 0,1	5,47 ± 0,12
Phe	3,17 ± 0,06	3,28 ± 0,04	3,26 ± 0,07
Thr	4,57 ± 0,32	4,37 ± 0,49	4,37 ± 0,3
Lys	3,85 ± 0,11	3,86 ± 0,03	3,79 ± 0,08
Met	2,10 ± 0,06	2,14 ± 0,02	-
Cys	2,00 ± 0,04	2,01 ± 0,03	-
Pro	6,20 ± 0,28	6,13 ± 0,41	6,09 ± 0,32
Gly	4,62 ± 0,18	4,7 ± 0,28	4,72 ± 0,3
Ala	8,31 ± 0,17	8,34 ± 0,27	8,15 ± 0,25
Ser	4,37 ± 0,22	3,97 ± 0,34	3,74 ± 0,29
Tyr	1,96 ± 0,04	1,68 ± 0,04	1,48 ± 0,04
Asp	9,58 ± 0,33	9,46 ± 0,52	9,22 ± 0,49
Glu	18,28 ± 0,89	18,50 ± 1,23	18,15 ± 1,33
His	1,57 ± 0,03	1,57 ± 0,03	1,57 ± 0,03
Arg	4,57 ± 0,11	4,41 ± 0,06	4,22 ± 0,09
∑ EAA	26,04	26,65	24,43
EAAI (%)	59,78	61,57	61,21
∑ sirné AA	4,10	4,15	-
∑ AA	87,48	87,44	81,78

PŘÍLOHA P VI : OBSAH AMINOKYSELIN VE SLEPIČÍCH VEJCÍCH

[g/16g N]

AA	Vejce
Met	3,4
Pro	4,2
Gly	3,3
Ala	5,9
Val	6,8
Ile	6,3
Leu	8,8
Phe	5,7
Cys	2,4
Thr	5,1
Ser	7,6
Tyr	4,2
Asp	9,6
Glu	12,7
His	2,4
Lys	7
Arg	6,1
Trp	1,6
Σ EAA	51,3
CS (%)	100
EAAI (%)	100
Limitující AA	žádná
Σ AA	107,1