

# **Stanovení obsahu aminokyselin ve vybraných druzích sladkovodních řas**

Bc. Eva Illíková

---

Diplomová práce  
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

akademický rok: 2009/2010

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Eva ILLÍKOVÁ**

Osobní číslo: **T080358**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**

Téma práce: **Stanovení obsahu aminokyselin ve vybraných  
druzích sladkovodních řas.**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika vybraných druhů sladkovodních řas.
2. Popis aminokyselin jako významných nutričních složek potravin.
3. Popis metod stanovení aminokyselin.

### II. Praktická část

1. Metodika stanovení aminokyselin.
2. Stanovení obsahu aminokyselin ve vybraných druzích sladkovodních řas.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] CIFERRI, O.: Spirulina, the Edible Microorganism. Microbiol. Rev. 1983, 47, p. 551-578.

[2] NELSON, D. L. Principles of biochemistry, fifth edition, W. H. Freeman and Company 2008.

[3] POMERANZ, Y. Food analysis, third edition 2000.

[4] LEDVINA, M. Biochemie pro studující medicíny I.díl, UK Praha 2004.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.**

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**4. ledna 2010**


Termín odevzdání diplomové práce:

**19. května 2010**

Ve Zlíně dne 29. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Eva Illíková

Obor: Chemie potravin a bioaktivních látek

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 17.5.2010



.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **ABSTRAKT**

Nutriční hodnota sladkovodních řas je vysoká díky velkému obsahu bílkovin s bohatým zastoupením esenciálních aminokyselin, minerálních látek, vitaminů a řady bioaktivních látek. Chemické složení řas mohou výrazně ovlivnit podmínky kultivace. Diplomová práce byla zaměřena na stanovení aminokyselin ve vybraných druzích sladkovodních řas. Bylo srovnáno aminokyselinové složení řas kultivovaných v laboratorních podmínkách a ve fotobioreaktorech.

Klíčová slova: aminokyseliny, dusíkaté látky, řasy, kultivace

## **ABSTRACT**

Nutritive value of freshwater algae is high due to their great content of proteins with wide range of essential amino acids, minerals, vitamins and number of bioactive substances. Chemical constitution of algae can be influenced by their cultivation conditions.

My thesis is focused on determination of amino acids in selected types of freshwater algae, constitution of freshwater algae amino acids was compared under laboratory conditions and in photobioreactors.

Key words: amino acids, nitrogen substances, algae, cultivation

Ráda bych na tomto místě srdečně poděkovala Ing. Ladislavě Mišurcové, PhD. za poskytnuté materiály, cenné připomínky, ochotu a trpělivost při odborném vedení mé diplomové práce. Touto cestou bych ráda poděkovala Ing. Dušanovi Samkovi za jeho ochotu a pomoc.

Tímto bych také chtěla poděkovat Ing. Magdě Sergejevové, PhD. a doc. RNDr. Jiřímu Masojídkovi, CSc. z Ústavu fyzikální biologie JČU ČB v Nových Hradech a z MÚ AV ČR v Třeboni za poskytnutí vzorků sladkovodních řas a sinic. Poděkování patří i Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek z Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bolu v Turecku za poskytnutí rostliny *Salicornia europea*.

Děkuji také mé rodině, přátelům a pracovnímu kolektivu za podporu a pomoc během studia.

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



# OBSAH

ÚVOD.....	10
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>1 ŘASY (ALGAE) .....</b>	<b>12</b>
1.1 SYSTEMATICKÉ ROZDĚLENÍ .....	13
1.2 HNĚDÉ ŘASY ( <i>CHROMOPHYTA</i> ) .....	14
1.3 RUDUCHY ( <i>RHODOPHYTA</i> ) .....	14
1.4 ZELENÉ ŘASY ( <i>CHLOROPHYTA</i> ) .....	15
1.4.1 <i>Chlorella</i> .....	17
1.4.2 <i>Scenedesmus</i> .....	18
1.5 SINICE .....	18
1.5.1 <i>Spirulina</i> .....	19
1.6 SALICORNIA EUROPEA .....	20
<b>2 ŽIVINY.....</b>	<b>21</b>
2.1 SACHARIDY .....	21
2.2 LIPIDY .....	22
2.3 PROTEINY .....	22
2.3.1 Aminokyseliny .....	24
2.3.1.1 Metabolizmus aminokyselin .....	25
2.3.1.2 Alifatické monokarboxylové aminokyseliny .....	27
2.3.1.3 Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem .....	29
2.3.1.4 Aminokyseliny obsahující síru.....	30
2.3.1.5 Aminokyseliny s alkoholovým hydroxylem v postranním řetězci.....	33
2.3.1.6 Alifatické diaminokarboxylové aminokyseliny .....	35
2.3.1.7 Alifatické dikarboxylové aminokyseliny a jejich amidy.....	36
2.3.1.8 Aromatické aminokyseliny .....	38
2.3.1.9 Heterocyklické aminokyseliny .....	40
<b>3 METODY STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK .....</b>	<b>43</b>
3.1 METODA STANOVENÍ OBSAHU DUSÍKATÝCH LÁTEK PODLE KJELDAHLA .....	43
3.2 METODA STANOVENÍ OBSAHU DUSÍKATÝCH LÁTEK METODOU PODLE WINKLERA .....	44
<b>4 STANOVENÍ AMINOKYSELIN .....</b>	<b>45</b>
4.1 HYDROLÝZA BÍLKOVIN .....	45
4.2 ANALÝZA AMINOKYSELIN .....	46
4.2.1 Iontoměničová chromatografie aminokyselin .....	46
4.2.2 Vysokotlaká kapalinová chromatografie HPLC.....	47
4.2.3 Plynová chromatografie .....	47
4.2.4 Chromatografické dělení na tenké vrstvě.....	48
4.2.5 Elektroforetické dělení .....	48
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>49</b>



<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>51</b>
6.1	STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK .....	51
6.2	STANOVENÍ AMINOKYSELIN.....	54
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>57</b>
7.1	OBSAH DUSÍKATÝCH LÁTEK .....	57
7.2	OBSAH AMINOKYSELIN V ŘASÁCH.....	59
7.2.1	Celkové obsahy aminokyselin a celkové obsahy esenciálních a neesenciálních aminokyselin.....	59
7.2.2	Obsahy esenciálních aminokyselin.....	61
7.2.3	Obsah aminokyselin v analyzovaných vzorcích.....	63
7.2.3.1	Obsah aminokyselin v sinici <i>Spirulina platensis</i> .....	63
7.2.3.2	Obsah aminokyselin v řase <i>Chlorella kessleri</i> .....	65
7.2.3.3	Aminokyselinové složení směšného vzorku K1 .....	67
7.2.3.4	Aminokyselinové složení kmene K2 .....	69
7.2.3.5	Aminokyselinové složení kmene <i>Scenedesmus quadricauda</i> .....	71
7.2.4	Aminokyselinové složení <i>Salicornia europea</i> v porovnání se složením řas .....	73
7.2.5	Porovnání aminokyselinového složení analyzovaných vzorků s publikovanými údaji.....	76
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>78</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>80</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>86</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>88</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>90</b>

## ÚVOD

Sinice a řasy jsou jako jedny z vývojově nejstarších organismů v přírodě velmi hojně zastoupeny. Jedná se o rozmanitou skupinu převážně mořských a sladkovodních organismů. Jejich nutriční hodnota je vysoká vzhledem k obsahu bílkovin s bohatým zastoupením esenciálních aminokyselin, vitaminů, minerálních látek, enzymů a rostlinných barviv.

Od nepaměti byly řasy a sinice lidmi využívány jako mořská zelenina, koření, krmivo a stelivo pro dobytek nebo hnojivo. V současné době jsou zejména mořské řasy hojně používány pro přípravu jídel, jejich obliba narůstá a stávají se stále běžnější součástí jídelníčku. Sladkovodní řasy jsou díky vysokému obsahu bílkovin a bioaktivních látek využívány ve farmaceutickém průmyslu a jsou nadějným zdrojem hodnotných bílkovin pro obyvatele zemí třetího světa.

Pravidelný příjem bílkovin potravou je nezbytný pro správnou funkčnost důležitých biochemických procesů v organismu.

Nutriční hodnota a chemické složení sladkovodních řas se liší podle jednotlivých druhů. Může však být výrazně ovlivněno kultivačními podmínkami. Optimalizace kultivačních podmínek sinic a řas je předmětem mnoha výzkumů po celém světě. Nejčastěji jsou ve speciálních kultivačních zařízeních pěstovány řasy *Chlorella*, *Scenedesmus* a *Dunaliella* a sinice *Spirulina*.

Cílem této práce bylo zjistit aminokyselinové složení vybraných druhů sladkovodních řas. Bylo posouzeno ovlivnění aminokyselinového složení vybraných sladkovodních řas vlivem kultivačních podmínek.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 ŘASY (ALGAE)

Řasy (algae) jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné autotrofní, většinou vodní mikroorganismy. Ke svému růstu na rozdíl od heterotrofních mikroorganismů potřebují pouze anorganický uhlík z  $\text{CO}_2$  a světlo. Je to poměrně nejednotná a pestrá skupina. Jejich tělo je tvořeno stélkou, která není diferencována na kořen, stonek a listy. Neobsahuje vodivé cévní svazky. Řasy v průběhu evoluce prodělaly vývoj od jednobuněčných mikroorganismů až po složité pletivé stélky. Tyto složitější stélky jsou diferencovány na fyloidy (listu podobné orgány), kauloidy (malá lodyha) a rizoidy (pakořínek, přichytné vlákno). Hlavní typy stélek jsou:

**Monadoidní stélka** – jednobuněčná, jednojaderná, nejčastěji kapkovitého tvaru, často s bičíky a světločivnou skvrnou.

**Kokální stélka** – jednobuněčná, zpravidla jednojaderná, nepohyblivá, kryta pevnou buněčnou stěnou.

**Trichální stélka** – mnohobuněčná, tvořena rozvětvenými nebo nerozvětvenými vlákny.

**Sifonální stélka** – jednobuněčná, mnohojaderná, kulovitá až trubicová.

**Sifonokladální stélka** – mnohobuněčná, vláknitá, tvořena mnohojadernými buňkami.

**Pletivná stélka** – mnohobuněčná stélka představující vývojově nejvyšší organizační stupeň řasových stélek [1,2].

Řasy se vyskytují téměř ve všech biotopech, převážná většina druhů je však vázána na život ve vodě. V tekoucích vodách žijí přisedle na dně, na ponořených kamenech či vyšších rostlinách. Ve stojatých vodách se řasy vyskytují také volně rozptýlené ve vodě. Věda zabývající se studiem řas a sinic se nazývá algologie [2,3,4].

Význam řas v přírodě je nenahraditelný. Jsou významnými producenty organické hmoty a obnovují množství kyslíku ve vodě, jsou důležitou složkou potravního řetězce mnohých organismů a tím ovlivňují produkci ryb. Již od dávných dob byly v řadě zemí, zejména ve východní Asii, součástí jídelníčku jako mořská zelenina či koření. V současné době jsou

také zpracovávají na výrobu fykokoloidů (agaru, karagenanu a alginátů), které jsou v potravinářském průmyslu využívány jako zahušťovadla a želírující prostředky. Mořské řasy byly odedávna využívány jako součást krmiv pro hospodářská zvířata a jako hnojiva. Vzhledem k jejich vysoké nutriční hodnotě jejich význam neustále roste. Úspěšné pěstování sladkovodních řas, jako potraviny pro člověka, zdroje mnoha bioaktivních látek a krmiva pro dobytek, je v současné době předmětem mnoha výzkumů. Sladkovodní řasy jsou kultivovány po celém světě z důvodu jejich vysokého obsahu kvalitních proteinů a cenných biologicky aktivních látek [1,2,5,6].

## 1.1 Systematické rozdělení

Systematické třídění živých organizmů se neustále vyvíjí podle stupně poznání jejich morfologických struktur a také na základě poznatků molekulární biologie. Buněčné soustavy jsou děleny do tří domén: bakterie, archea a eukarya. Sinice, byly dříve řazeny mezi řasy a v současnosti se o nich stále hovoří jako o modrozelených řasách, patří však mezi bakterie (prokaryotické organizmy). Veškerá oddělení řas jsou eukaryotické organizmy. Řasy jsou nejednotnou skupinou a jejich systém je pořád neustálený. Nové metody zkoumání poukazují na velmi složité vývojové vztahy, které způsobují značné změny v systému sinic a řas a jejich zařazení do skupin.

### DOMÉNA: Bakterie (*Bacteria*)

Kmen: Sinice (*Cyanoanobacteria*)

Druh: *Spirulina*

### DOMÉNA: Eukarya

Říše: Chromista

Kmen: Hnědé řasy (*Chromophyta*)

Říše: Rostliny (*Plantae*)

Podříše: Nižší rostliny (*Protobionta*)

Kmen: Ruduchy (*Rhodophyta*)

Kmen: Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Třída: Zelenivky (*Chlorophyceae*)

Druh: *Chlorella*

Druh: *Scenedesmus*

V chloroplastech řas, umístěných na tylakoidech (membránové váčky), jsou obsažena fotosyntetická barviva. Na základě složení barviv jsou rozděleny obecně řasy do tří skupin – červené řasy (*Rhodophyta*), hnědé řasy (*Chromophyta*) a zelené řasy (*Chlorophyta*). Podle místa výskytu jsou označovány jako mořské a sladkovodní řasy [7,8,9,10].

## 1.2 Hnědé řasy (*Chromophyta*)

Jedná se o velmi rozsáhlou skupinu řas se značnými velikostními a morfologickými rozdíly. Stélky mohou být různých typů a jejich velikost může být od mikroskopických až po makroskopické rozměry. Až na malé výjimky se jedná o mořské řasy vyskytující se zejména u pobřeží. V jejich chloroplastech se nachází chlorofyl *a* a *c*, charakteristická je přítomnost xantofylu fukoxantinu, který způsobuje hnědé zbarvení. Buněčná stěna je složena z pevné a slizové části. Zásobní látkou je polysacharid chryzolaminaran ( $\beta$ -1,3-glukan) a volutin (polyfosfátové granule) [1,2,10,11].

Již od odedávna byly hnědé řasy využívány jako palivo, hnojivo a krmení pro hospodářská zvířata. V zemích východní Asie a v Rusku jsou běžnou součástí jídelníčku. Představují bohatý zdroj vitaminů, minerálních látek a dalších, zdraví prospěšných látek. Proto je jim věnována stále větší pozornost a stávají se běžnou součástí jídelníčku po celém světě. Ze stélek se získává kyselina alginová, její soli jsou využívány v potravinářském průmyslu jako stabilizátory zmrzlin, pudinků a krémů [12].

## 1.3 Ruduchy (*Rhodophyta*)

Rhodophyta žijí převážně v mořích, ve sladkých vodách žije jen málo druhů. Většinou jsou to vícebuněčné organizmy. Chloroplasty jsou zpravidla zbarveny červeně, ale mohou mít i modrozelenou barvu. Zbarvení chloroplastů je dáno obsahem fykoerytrinu (červený) a fykocyjaninu (modrý), obsažen je také chlorofyl *a* a karoteny. Zásobní látkou je florideový

škrob, polysacharid, který se od škrobu zelených rostlin liší absencí amylózy. Buněčná stěna je složena ze dvou vrstev, zevnitř je celulózní, vnější strana je tvořena slizovitým galaktanem. Vyluhováním buněčných stěn některých rodů ruduch se získává agar, který se využívá v potravinářském, papírenském průmyslu a v mikrobiologických laboratořích jako živná půda pro kultivaci mikroorganismů. Agary se v potravinářství využívají při číření vína, výrobě nápojů, džemů, cukrářských, mléčných a masových výrobků. Z celkového množství asi 4000 druhů ruduch žije převážná většina v mořích, a to i ve větších hloubkách, protože mohou díky barvivu fykoerytrinu využívat k fotosyntéze jen nepatrné množství světla, které jiným řasám nestačí. Ve sladkých vodách žije asi jen 200 druhů [2,7,9,10,13].

#### 1.4 Zelené řasy (*Chlorophyta*)

Zelené řasy tvoří velmi rozsáhlou a rozmanitou skupinu řas s vývojovými vztahy k vyšším rostlinám. Zastoupení zde mají všechny morfologické typy od jednobuněčných organismů přes nejrůznější vláknité formy až ke stélkám podobným vyšším rostlinám. Chloroplasty obsahují chlorofyly *a* a *b*, karoteny a xantofyly, které zelenou barvu chlorofylů nepřekrývají. Zásobní látkou je škrob, který se ukládá na povrchu pyrenoidu (bílkovinné tělísko) nebo se nachází volně v chloroplastech. Dalšími zásobními látkami mohou být mannan a xylan, některé alkoholy, lipidy a volutin. Povrch buněk je v nejjednodušším případě tvořen pouze plazmatickou membránou, někdy může být pokryt šupinami nebo glykoproteinovou chlamys. Buněčná stěna ostatních zelených řas je celulózní [1,2,11].

Jedná se o ekologicky a produkčně velmi významnou skupinu řas, naprostá většina se vyskytuje ve sladkých vodách. Zejména v létě tvoří v povrchových vodách mírného pásu významnou biomasu. Některé větší druhy se vyskytují i v moři, při pobřeží [11].

Zatímco mořské řasy byly lidmi prakticky využívány odedávna, řasy vnitrozemských vod byly naproti tomu dlouhou dobu jen zajímavým objektem výzkumných studií. V současné době nachází sladkovodní řasy využití při výrobě kosmetických prostředků a doplňků stravy. Také mohou být využity jako součást krmiv pro hospodářská zvířata. Jelikož jsou zelené řasy zdrojem plnohodnotných bílkovin, řady vitaminů, minerálních a biologicky aktivních látek, uvažuje se o nich jako o cenné potravine zejména pro obyvatele zemí třetího světa.



Jejich složení lze ovlivnit kultivačními podmínkami tak, že podíl bílkovin např. u řasy *Chlorella* může kolísat v rozmezí 7 - 88 %. Masové kultivace řas se staly předmětem intenzivního výzkumu zejména po 2. světové válce. Pro tyto účely se však nevyužívají makroskopické řasy volně rostoucí v přírodě, ale drobné řasy vypěstované ve zvláštních kultivačních zařízeních. Nejčastěji kultivovanými řasami jsou *Chlorella*, *Scenedesmus* a *Dunaliella*. Na vývoji kultivačních zařízení a optimalizaci kultivačních podmínek se usilovně pracuje po celém světě. Do světové špičky patří také Hydrobiologické oddělení Botanického ústavu ČSAV v Třeboni. Na výzkumu v ČR se také významně podílí Ústav fyzikální biologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, se sídlem na zámku v Nových Hradech [6,12,14].

Řasy mohou být kultivovány buď v otevřených systémech (tzv. open ponds) anebo v uzavřených systémech, fotobioreaktorech (PBC). Nejčastěji probíhá kultivace v otevřených kruhových bazénech s otáčejícím se míchadlem, nebo v protáhlých bazénech. V nich je 20 - 30 cm silná vrstva anorganického živného roztoku a řas v neustálém pohybu působením lopatkových míchadel a je probublávána oxidem uhličitým. Zcela odlišný způsob kultivace je vyvíjen v Mikrobiologickém ústavu Akademie věd na Opatovickém mlýně v Třeboni. Systém je založen na použití nakloněných ploch, po nichž řasová suspenze během dne trvale stéká v tenké vrstvě.



Obr. 1 Otevřený systém kultivace [15].



Obr. 2 Fotobioreaktor [16].

Vysoké nároky farmaceutického průmyslu na čistotu kultury a opakovatelnost chemického složení řas splňují pouze uzavřené fotobioreaktory. Nejčastěji se používají trubicové či

panelové PBC. Tento způsob kultivace je používán v Ústavu fyzikální biologie Jihočeské univerzity v Nových Hradech [ 6,17].

#### 1.4.1 *Chlorella*

Řasy rodu *Chlorella* jsou z hlediska biologické hodnoty a rychlosti růstu jednou z nejvíce kultivovaných a zkoumaných jednobuněčných řas. Její buňky jsou nejčastěji kulovitěho tvaru o průměru 1 - 10 mikrometrů. Růst řasy *Chlorella* je za vhodných kultivačních podmínek velmi rychlý a již za 3 - 6 hodin může dojít ke zdvojnásobení hmoty. *Chlorella* obsahuje až 60 % bílkovin, které zahrnují ve vyváženém poměru všechny esenciální aminokyseliny. Obsah tuků je asi 5 %, významné je zastoupení nenasycených mastných kyselin. *Chlorella* obsahuje velké množství chlorofylu,  $\beta$ -karotenu a minerálních látek. Cenný je rovněž vysoký obsah vitaminů řady B, kyseliny askorbové a kyseliny nikotinové. Buněčná stěna je velmi silná a zabraňuje tak dostatečnému strávení a následnému využití živin. Proto je narušována dezintegrací, čímž je výrazně zvýšena stravitelnost řasy. *Chlorella* je intenzivně zkoumána také v souvislosti s obsahem látky nazývané *Chlorella* růstový faktor (CGF), která má prokazatelné pozitivní účinky na lidský organizmus. Podporuje činnost imunitního systému, snižuje riziko vzniku rakovinového onemocnění, zvyšuje schopnost regenerace a stimuluje tvorbu řady biochemicky významných látek v lidském organizmu. [1,17,19].



Obr. 3 *Chlorella pyrenoidosa* [20].

### 1.4.2 *Scenedesmus*

*Scenedesmus* je druhově velmi bohatý rod zelených řas. Buňky mají nejčastěji elipsoidní nebo vřetenovitý tvar, jejich velikost je 6 - 40 mikrometrů. Pro *Scenedesmus* je typické vytváření cenobií o čtyřech, osmi a vzácně také šestnácti buňkách. Z buněk často do prostoru vyčnívají ostnaté výběžky buněčné stěny, které jsou pro tento druh typické. *Scenedesmus* patří mezi významné testovací kmeny zelených řas a je často využíván k testům toxicity [1,7,21].



Obr. 4 *Scenedesmus quadricauda* [22].

## 1.5 SINICE

Sinice jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné autotrofní prokaryotické organizmy. Dříve byly považovány za řasy. V současné době jsou zařazeny jako samostatný kmen mezi bakterie. V buňkách chybí jádro, chloroplasty a mitochondrie. Buněčný obsah kryje plazmatická membrána, čtyřvrstvá buněčná stěna a sliz. V protoplazmě je uložena kruhová DNA a v cytoplazmě se nacházejí tylakoidy (ploché útvary) s fotosyntetickým aparátem. V membráně tylakoidů se nachází fotosyntetická barviva chlorofyl a,  $\beta$ -karoten a přídatná barviva fykobiliny (fykokyanin a fykoerytrin). Fykobiliny umožňují fotosyntézu i při nízké intenzitě světla. Poměr jednotlivých pigmentů určuje výslednou barvu buňky, která je nejčastěji modrozelená. Hlavní zásobní látkou je sinicový škrob ( $\alpha$  - 1,4 glukán). Jako zásobní energetické zdroje si sinice uchovávají polypeptidy (cyanofycinová zrnka), zásobní význam mají též polyfosfátové granule volutinu.

Sinice jsou jednou z nejstarších skupin autotrofních organismů. Vyskytují se prakticky ve všech biotopech. V souvislosti s jejich geologickým stářím mají sinice řadu adaptačních mechanismů, díky nimž mohou osidlovat i stanoviště s extrémními podmínkami (např. termální prameny) [1,11,23,24,25].

Některé druhy sinic jsou schopny vázat vzdušný kyslík a jsou využívány ke zúrodnování rýžových polí v Asii. Sinice mohou obsahovat až 70 % proteinů v sušině a mají vysoký obsah vitaminů. Jsou proto využívány jako součást krmiv hospodářských zvířat a stále častější je jejich využití v potravinářství [12].

### 1.5.1 *Spirulina*

Ačkoliv je *Spirulina* řazena mezi bakterie, používá se i jejího označení jako jednobuněčná modrozelená řasa. *Spirulina* má tvar spirálovitě zatočeného vlákna a může dosahovat velikosti až 0,5 mm. Velmi dobře se jí daří v teplých vodách s optimální teplotou kolem 39 °C.

*Spirulina* má velmi vysokou nutriční hodnotu. Obsahuje 55 - 70 % vysoce kvalitních bílkovin, obsahujících všechny esenciální aminokyseliny. Celkové množství tuků činí maximálně 6 %, přičemž až jednu třetinu tohoto množství tvoří polynenasycené mastné kyseliny. Zastoupeny jsou vitaminy skupiny B včetně vitamínu B<sub>12</sub>, vitamin C, vitamin D a vitamin E. *Spirulina* je významným zdrojem fotosyntetických barviv a minerálních látek, zejména draslíku.



Obr. 5 *Spirulina platensis* [26].



Obr. 6 *Spirulina platensis* – biomasa [27].

Buněčná stěna sinic neobsahuje celulózu, což v porovnání s řasami výrazně zvyšuje jejich stravitelnost [7,23,28].



## 1.6 SALICORNIA EUROPEA

### DOMÉNA: EUKARYA

Říše: Rostliny (*Plantae*)

Oddělení: Krytosemenné rostliny (*Magnoliophyta*)

Třída: Nižší dvouděložné (*Magnoliopsida*)

Řád: Hvozdíkovité (*Caryophyllales*)

Čeleď: Laskavcovité (*Amaranthaceae*)

Rod: *Salicornia* (*Salicornioideae*)

Druh: *Salicornia europaea*

*Salicornia europaea*, neboli Slanorožec evropský je malý, asi 5 - 30 centimetrů vysoký sukulent. Má bohatý kořenový systém, jeho stonky jsou přímé, rozvětvené a jsou pokryty drobnými lístky, které přiléhají na stonek. Většina druhů má zelené zbarvení, na podzim se barva lístků mění v červenou. Plodem je nažka obsahující semeno, z něhož se získává olej. Řadí se mezi halofyty. Roste na půdách s vysokým obsahem solí, obvykle na březích a dnech slaných jezer a na mořských plážích. Vyskytuje se na slaniskách východní Evropy. V České republice se vyskytoval na Jižní Moravě, ale v důsledku změny biotopu vyhynul.

*Salicornia europaea* je v některých zemích běžně konzumována jako zelenina, nebo jako příloha k rybám a mořským plodům. Podává se buď syrová, nebo vařená. Využívána je také jako krmivo pro hospodářská zvířata [29,30].



Obr. 7 *Salicornia europaea* [31].



Obr. 8 Podzimní zbarvení *Salicornia europaea*[32].

## 2 ŽIVINY

Potravou přijímá lidský organizmus velké množství chemických látek, které metabolizuje, vstřebává a následně využívá jako zdroj energie či k biosyntéze řady molekul. Tyto látky jsou označovány jako živiny. Mezi nejdůležitější živiny patří sacharidy (cukry), lipidy (tuky) a proteiny (bílkoviny). Mezi živiny patří také vitaminy a minerální látky, jsou to látky, které nemají energetickou hodnotu a jejich denní příjem je nízký. Podílí se však zásadním způsobem na správném fungování organismu [33,34].

### 2.1 Sacharidy

Sacharidy, nejrozšířenější organické sloučeniny v biosféře, jsou chemicky definovány jako aldehydy nebo ketony polyhydroxyalkoholů. Vznikají v buňkách fotoautotrofních organismů přeměnou vzdušného oxidu uhličitého a vody za využití energie slunečního záření. Zpravidla jsou rozdělovány do tří skupin na monosacharidy, oligosacharidy obsahující 2 - 10 monosacharidových jednotek a polysacharidy obsahující až tisíce jednotek monosacharidů. Fyziologicky nejvýznamnějším sacharidem je monosacharid glukóza. Zásadní význam mají její fosforečné estery, zejména glukóza-6-fosfát, který má ústřední postavení v metabolismu cukrů [35,36,37].

Sacharidy slouží jako energetický substrát pro množství fyziologických procesů organismu. Jednoduché sacharidy jsou pohodovým zdrojem energie, zatímco polysacharidy jsou dlouhodobějšími zásobními formami energie. U rostlin jsou to škroby a u živočichů glykogen. Sacharidy jsou významnou stavební složkou živých organismů. Celulóza tvoří podpůrnou složku buněčných stěn rostlin, chitin plní podobnou funkci v živočišných buňkách. Zásadní je účast monosacharidů ribózy a deoxyribózy v biosyntéze nukleotidů a nukleových kyselin. Sacharidy jsou součástí dalších fyziologicky významných látek – bílkovin, lipidů, ATP (adenozintrifosfát), koenzymů, aj. Zvláštní význam ve výživě má vláknina, směs nestravitelných polysacharidů. Vlákna dobře absorbují vodu, tím zvětšuje obsah střev a zrychluje pasáž stolice tlustým střevem. Současně omezuje resorpci toxických látek. Vysoký obsah vlákniny je například v zelenině a celozrnných výrobcích. Monosacharidy jsou obsaženy například v medu a ovoci, disacharidy se nachází v mléce či řepném cukru a polysacharidy jsou zejména v obilovinách, luštěninách a bramborech [33,37,38].

## 2.2 Lipidy

Lipidy jsou z chemického hlediska deriváty mastných kyselin a alkoholů nebo aminoalkoholů. Jedná se o heterogenní skupinu látek, jejichž společnou vlastností je hydrofóbní charakter. Nejdůležitějšími lipidy jsou volné mastné kyseliny nebo esterově vázané ve formě triacylglycerolů, cholesterolů a fosfolipidů. Mastné kyseliny jsou rozdělovány na nasycené a nenasycené, ty mají v molekule dvojnou vazbu. Některé nenasycené mastné kyseliny není schopen lidský organizmus syntetizovat a musí být proto přijímány potravou. Jedná se o esenciální mastné kyseliny – kyselinu linolovou a  $\alpha$ -linolenovou, ostatní mastné kyseliny mohou být syntetizovány z acetylkoenzymu A [35,36,39].

Lipidy mají řadu biologických funkcí. Jsou koncentrovaným zdrojem energie, nezbytnou složkou buněčných membrán, působí jako rozpouštědla pro vitaminy A, D, E a K a jsou výchozí látkou při syntéze steroidních hormonů a prostaglandinů. Tuky se ukládají pod kůží, kde působí jako tepelný izolátor a zároveň slouží jako energetická rezerva. Nejvýznamnějšími potravinovými zdroji lipidů jsou živočišné tuky, rostlinné oleje, avokádo či ořechy [33,35,37].

## 2.3 Proteiny

Existuje celá řada proteinů rostlinných, živočišných a proteinů lidského těla vzájemně se lišící svou stavbou. Všechny proteiny jsou tvořeny aminokyselinami spojenými proteosyntézou do dlouhých řetězců. Pořadí a počet aminokyselinových zbytků v řetězci je pro každou bílkovinu specifický, daný genovou výbavou buněk. Zpravidla obsahují ve své molekule více než 100 aminokyselin vzájemně vázaných peptidovými vazbami  $-\text{CO}-\text{NH}-$ . Polymery aminokyselin spojené peptidovou vazbou, které zpravidla obsahují méně než 50 aminokyselinových zbytků, jsou nazývány peptidy. Co však odlišuje proteiny od peptidů není počet aminokyselin v molekule, ale jejich definované a charakteristické uspořádání pro každý protein. Tato prostorová konformace je stabilizována nekovalentními interakcemi mezi úseky polypeptidového řetězce [33,35,40].

Bílkoviny zastávají v organizmu řadu velice významných funkcí, nejdůležitější je funkce strukturní, metabolická a informační. Bílkoviny jsou stavební složkou téměř všech buněčných struktur, např. umožňují kontrakci svalových buněk (aktin a myozin). Pevnost a pružnost tkání udávají extracelulární bílkoviny (kolagen a elastin). Podílí se na krevní srážli-



vosti (trombin a fibrin). Bílkovina keratin je hlavní složkou povrchové vrstvy pokožky, vlasů a nehtů. Formou enzymů a hormonů se bílkoviny podílí zásadním způsobem na většině významných chemických reakcí probíhajících v lidském organismu. Mnohé enzymově katalyzované reakce probíhají v jednotlivých kompartmentech buňky oddělených biomembránami. Tyto biomembrány nejsou volně propustné pro jednotlivé živiny a zde sehrávají bílkoviny velmi důležitou transportní úlohu. Umožňují specifický přenos látek přes bariéru biomembrán.

Proteiny jsou zásadní pro správnou funkci imunitního systému. Je-li v organismu rozpoznána cizorodá látka – antigen (obvykle protein nebo polysacharid), imunitní systém zahájí tvorbu imunoglobulinů (bílkovinné protilátky). Imunoglobuliny se váží na antigen, čímž změni jeho konformaci a zahájí celou kaskádu dějů vedoucích k zneškodnění antigenu [35,40,41].

Aminokyseliny, jako základní složky bílkovin, ve své molekule mimo jiné obsahují aminovou skupinu  $-NH_2$ . Právě obsah dusíku činí aminokyseliny nezbytnou živinou pro organismus [33]. Z nutričního hlediska jsou bílkoviny rozlišovány na plnohodnotné, které obsahují všechny aminokyseliny v adekvátním množství (vejce, mléko). Téměř plnohodnotné jsou například živočišné svalové bílkoviny, u nichž jsou některé esenciální aminokyseliny mírně nedostatkové (bílkoviny kosterního svalstva). Příkladem neplnohodnotných bílkovin jsou rostlinné bílkoviny a méně kvalitní vazivové tkáně živočichů, některé esenciální aminokyseliny jsou v nich zastoupeny nedostatečně [40]. Živočišné bílkoviny jsou ve srovnání s rostlinnými proteiny lépe stravitelné a obsahují většinou všechny esenciální aminokyseliny. Rostlinné zdroje jsou zpravidla v jedné či více aminokyselinách limitované, což znamená, že některá z aminokyselin není přítomna vůbec, nebo jen ve velmi malém množství. Limitujícími aminokyselinami rostlinných bílkovin jsou nejčastěji lyzin, metionin a tryptofan [36,42].

Výživová hodnota bílkovin se určuje podle tzv. aminokyselinového skóre, což v praxi znamená stanovení poměrného zastoupení konkrétní esenciální aminokyseliny ve zkoumané bílkovině v poměru k obsahu stanovované aminokyseliny v referenčním proteinu, kterým je bílkovina vejce. Vejce obsahuje optimální složení esenciálních aminokyselin [40,42].

Trávení bílkovin začíná v žaludku, kde jsou vystaveny účinkům kyselé žaludeční šťávy. Součástí žaludeční šťávy je i proteolytický enzym pepsin, který štěpí proteiny na kratší úseky zvané polypeptidy. Polypeptidy dále putují do tenkého střeva, kde jsou vystaveny působení pankreatické šťávy, v níž hrají nejdůležitější roli enzymy trypsin a chymotrypsin. Působením těchto peptidů vznikají oligopeptidy, které jsou působením příslušných peptidáz buněk kartáčového lemu sliznice tenkého střeva štěpeny až na jednotlivé aminokyseliny [41,42]. Aminokyseliny se vstřebávají z tenkého střeva vrátnicovým oběhem do jater a do lymfatického systému. Jen malá část proteinů nepodléhá rozkladu při trávení a postupuje do tlustého střeva, kde je metabolizována střevní mikroflórou [36,43].

### 2.3.1 Aminokyseliny

Aminokyseliny nejsou jen základní stavební jednotkou bílkovin a peptidů, ale zastávají řadu dalších, biologicky velmi důležitých funkcí. Jsou prekurzory jiných aminokyselin a mnoha dalších látek (např. purinů, pyrimidinů, hormonů, neurotransmiterů, močoviny, aj.), účastní se řady biochemických reakcí jako katalyzátory a jsou též zdrojem energie pro organismus [33].

V bílkovinách většiny organismů se vyskytuje jen 20 základních, kódovaných aminokyselin. V jejich molekule je přítomna alespoň jedna primární aminoskupina  $-NH_2$  a současně alespoň jedna karboxylová skupina  $-COOH$ . Jedná se tedy o substituované karboxylové kyseliny. Obecný vzorec lze vyjádřit ve tvaru  $R-CHNH_2-COOH$ , kde R je alifatický, aromatický nebo heterocyklický zbytek [44].

Kromě glycinu obsahují aminokyseliny nejméně jeden asymetrický atom uhlíku a jsou opticky aktivní. V proteosyntéze jsou do polypeptidových řetězců vestavovány výhradně aminokyseliny, které mají na  $\alpha$ -uhlíku L-konfiguraci [35,45].

Aminokyseliny obsahují nejméně dvě ionizovatelné skupiny – karboxylovou skupinu (odštěpuje  $H^+$  ionty) a aminoskupinu (přijímá  $H^+$  ionty). Na základě náboje při fyziologickém pH (7,4) lze aminokyseliny členit na kyselé, zásadité a neutrální.

#### Kyselé aminokyseliny

Mají dvě karboxylové skupiny - kyselina asparagová a kyselina glutamová.

### Zásadité aminokyseliny

Mají dvě nebo více aminoskupin - histidin, lyzin a arginin.

### Neutrální aminokyseliny

Mezi neutrální aminokyseliny jsou řazeny - alanin, glycin, prolin, valin, leucin, izoleucin, glutamin, asparagin, cystein, metionin, serin, treonin, fenylalanin, tyrozin a tryptofan [36].

Z biologického hlediska je pro organismus potřebných všech 20 základních aminokyselin. Z toho osm není schopno lidské tělo syntetizovat a musí je proto přijímat potravou. Tyto aminokyseliny nazýváme esenciální, jsou to – valin, leucin, izoleucin, fenylalanin, lyzin, metionin, treonin a tryptofan. Pro dětský organismus jsou navíc ještě esenciální aminokyseliny arginin a histidin [40,43,45].

Nadbytečný příjem aminokyselin není v lidském organismu ukládán do zásoby, jak je tomu u sacharidů (glykogen) a lipidů (triacylglyceroly v tukové tkáni). Pokud je příjem aminokyselin nadbytečný, jsou degradovány až na konečné produkty, kterými jsou voda, oxid uhlíčitý a močovina. Jistá část aminokyselin, která není vázána ve struktuře proteinů, vytváří malou nezbytnou pohotovostní zásobu volných aminokyselin, tzv. aminokyselinový pool. Tyto volné aminokyseliny jsou využívány k biosyntéze řady významných látek (hormonů, neuromediátorů, aj.) a proteinů. Aminokyselinový pool je doplňován z proteinů stravy. V období hladovění, fyzické námahy či nemoci, rozpadem endogenních proteinů, zejména z kosterního svalstva [36,43,46].

#### **2.3.1.1 Metabolismus aminokyselin**

Téměř vždy je prvním krokem degradace aminokyselin odstranění aminoskupiny, která se buď odštěpí jako amoniak, nebo se účastní transaminace. Transaminace je reverzibilní reakce aminokyseliny s oxokyselinou, produktem je jiná aminokyselina a jiná oxokyselina. Transaminační reakce katalyzují aminotransferázy za přítomnosti koenzymu pyridoxalfosfátu. Hlavní transaminázová aktivita je lokalizována v játrech.

Pokud je amoniak z reakce uvolněn, jedná se o jinou reakci, oxidační deaminaci. Z aminokyseliny tak vzniká ketokyselina a amoniak, který je dále vylučován močí ve formě močoviny. Hlavním deaminačním enzymem je glutamátdehydrogenáza, která má klíčové

postavení v celém metabolismu aminokyselin. Aminoskupina většiny aminokyselin může být přenesena na  $\alpha$ -ketoglutarát za vzniku glutamátu, který je významným donorem aminoskupiny v jiných biosyntézách. Další cestou katabolizmu aminokyselin je dekarboxylace. Působením enzymu dekarboxylázy a současně i koenzymu pyridoxalfosfátu, dochází k odnětí oxidu uhličitého. Produktem jsou fyziologicky velmi významné látky, biogenní aminy. Biogenní aminy a látky z nich vzniklé působí na řadu fyziologických pochodů organismu. Např. z histidinu vzniká histamin, z tyrozinu adrenalin a dopamin, z tryptofanu melatonin, atd. [35,36,45,47].

Uhlíkové kostry aminokyselin vzniklé transaminací mohou být degradovány na sedm metabolických produktů, které jsou součástí citrátového cyklu. Citrátový cyklus (také Krebsův cyklus) je společná terminální metabolická dráha oxidace sacharidů, lipidů a proteinů. Glukóza, mastné kyseliny a většina aminokyselin je katabolizována na meziproducty citrátového cyklu nebo na acetyl-CoA. Reakcí acetyl-CoA a oxalacetátu vzniká citrát, který je během řady reakcí rozložen, uvolňují se redukováné kofaktory a oxid uhličitý. Sledem dalších reakcí je citrát regenerován zpět na oxalacetát. Redukované kofaktory vstupují do dýchacího řetězce, v němž poskytují ATP. Cyklus se odehrává v mitochondriích a je hlavní cestou tvorby ATP. Citrátový cyklus se také podílí na glukoneogenezi, transaminaci, deaminaci a syntéze mastných kyselin [47,48,49].

Metabolické produkty vzniklé metabolismem aminokyselin, vstupující do citrátového cyklu jsou: pyruvát, acetyl-CoA, acetoacetát,  $\alpha$ -ketoglutarát, sukcinyl CoA, fumarát a oxalacetát [50,51,52]. Podle toho, který produkt aminokyseliny svou degradací poskytují, jsou děleny na glukogenní, ketogenní a smíšené. Glukogenní aminokyseliny se odbourávají na pyruvát,  $\alpha$ -ketoglutarát, sukcinyl CoA, fumarát a oxalacetát. Jsou prekurzory pro glukoneogenezi. Ketogenní kyseliny jsou metabolizovány na acetyl-CoA a acetoacetát a jsou prekurzorem pro syntézu mastných kyselin a ketolátek. Smíšené aminokyseliny se mohou odbourávat oběma mechanismy.

#### Glukogenní aminokyseliny

Glycin, alanin, valin, kyselina glutamová, glutamin, kyselina asparagová, asparagin, serin, cystein, metionin, prolin, arginin a histidin

#### Ketogenní aminokyseliny

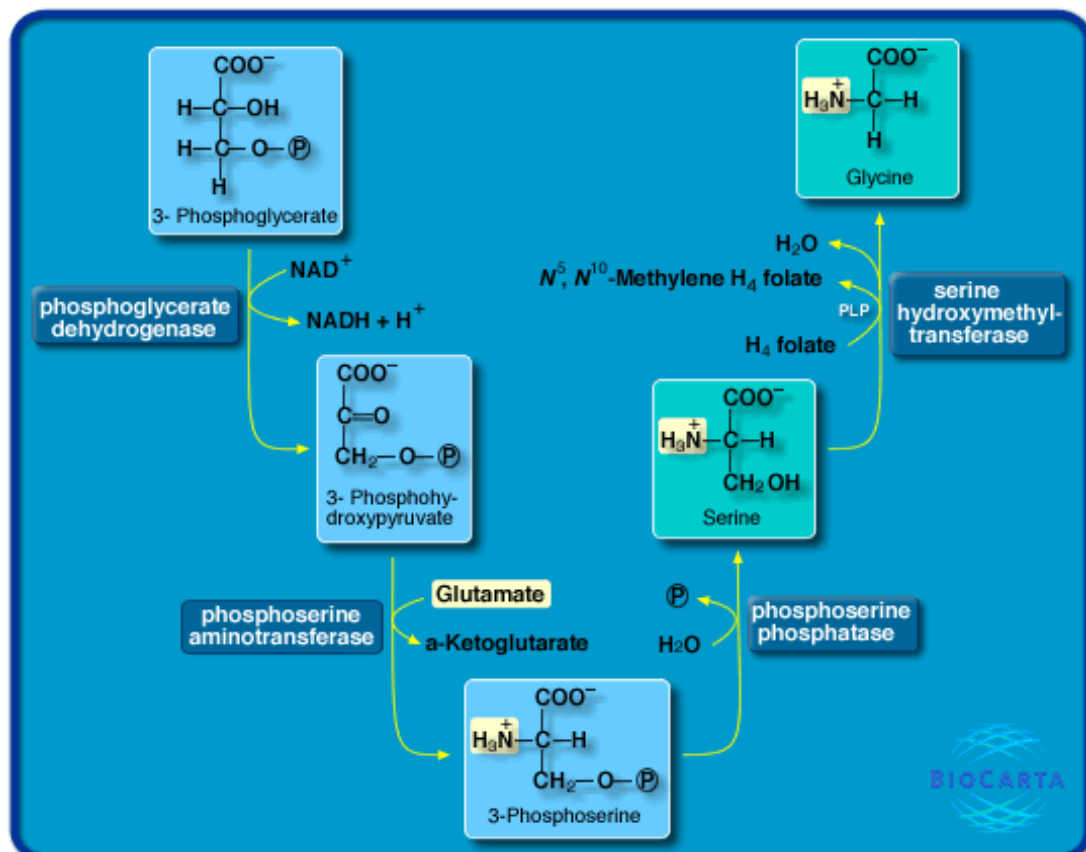
Leucin

Smíšené aminokyseliny

Lyzin, izoleucin, tryptofan, fenylalanin, treonin a tyrozin [42,43,50,52].

**2.3.1.2 Alifatické monokarboxylové aminokyseliny****Glycin**

Glycin (aminoctová kyselina) nejjednodušší aminokyselina, je jediná, která není chirální. Jedná se o neesenciální glukogenní aminokyselinu, vyskytující se zejména v glykoproteinu kolagenu společně s prolinem, lyzinem a jejich hydroxyderiváty. Mezi látky bohaté na glycin patří také laminy (proteiny přítomné v pojivu a buněčných jádrech) a keratin [35,36,44].



Obr. 9 Biosyntéza glycinu [53]

V lidském organismu je prekurzorem pro syntézu glycinu meziproduct glykolýzy 3-fosfoglycerát, který je přeměněn na 3-fosfoserin. Po odštěpení fosfátového zbytku vzniká aminokyselina serin, z něho vzniká glycin. Kofaktorem této reakce je tetrahydrofolát, na který se přesune β – uhlíkový atom postranního řetězce serinu, tato reakce je zcela reverzi-

bilní. Glycin také vzniká zpětně transaminací glyoxalátu, produktu metabolismu glycinu a serinu (donorem  $-NH_2$  skupiny je zpravidla glutamát) [49,51].

### **Fyziologický význam**

Glycin působí jako inhibiční neuromediátor (tlumí přenos nervového vzruchu) v centrální nervové soustavě. Navázáním na některé sloučeniny zvyšuje jejich rozpustnost ve vodě a usnadňuje tak jejich vylučování z organismu. Konjugace s glycinem je součástí mnoha detoxikačních mechanismů (vylučování xenobiotik). Vazba žlučových kyselin s glycinem umožňuje jejich transport přes biologické membrány a tím umožňuje jejich vylučování z organismu. Glycin je také látkou nezbytnou k syntéze proteinů, purinů, hemu a kreatinu [34,36,47,50].

Hlavní cestou katabolizmu glycinu je jeho štěpení glycinsyntázovým komplexem v mitochondriích jaterních buněk. Reakce se účastní THF (tetrahydrofolát, kyselina listová) a vzniká amoniak a oxid uhličitý, reakce je reverzibilní [50,51].

Další možnou cestou metabolismu glycinu je jeho konverze na serin. Tato reakce probíhá za účasti hydroxymetyltransferázy. Glycin může být také katabolizován transaminací či deaminací na glyoxalát, který je přeměněn na oxid uhličitý a formyl- $H_4$ folát, nebo na oxalát, ten je dále vyloučen močí. Oxalát je významným koncovým produktem degradace glycinu, není dále metabolizován a je vylučován močí. U vrozené poruchy metabolismu glyoxalátu dochází ke zvýšené exkreci oxalátu, vznikají močové kameny, které mohou vést až k selhání ledvin [36,38,51].

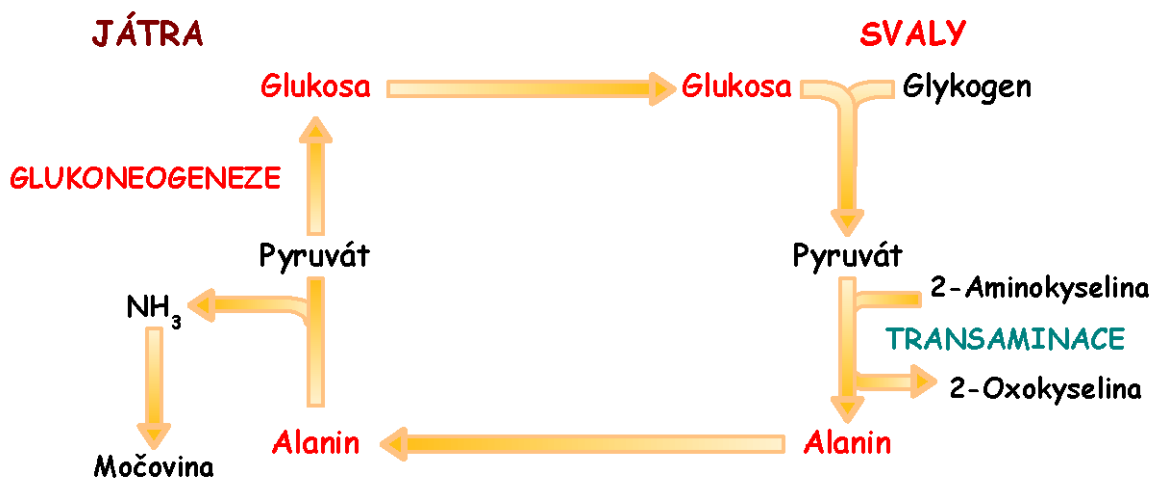
### **Alanin**

Alanin (2 – aminopropanová kyselina) je neesenciální glukogenní aminokyselina, běžně se vyskytuje v bílkovinách stravy. Bohatě je zastoupen v kukuřičné bílkovině zeinu a v želatině. Alanin je v lidském těle syntetizován z pyruvátu transaminační reakcí, s pyridoxalfosfátem jako kofaktorem, zdrojem aminoskupiny je zde kyselina glutamová. Pyruvát je jeden z nejvýznamnějších metabolitů, vzniká v závěrečné fázi glykolýzy [35,40].

### **Fyziologický význam**

Alanin se vyskytuje v poměrně vysokých koncentracích v tělních tekutinách a tkáních. Je významným článkem metabolismu cukrů a aminokyselin, v tzv. glukózo-alaninovém cyk-

lu. V tomto cyklu lze alanin považovat za transportní formu dusíku uvolňovanou ze svalů do jater. V játrech je alanin substrátem pro glukoneogenezi, poskytuje zde transaminaci v reakci s 2-oxoglutarátem pyruvát a glutamát, z něhož je dusík přejímán k tvorbě močoviny. Pyruvát je dále využit jako energetický substrát pro syntézu glukóza-6-fosfátu, ten je buď utlizován pro glykoneogenezi nebo je přeměněn na glukózu, která se dostává krví do svalu. Ve svaly procesem glykolýzy vzniká pyruvát, který je pomocí ALT (alaninaminotransferáza) snadno transaminován zpět na alanin.



Obr. 10 Glukózo-alaninový cyklus [54].

V období metabolického stresu je alanin významným substrátem pro glukoneogenezi v játrech, má tedy roli při udržování glykémie u zátěžových stavů, jako je malnutrice, šok či stres [36,48,49].

Degradace alaninu probíhá přes pyruvát, který je dále oxidační dekarboxylací přeměněn na acetylkoenzym A, který vstupuje do citrátového cyklu [35].

### 2.3.1.3 Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem

Valin, leucin a izoleucin jsou aminokyseliny s rozvětveným alifatickým řetězcem. Pro živočichy, kteří nedokáží syntetizovat jejich rozvětvený uhlíkatý řetězec, jsou esenciální. Jsou běžnou součástí bílkovin mléka, vejce, masa a obilovin. Příznaky deficitu ve výživě se nevyskytují. V metabolismu mají výjimečné postavení, na rozdíl od ostatních aminokyselin, které jsou metabolizovány v játrech, jsou aminokyseliny s rozvětveným řetězcem zpracovávány zejména kosterním svalstvem, mozkem a ledvinami [36,43,48].



Valin (2-amino-3-metylbutanová kyselina) je hojně zastoupen v masě a obilninách, v největší míře se vyskytuje ve strukturních proteinech elastinech (až 16 %). Jedná se jak o glukogenní, tak o ketogenní aminokyselinu.

Leucin (2-amino-4-methylpentanová kyselina) je součástí běžných proteinů, volný leucin vzniká činností bakterií při zrání sýrů. Je to jediná čistě ketogenní aminokyselina [35,44].

Izoleucin (2-amino-3-methylpentanová kyselina) se vyskytuje zejména v mléčné a vaječné bílkovině (6 – 7 %). Patří mezi glukogenní i ketogenní aminokyseliny [40].

### **Fyziologický význam**

Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem jsou zdrojem dusíku při syntéze alaninu, kyseliny glutamové a glutaminu ve svalech a jsou významným regulátorem metabolismu bílkovin. Je pro ně charakteristické, že se na rozdíl od ostatních aminokyselin jen nepatrně zachycují v játrech. V játrech je nízká aktivita BCAA aminotransferázy (BCAA – branched-chain amino acid), která má klíčové postavení ve sledu reakcí katabolizmu větvených aminokyselin. Hlavním orgánem, který metabolizuje větvené aminokyseliny je kosterní svalstvo, myokard a mozek, zde je aktivita BCAA aminotransferázy vysoká. První reakcí degradace je reverzibilní transaminace katalyzovaná BCAA aminotransferázou, vznikají ketokyseliny. Druhou reakcí katabolizmu větvených aminokyselin je oxidační dekarboxylace, tato reakce je nevratná. Vzniklé deriváty koenzymu A jsou následně přeměněny na meziprodukty metabolismu sacharidů a lipidů [36].

V době lačnění se uvolňují aminokyseliny ze svalů a plic, většinu těchto uvolněných aminokyselin představují alanin a glutamin, vznikající z pyruvátu a kyseliny glutamové. Aminokyselina přenášená na prekurzory těchto aminokyselin pochází právě z aminokyselin s rozvětveným řetězcem. [38,43,51].

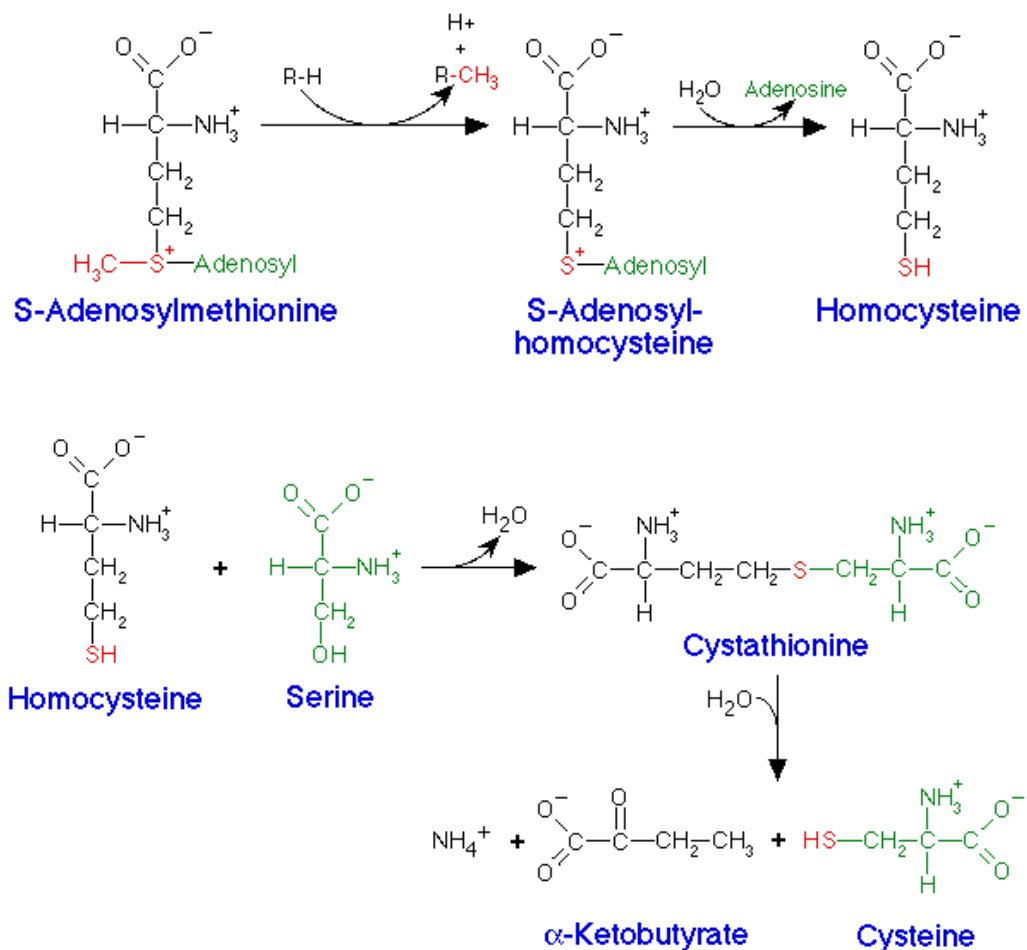
#### **2.3.1.4 Aminokyseliny obsahující síru**

Cystein a metionin jsou aminokyseliny obsahující ve své molekule síru a jsou hlavním zdrojem síry v potravě. Potravinovými zdroji sирných aminokyselin jsou vejce, maso, mléčné výrobky.

## Cystein

Cystein (2-amino-3-sulfanylpropanová kyselina) je neesenciální aminokyselina, kterou organismus získává z proteinů potravy nebo syntézou z homocysteinu vznikajícího z esenciální aminokyseliny metioninu. Cystein se společně s cystinem nachází v kreatinu. Obsahuje poměrně reaktivní –SH skupinu, která snadno podléhá dehydrogenaci. Ze dvou molekul cysteinu vzniká cystin, tato reakce je reverzibilní [35,44].

V játrech, ledvinách, tenkém střevě a pankreatu se vyskytují enzymy umožňující syntézu cysteinu z homocysteinu. Výchozí látkou reakce je tzv. aktivní metionin S-adenozylmetionin, který se odštěpením metylu mění na S-adenozylhomocystein. Hydrolytickým štěpením S-adenozylhomocysteinu vzniká homocystein a adenosin. Reakcí –SH skupiny homocysteinu a OH- skupiny serinu vzniká cystathionin, který se rozpadá. Atom síry zůstane na serinové kostře, čímž vzniká cystein. Uhlíková kostra pochází tedy ze serinu a síra z metioninu [36,44,38,51].



Obr. 11 Biosyntéza cysteinu [55].

### **Fyziologický význam**

Přeměna cysteinu na cystin konverzí dvou –SH skupin na vazbu S-S představuje významný oxidoredukční systém organismu. Reakcí s kyselinou glutamovou a glycinem vzniká glutathion, který je společně se svou oxidovanou formou významným antioxidantem a je součástí řady detoxikačních systémů. Cysteinové zbytky jsou základem pro tvorbu disulfidových můstků, které se podílí na tvorbě kompaktní proteinové struktury [35,36].

Oxidací cysteinu vznikne kyselina cysteová. Její dekarboxylací vzniká taurin, aminokyselina s řadou významných biologických funkcí. Taurin je ve vysokých koncentracích zastoupen v tělních tekutinách, zejména v srdečním a kosterním svalstvu či v centrální nervové soustavě, kde má funkci neurotransmiteru. Podílí se na vylučování žlučových kyselin a xenobiotik [38,43].

Kvantitativně nejvýznamnější je katabolismus cysteinu za vzniku pyruvátu a současného uvolnění hydrogensulfátového aniontu, který je dále částečně využit k syntéze sulfatačního činidla fosfoadenozylfosfosulfátu (PAPS) [38].

### **Metionin**

Jedná se o esenciální glukogenní aminokyselinu (kyselina 2-amino-4-metylsulfanylbutanová), která se obecně v potravinách vyskytuje poměrně málo. Metionin je limitující aminokyselinou v luštěninách [35,40].

### **Fyziologický význam**

Metionin slouží jako významný donor metylových skupin. Adenylací metioninu pomocí enzymu adenozylntransferázy vzniká forma schopná přenášet metylovou skupinu, nukleosid S-adenozylmetionin (SAME), neboli aktivní metionin. Syntéza SAME je energeticky náročná, probíhá za účasti ATP (adenozintrifosfát). SAME se podílí společně s lyzinem na syntéze karnitinu, dipeptidu významného pro regulaci energetického metabolismu. S-adenozylmetionin se odštěpením metylové skupiny konvertuje na S-adenozylhomocystein (SAHC), z něhož se adenozylová část molekuly hydrolyticky odštěpí a zůstává homocystein. Zvýšená koncentrace homocysteinu v krvi je považována za významný rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění, infarktu myokardu a mozkové mrtvice. Homocystein aktivuje hemokoagulaci a usnadňuje oxidaci LDL cholesterolu (li-

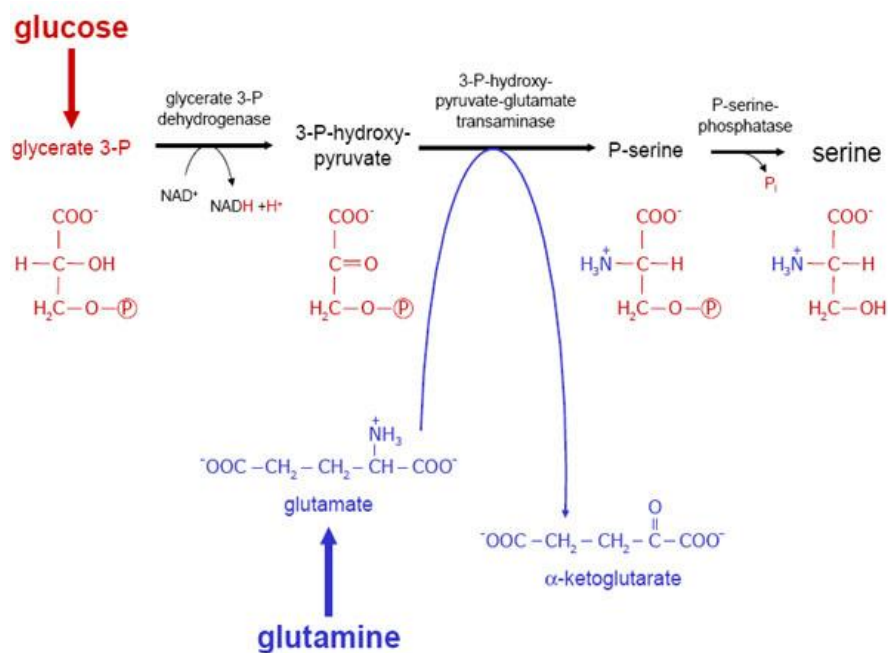
poproteiny o nízké hustotě). Odštěpená metylová skupina je využita v celé řadě fyziologicky významných reakcí, např. k syntéze adrenalinu z noradrenalinu, kreatinu z glykocyaninu, fosfatidylcholinu z fosfatidyletanolaminu. Homocystein může být remetylován na metionin, donorem metylové skupiny je zde tetrahydrofolát. Nebo se homocystein sloučí s aminokyselinou serinem na meziprodukt cystationin. Cystationin je rozkládán na homoserin a cystein [36,44,38,43,51].

Degradací metioninu vzniká v několika krocích sukcinyl-CoA vstupující do citrátového cyklu [51].

### 2.3.1.5 Aminokyseliny s alkoholovým hydroxylem v postranním řetězci

#### Serin

Serin (2-amino-3-hydroxypropanová kyselina) je glukogenní, neesenciální, hojně zastoupenou aminokyselinou většiny proteinů. Podle chemického charakteru postranního řetězce je serin řazen mezi polární aminokyseliny. V organismu je syntetizován z glycinu nebo z 3-fosfoglycerátu, produktu glykolýzy. Dehydrogenací 3-P-glycerátu vzniká 3-fosfohydroxypyruvát, který je následně transaminován na 3-fosfoserin, z něhož hydrolyzou vzniká serin. Zásadním producentem serinu v lidském organismu jsou ledviny [36,38,44].



Obr.12 Syntéza serinu [56]

### Fyziologický význam

Serin se podílí na regulaci funkcí proteinů, jeho polární funkční skupina snadno interaguje s řadou látek a zvyšuje rozpustnost bílkovin ve vodě. Na svůj hydroxylový zbytek váže esterově kyselinu fosforečnou a uplatňuje se při aktivaci a inaktivaci enzymů. Serin je složkou glykosidických vazeb glykoproteinů, esterových vazeb fosfoproteinů a fosfoacylglycerolů, které jsou součástí biologických membrán. Je součástí trávicího enzymu chymotrypsinu. Významná je úloha serinu jako substrátu při syntéze fosfolipidů, cysteinu a glycinu [36,57]. Serin je také prekurzorem v biosyntéze kreatinu, porfyrinů, hemů či purinů. Metabolismus serinu je spjat s tetrahydrofolátem, který je schopen přenášet jednouhlíkaté zbytky. Tetrahydrofolát hraje tedy zásadní roli v metabolismu serinu a glycinu, kdy buď odnímá, nebo připojuje skupinu  $-\text{CH}_2\text{OH}$  a umožňuje tak při této vratné reakci vzájemnou přeměnu serinu a glycinu za účasti hydroxymetyltransferázy. Serin je degradován na pyruvát, který vstupuje do citrátového cyklu [36,38,51].

### Treonin

Treonin (2-amino-3-hydroxybutanová kyselina) byl první aminokyselinou, u níž byla prokázána nepostradatelnost pro lidský organizmus. Jedná se, stejně jako u serinu, o polární aminokyselinu. Treonin je jak glukogenní, tak ketogenní aminokyselina. Značné množství treoninu nalzáme v mase a pivovarských kvasnicích, dostatečně je také zastoupen v mléčné a vaječné bílkovině. Poměrně vysoký obsah treoninu má pšeničná bílkovina. Biosyntéza treoninu probíhá v rostlinách a mikroorganizmech, kde treonin vzniká fosforylací homoserinu, prekurzorem je kyselina asparagová [35,40,52].

### Fyziologický význam

Treonin je schopen reverzibilně vázat zbytek kyseliny fosforečné na svůj hydroxylový zbytek a stejně jako serin reguluje aktivitu enzymů prostřednictvím fosforylace a defosforylace. Polární funkční skupina snadno vytváří polární interakce, zejména vodíkové vazby. Treonin zvyšuje rozpustnost bílkovin ve vodě [35,57]. Je prekurzorem pro syntézu proteinů, glycinu a serinu. Treonin je odbouráván pomocí treoninaldolázy na glycin a acetaldehyd. Nestálý acetaldehyd se vlivem dehydrogenázy převádí na acetyl-CoA, který vstupuje do citrátového cyklu. Acetyl-CoA však může být přeměněn na acetoacetát, treonin je tedy i

ketogenní aminokyselinou. Jinou cestou degradace treoninu je vznik pyruvátu vstupujícího do citrátového cyklu [35,36].

### **2.3.1.6 Alifatické diaminokarboxylové aminokyseliny**

#### **Lyzin**

Lyzin (2,6-diaminohexanová kyselina) je esenciální aminokyselina, která má v postranním řetězci druhou aminoskupinu, je tedy bazickou aminokyselinou. Vysoký obsah lyzinu je v proteinech ryb a mořských korýšů, v proteinech masa, mléka, vajec. V obilninách je zastoupen minimálně a je zde limitující aminokyselinou. Jedná se jak o glukogenní, tak o ketogenní aminokyselinu [40,44].

#### **Fyziologický význam**

Přítomnost elektrického náboje a dvou aminoskupin umožňuje množství interakcí nejen s peptidy a proteiny. Postranní řetězce lyzinu jsou mimořádně důležité pro tvorbu kovalentních vazeb v kolagenu a elastinu. Katabolismus lyzinu je poněkud neobvyklý, žádný dusík lyzinu se neúčastní transaminace [49,58]. V játrech, ledvinách či srdečním svalu lyzin reaguje s 2-oxoglutarátem za vzniku sachatropinu, který se dále rozpadá na kyselinu glutamovou a allyzin. Oxidací z allyzinu vzniká 2-aminoadipát, který je během několika dekarboxylačních a dehydrogenačních reakcí metabolizován na acetyl – CoA a acetoacetát [35,38,51,57].

Lyzin je výchozí látkou pro biosyntézu karnitinu. Lyzin je metylován aktivním metioninem a během několika dalších reakcí vzniká výsledná látka karnitin. K syntéze karnitinu je nutná přítomnost vitamínu C a  $Fe^{2+}$ , syntéza probíhá v játrech a ledvinách. Karnitin hraje zásadní roli v metabolismu organismu. Zprostředkovává transport mastných kyselin s dlouhým řetězcem do mitochondrií, kde podléhají  $\beta$ -oxidaci mastných kyselin. Bez karnitinu a příslušného enzymu by mastné kyseliny s dlouhým řetězcem do mitochondrií nepronikly a nemohly by být dále metabolizovány [49,59].

#### **Arginin**

Arginin (2-amino-5-guanidinopentanová kyselina) ve svém postranním řetězci obsahuje zbytek iminomočoviny, guanidinovou skupinu. Arginin je nejbazičtější aminokyselinou. Je podmíněně esenciální v období fetálního vývoje a v období růstu. Zdrojem argininu jsou arašídý a jiné olejniny, obzvláště vysoký obsah argininu má rybí mlíčí [36,38,40]. V těle

dospělého člověka se tvoří v dostatečném množství v rámci močovinového cyklu, prekurzorem je ornitin. Celkem má molekula argininu čtyři atomy dusíku, jedná se tedy o významný zdroj dusíku a také o jeho transportní formu. Arginin se metabolizuje přes glutamát na 2-oxoglutarát, je tedy glukogenní aminokyselinou [38].

### **Fyziologický význam**

Arginin je prekurzorem pro biosyntézu řady významných látek. Například významný vazodilatans (látka způsobující rozšíření cév, zlepšuje prokrvení) oxid dusnatý vzniká z guanidinové skupiny argininu reakcí s O<sub>2</sub>. Vedlejším produktem je citrullin. Tuto reakci umožňuje skupina enzymů označovaná jako NO-syntáza. Velmi významný je arginin jako výchozí látka pro syntézu kreatinu, resp. fosfokreatinu, významného energetického zdroje svalové tkáně. V ledvinách je z argininu enzymem transaminidázou odštěpena guanidinová skupina, která se napojí na glycin za vzniku guanidinacetátu. Ten je v játrech metylován metylem z S-adenozylmetioninu, reakce se účastní ATP a vzniká makroergní sloučenina kreatinfosfát sloužící jako zdroj energie pro svalovou kontrakci [36,38,43,48].

Arginin také funguje jako významný regulátor sekrece hormonů (prolaktinu, růstového hormonu, inzulínu či luteinizačního hormonu), příznivě působí na imunitní systém a reparaci poškozených tkání [38,57].

#### ***2.3.1.7 Alifatické dikarboxylové aminokyseliny a jejich amidy***

##### **Kyselina asparagová a asparagin**

Kyselina asparagová (2-aminobutandiová kyselina) a její amid asparagin (4-amid asparagové kyseliny) jsou neesenciální glukoplastické aminokyseliny, které organismus získává zejména z rostlinných proteinů (kukuřice, pšenice), rozpadem endogenních bílkovin a biosyntézou, transaminací z oxalacetátu a glutamátu, kofaktorem je pyridoxalfosfát [35,36,40]. Kyselina asparagová patří mezi kyselé aminokyseliny, za fyziologických hodnot pH obsahuje disociovaný karboxyl, může tak vázat kationty, čímž se podílí na formování prostorového uspořádání bílkovin. Asparagin patří mezi neutrální aminokyseliny, vzniká z glutaminu (zdroj aminoskupiny) a kyseliny asparagové za účasti ATP a asparagin-syntetázy [51,52].

### **Fyziologický význam**

Kyselina asparagová je nezbytná pro biosyntézu purinů a pyrimidinů, důležitá je její účast při syntéze močoviny. Syntéza močoviny probíhá v jaterních buňkách a kyselina asparagová je zde donorem jednoho dusíku v molekule močoviny, druhý dusík pochází z amoniaku. Kyselina asparagová vstupuje do močovinného cyklu reakcí s citrulinem, produktem této reakce je argininosukcinát, který se brzy rozpadá na arginin a fumarát vstupující do citrátového cyklu. Arginin podléhá hydrolýze, produktem reakce je močovina a ornithin [48,51].

Kondenzací kyseliny asparagové s amoniakem vzniká amid asparagin, který snadno vytváří vodíkové vazby a zvyšuje tak rozpustnost bílkovin ve vodě. Asparagin se účastní mnoha důležitých reakcí jako donor aminoskupiny. Kyselina asparagová i asparagin hrají významnou roli v metabolismu aminokyselin [35,38,44,52].

### **Kyselina glutamová a glutamin**

Kyselina glutamová (2-aminopentandiová kyselina) je silně kyselá, neesenciální glukoplastická aminokyselina, kterou organismus získává příjmem potravou, rozpadem endogenních bílkovin a redukční aminací  $\alpha$ -ketoglutarátu či katabolizmem jiných aminokyselin (arginin, prolin, histidin). Reakcí kyseliny glutamové s  $\text{NH}_3$  v přítomnosti ATP a enzymu glutaminsyntetázy vzniká glutamin (5-amid kyseliny glutamové). Glutamin je nejčastější aminokyselinou v plazmě i ve tkáních lidského těla. Obě aminokyseliny jsou hojně zastoupeny například v obilovinách, luštěninách a v bílkovinách mléka [36,38,40,43].

### **Fyziologický význam**

Kyselina glutamová díky svému zápornému náboji ovlivňuje prostorovou strukturu bílkovin. Je významným pojítkem mezi metabolismem aminokyselin a citrátovým cyklem. V játrech umožňuje vstup aminoskupiny do močovinného cyklu. Podílí se také na regulaci nervového systému, je hlavním excitačním neurotransmiterem (látka uvolňovaná z nervového zakončení na synapsi, sloužící k přenosu impulsu přes synaptickou štěrbinu) v mozku. Je prekurzorem pro biosyntézu glutaminu, glutathionu, prolinu a jiných látek. Sodná sůl kyseliny glutamové, glutamát sodný, je pro své unikátní chuťové vlastnosti často přidáván do instantních pokrmů, bujonů, masoxů, sojových omáček apod. [34,38,50].

Kyselina glutamová je metabolizována v mitochondriích oxidační deaminací za přítomnosti glutamátdehydrogenázy, uvolní se amoniak a vzniká 2-oxoglutarát vstupující do citrátového



vého cyklu. Dekarboxylací v centrální nervové soustavě za účasti glutamátdekarboxylázy vzniká neuromediátor GABA ( $\gamma$ -aminomáselná kyselina).

Glutamin je velmi významným donorem  $-\text{NH}_2$  skupiny pro biosyntézu řady důležitých látek, například purinů a pyrimidinů. Je také jedním z faktorů udržujících acidobazickou rovnováhu v těle, je netoxickou formou amoniaku, který se po transportu do ledvin stává zdrojem  $\text{NH}_4^+$  - iontů moče. Glutamin je syntetizován z amoniaku a z kyseliny glutamové v játrech, kosterním svalu a v menší míře i v jiných tkáních. Glutamin je degradován glutaminázou na kyselinu glutamovou a ta je oxidační deaminací za přítomnosti glutamátdehydrogenázy přeměněna na amoniak a  $\alpha$  - ketoglutarát [38,48,50].

### 2.3.1.8 *Aromatické aminokyseliny*

#### **Fenylalanin**

Fenylalanin (2-amino-3-fenylpropanová kyselina) je esenciální aminokyselina, jelikož živočichové nejsou schopni syntetizovat aromatické jádro. Fenylalanin je většinou obsažen v dostatečném množství v běžných bílkovinách potravin. Jedná se o aminokyselinu jak glukogenní, tak ketogenní [35,40].

#### **Fyziologický význam**

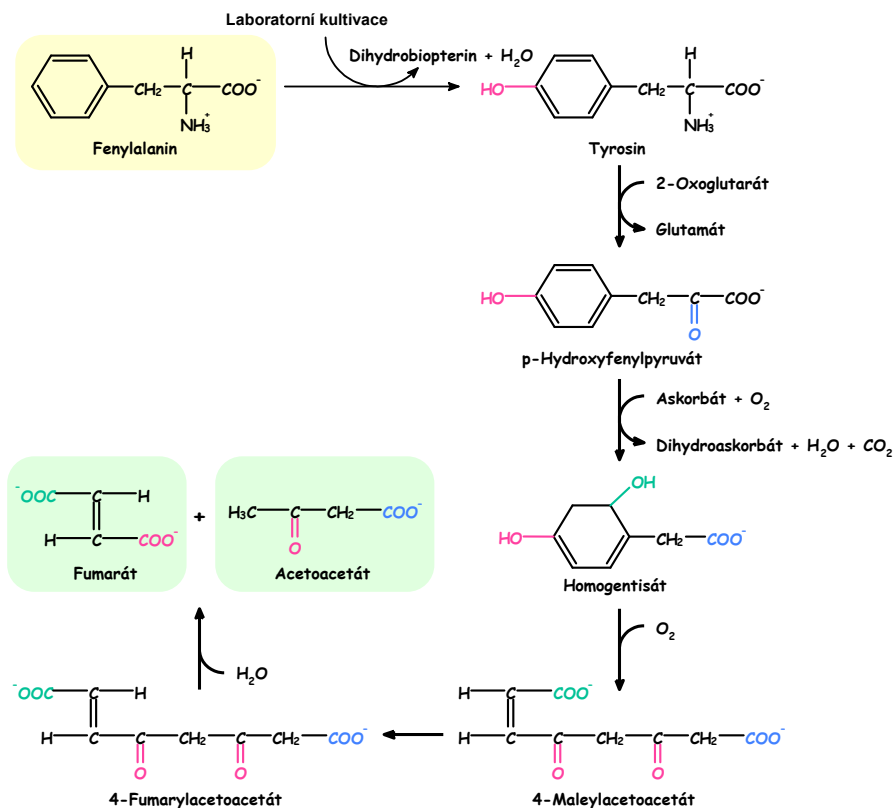
Z fenylalaninu vzniká nevratnou hydroxylací aminokyselina tyrozin, reakce se účastní fenylalaninhydroxyláza, která je přítomna převážně v ledvinách. Fenylalanin je tedy prekurzorem pro tyrozin, který je dále přeměňován na řadu biologicky významných látek. Fenylalanin je buď metabolizován dále na tyrozin nebo vzniká odštěpením amoniaku fenylpyruvát. Aby mohl být fenylalanin přeměněn na tyrozin je nutná přítomnost enzymu fenylalaninhydroxylázy. Pokud je však tento enzym nedostatečně aktivní nebo chybí zcela, jedná se o fenylketonurii, vrozené onemocnění. Důsledkem tohoto onemocnění je hromadění fenylalaninu v krvi a jeho následná metabolizace na fenylpyruvát, který je vylučován močí. Nadbytek fenylpyruvátu působí negativně na vývoj mozku a způsobuje mentální retardaci. Fenylketonurie je neléčitelná choroba, jejím důsledkům však lze zabránit dodržováním diety bez fenylalaninu. V současnosti se provádí u každého novorozence screeningový test na přítomnost fenylpyruvátu v moči [36,38,48,51].

## Tyrozín

Tyrozín (2-amino-3-(4-hydroxyfenyl) propanová kyselina) je neesenciální aminokyselina, vzniká hydroxylací fenylalaninu. Je to aminokyselina současně glukogenní i ketogenní. Tyrozín se většinou vyskytuje v potravinách současně s fenylalaninem [38,40].

## Fyziologický význam

Tyrozín je prekurzorem řady významných látek např. hormonů štítné žlázy, katecholaminů (dopaminu, noradrenalinu a adrenalinu) a melaninu (pigment vlasů a kůže). Z tyrozínu vzniká za účasti tyrozinhydroxylázy L-DOPA (L-hydroxyfenylalanin), který je dále přeměněn buď na konečný produkt melanin nebo je za přítomnosti DOPA-dekarboxylázy konvertován na dopamin (neurotransmitter). Dopamin může být dále přeměněn na noradrenalin za účasti dopamin- $\beta$ -hydroxylázy. Noradrenalin je neurotransmitter mozku a sympatického nervového systému (aktivován ve stresových situacích), vyvolává celkové zúžení cév a reguluje metabolismus organismu v zátěžových situacích. Noradrenalin může být pomocí fenyletanolamin-N-metyltransferázy metabolizován na konečný produkt adrenalin, hormon ze skupiny katecholaminů, zvyšující krevní tlak a posilující srdeční činnost [34,38,51].



Obr. 13 Metabolizmus fenylalaninu a tyrozinu[52].

Většina molekul tyrozinu je však katabolizována transaminací na p-hydroxyfenylpyruvát, tato 2-oxokyselina následně podléhá účinku p-hydroxyfenylpyruváthydroxylázy a vzniká kyselina homogentisová. Působením dioxygenázy vstupuje do reakce kyslík, který rozštěpí aromatický kruh. Následuje ještě několik dalších reakcí a výsledným produktem jsou fumarát (vstupující do citrátového cyklu) a acetoacetát (ketolátka) [49,51].

### 2.3.1.9 Heterocyklické aminokyseliny

#### **Tryptofan**

Tryptofan (2-amino-3-(3-indolyl)propanová kyselina) je esenciální aminokyselina, která ve své molekule obsahuje kondenzovaný heterocyklus indol. Jedná se o kyselinu jak glukogenní, tak ketogenní. Hlavním zdrojem tryptofanu jsou živočišné bílkoviny [43].

#### **Fyziologický význam**

Tryptofan je nezbytný pro biosyntézu řady významných látek, jako je např. neuromediátor serotonin, hormon epifýzy melatonin a nikotinamid. Kvantitativně nejvýznamnější využití tryptofanu je proteosyntéza a oxidativní štěpení indolového jádra, tzv. kynurein-anthranilátovou cestou. Prvním krokem je rozštěpení pětičlenného kruhu enzymem tryptofandioxygenázou a vzniká N-formylkurenin, následně vzniká 3-hydroxykurenin, z něhož se odštěpí alaninový postranní řetězec. Alanin je dále metabolizován na pyruvát vstupující do citrátového cyklu. Druhou, kvantitativně významnější, cestou metabolismu 3-hydroxykureninu je přeměna na semialdehyd 2-amino-3-karboxymukonát. Menší část tohoto semialdehydu je využita k biosyntéze kyseliny nikotinové a následně nikotinamidu. Větší část 2-amino-3-karboxymukonátu je degradována přes 2-oxoadipát na acetyl-CoA, ketogenní látku [36,38,60].

Velmi významná je hydroxylace tryptofanu pomocí tryptofan-5-monooxygenázy, vzniká meziproduct 5-hydroxytryptofan. Jeho dekarboxylací se vytvoří serotonin. Serotonin je neurotransmitter, který ovlivňuje psychiku člověka. Serotonin je degradován na 5-hydroxyindolacetát a je vyloučen močí, druhou možností je jeho přeměna na melatonin. Melatonin vzniká ze serotoninu v epifýze a reguluje činnost mozku, působí ospalost a ovlivňuje činnost imunitního systému. V nepatrném rozsahu vzniká dekarboxylací tryptofanu tryptamin, stimulant centrální nervové soustavy a hladkého svalstva. [34,51].

Pro fyziologický průběh hlavní metabolické dráhy tryptofanu je nutná přítomnost vitamínu B<sub>6</sub>. Pokud tento vitamin chybí, vzniká xanthureát, který je vylučován močí. Pokud není tryptofan v potravě dostatečně zastoupen, objevují se depresivní stavy a nespavost, což je následek poklesu tvorby serotoninu. Naopak nadbytek tryptofanu v potravě způsobuje dobrou náladu, pokles práhu bolesti a nechutenství [34,36,38].

### **Histidin**

Histidin (2-amino-3-(4-imidazolyl) propanová kyselina) je podmíněně esenciální, glukogenní aminokyselina obsahující v molekule imidazolový heterocyklus. O nepostradatelnosti histidinu v dětském věku není pochyb, v dospělosti je histidin považován za neesenciální aminokyselinu. Zdrojem histidinu jsou zejména proteiny některých ryb (makrela, tuňák) [36,40].

### **Fyziologický význam**

Histidin se nachází v hemoglobinu, v tělních tkáních a tekutinách. Při konzumaci stravy prosté histidinu je uvolňován ze zásob organismu a také je syntetizován střevními bakteriemi, proto není proteinová bilance ovlivněna po řadu týdnů. Byl však prokázán i pokles koncentrace hemoglobinu u bezhistidinové diety. Histidin je častou součástí aktivních center enzymů [36].

Kvantitativně nejvýznamnější cestou katabolizmu této aminokyseliny je degradace přes kyselinu urokanovou, která se nachází v kůži, kde absorbuje UV záření. Histidin nejprve podlehne účinku histidinamoniaklyázy a za odštěpení amoniaku vzniká urokanát, ten je hydratován a vzniká 4-imidazol-5-propionát. Nyní se štěpí imidazolový cyklus, vzniká N-formiminoglutamát, jehož formiminová skupina je přenesena na kyselinu tetrahydroli-  
stovou a vzniká kyselina glutamová. Kyselina glutamová je oxidační deaminací přeměněna na  $\alpha$ -ketoglutarát vstupující do citátového cyklu. Při deficitu kyseliny listové kyselina glutamová nevzniká a formiminoglutamát je vylučován močí [38,49,51].

Menší část molekul histidinu je dekarboxylací přeměněna na biogenní amin histamin, který sehrává důležitou roli při alergických reakcích, má vazodilatační účinky a stimuluje tvorbu žaludeční šťávy.

Část molekul histidinu přítomného v aktinu a myozinu je metylována na 3-methylhistidin, který se při rozpadu svalových snopců uvolňuje a je vylučován močí. Exkrece 3-methylhistidinu je měřítkem intenzity proteolýzy.

Chybí-li v játrech enzym histidinamoniaklyáza, vzrůstá obsah histidinu v krvi a je vylučován močí. Jedná se o dědičné onemocnění způsobující mentální retardaci [36,38,48].

### **Prolin**

Prolin (pyrolidin-2-karboxylová kyselina) je neesenciální glukoplastická aminokyselina, má na  $\alpha$ -uhlíku sekundární aminoskupinu  $-\text{NH}-$ , která je součástí pyrrolidinového kruhu. Prolin se vyskytuje ve většině bílkovin, ve větší míře je obsažen zejména v proteinech pšenice, kaseinu a v želatině. Zdrojem prolinu je kromě endogenních a exogenních bílkovin jeho syntéza z glutamátu, histidinu a argininu [35,40].

### **Fyziologický význam**

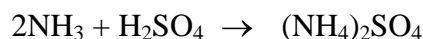
Prolin se ve vysoké koncentraci nachází v kolagenu, kde je zhruba polovina jeho množství posttranslačně hydroxylována na hydroxyprolin, který molekulu kolagenu stabilizuje. K hydroxylaci prolinu je nutná přítomnost askorbátu a  $\text{Fe}^{2+}$ . Při odbourávání prolinu se adicí molekuly vody rozštěpí pyrrolidinový kruh, vzniká glutamát-5-semialdehyd a následnou oxidací vzniká glutamát. Z glutamátu transaminací vznikne 2-oxoglutarát vstupující do citrátového cyklu. Cesta degradace prolinu je reverzibilní a zpětně poskytuje opět prolin [47,49,51].

### 3 METODY STANOVENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK

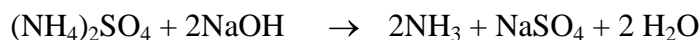
Ke stanovení dusíkatých látek v potravinách se nejčastěji používají metody založené na stanovení množství přítomného dusíku podle Kjeldahla. Před samotným stanovením obsahu dusíkatých látek je nutné provést úpravu vzorku mineralizací.

#### 3.1 Metoda stanovení obsahu dusíkatých látek podle Kjeldahla

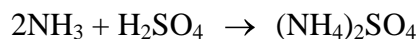
První fází stanovení dusíkatých látek je mineralizace vzorku působením koncentrované kyseliny sírové. Rozklad je urychlován přidávkem vhodného katalyzátoru (např. Se + CuSO<sub>4</sub>, TiO<sub>2</sub> + CuSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub>, aj.). Takto je dusík, který byl v bílkovinách nebo aminokyselinách ve formě aminoskupiny nebo iminoskupiny, převeden na síran amonný:



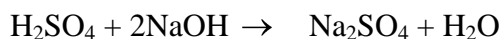
Ze síranu amonného je amoniak následně uvolněn koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného a destiluje se vodní parou v Parnas-Wagnerově destilačním přístroji:



Vydestilovaný amoniak kondenzuje s vodní parou a je jímán do předlohy se známým nadbytečným množstvím odměrného roztoku kyseliny sírové:



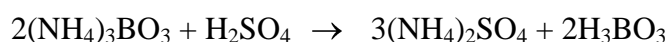
Nespotřebované množství kyseliny sírové se titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného na indikátor Tashiro nebo metylčerveň.



Z množství spotřebované kyseliny sírové se vypočítá obsah dusíku, přičemž 1 ml 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> odpovídá 1,4 mg dusíku. Obsah dusíkatých látek je vypočten z obsahu dusíku použitím korekčního faktoru (6,25). Tato hodnota vychází z faktu, že bílkoviny obsahují asi 16 % dusíku, 100/16= 6,25. Jelikož se obsah dusíku v bílkovinách rozdílného původu liší, byly pro některé potraviny navrženy další faktory: obiloviny, mouka, chléb a těstoviny - 5,70; mléko a mléčné výrobky - 6,38; ořechy - 5,30 a kolagen - 5,68 [45,61].

### 3.2 Metoda stanovení obsahu dusíkatých látek metodou podle Winklera

Mineralizace vzorku je provedena podle Kjeldahla. Amoniak uvolněný ze síranu amonného koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného je předestilován vodní parou v destilačním přístroji podle Markhama do roztoku kyseliny borité. Vzniklý boritan amonný je stanoven titračně odměrným roztokem kyseliny sírové nebo chlorovodíkové na indikátor metylčerveně:



Z množství spotřebované kyseliny je vypočítán obsah dusíku, přičemž 1ml 0,01 M HCl odpovídá 0,14 mg dusíku. Pro stanovení obsahu dusíkatých látek je výsledek přepočítán na navážku a vynásoben přepočítávacím faktorem.

Pro stanovení dusíkatých látek se používají i další metody, např. difúzní metoda dle Conwaye, spektrofotometrické stanovení dusíkatých látek po reakci s Nesslerovým činidlem, titrační stanovení bez destilace podle Hanuše aj. [45,61,62].

## 4 STANOVENÍ AMINOKYSELIN

Aminokyseliny jsou substituované karboxylové kyseliny, v jejichž molekule je přítomna alespoň jedna primární aminoskupina  $-NH_2$  a současně alespoň jedna karboxylová skupina  $-COOH$ . Kondenzační reakcí mezi těmito dvěma skupinami vznikají peptidové vazby, díky nimž mohou vzniknout peptidy a proteiny. K určení aminokyselinového složení bílkovin je nutné zajistit převedení aminokyselin vázaných v bílkovinách do formy volných aminokyselin a to beze ztrát těchto aminokyselin. Je tedy nutné provést úplnou hydrolyzu bílkovin. Právě příprava hydrolyzátu je nejvíce kritickou a problematickou částí v rámci celé analýzy. Dalším zásadním krokem je metoda dělení a stanovení aminokyselin, která musí být dostatečně přesná a správná, rychlá a experimentálně nenáročná. [62,63,64].

### 4.1 Hydrolyza bílkovin

Stanovení jednotlivých aminokyselin vždy předchází hydrolyza. Aminokyseliny se z peptidového řetězce uvolňují buď kyselou, alkalickou nebo enzymatickou hydrolyzou, ta se však téměř nepoužívá. Podmínky hydrolyzy mohou velmi významně ovlivnit přesnost analýzy obsahu aminokyselin. Průběh hydrolyzy ovlivňuje koncentrace a čistota kyseliny, doba hydrolyzy, přítomnost nebílkovinných složek v roztoku, teplota, kinetika hydrolytické reakce, destrukce aminokyselin, apod..

Při kyselé hydrolyze se vzorek hydrolyzuje za varu přebytkem kyseliny chlorovodíkové ( $6 \text{ mol.l}^{-1}$ ). Hydrolyza probíhá 12 až 70 hodin při teplotě  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  v inertní atmosféře. Během kyselé hydrolyzy nedochází k racemizaci a L-konfigurace aminokyselin zůstává zachována. Dochází však k rozkladu tryptofanu a sirných aminokyselin. Asparagin hydrolyzuje na kyselinu asparagovou za uvolnění amoniaku ve formě amonné soli, stejně tak hydrolyzuje glutamin na kyselinu glutamovou. Rychlost rozkladu peptidických vazeb se liší podle struktury a druhu jednotlivých aminokyselin. Například valin, leucin a izoleucin jsou z peptidové vazby uvolňovány mnohem pomaleji než ostatní aminokyseliny. Aminokyseliny uvolněné z peptidických vazeb mohou dále podléhat různým rozkladným reakcím. Aminokyseliny treonin a serin jsou značně destruovány. Cystein a metionin mohou podléhat oxidačně redukčním změnám nebo destrukci. Kompletně rozložen je tryptofan [63,64,65,66].



Sírné aminokyseliny (cystein a metionin) během hydrolyzy v prostředí kyseliny chlorovodíkové podléhají oxidaci. Proto se provádí oxidativní hydrolyza. Nestabilita sirných aminokyselin je vyřešena jejich oxidací směsí kyselinou mravenčí a kyselinou bromovodíkovou. Cystein je oxidován na cystin a kyselinu cysteovou a metionin na metioninsulfon, které jsou stabilní a během hydrolyzy nepodléhají změnám. Oxidační změny sirných aminokyselin a tyrozinu mohou být také podmíněny přítomností rozpuštěného vzduchu v kyselině chlorovodíkové.

Kyselá hydrolyza může probíhat v uzavřených ampulích s vakuem, zatavených ampulích s dusíkovou atmosférou nebo pod zpětným chladičem.

Alkalická hydrolyza je vhodná pro stanovení aminokyselin nestálých v podmínkách kyselé hydrolyzy (tryptofan). Ve srovnání s kyselou hydrolyzou má menší uplatnění. Pro alkalickou hydrolyzu se používají nejčastěji NaOH, KOH, LiOH nebo Ba(OH)<sub>2</sub> [45,61,64,65].

## 4.2 Analýza aminokyselin

K dělení aminokyselin po jejich uvolnění z bílkovin hydrolyzou se používá výlučně chromatografických a elektroforetických metod. V současné době se používá k separaci a kvantifikaci aminokyselin výhradně metod vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC) nebo střednětlaké kapalinové chromatografie na iontoměničích [64].

### 4.2.1 Iontoměničová chromatografie aminokyselin

Aminokyseliny lze separovat chromatografií založenou na výměně iontů. Chromatografická kolona je naplněna pryskyřicí s negativním nábojem. Aminokyseliny jsou na začátek kolony zaváděny při nízkém pH, všechny mají kladný náboj. Za těchto podmínek nenastane chromatografické dělení, proto je nutné kolonu promývat mobilní fází. Jako mobilní fáze se používají pufrы se vzrůstající hodnotou pH a iontovou silou. Zvýšením teploty, zvýšením pH nebo při vyšší iontové síle je aminokyselina převedena do izoelektrického bodu, ztrácí přitažlivost svých iontů k pryskyřici a je eluována z kolony. Izoelektrických bodů u jednotlivých aminokyselin je dosaženo v různých časech, což umožňuje chromatografické dělení. Z kolony jsou postupně eluovány jednotlivé aminokyseliny. Metoda je vhodná pro dělení směsi volných aminokyselin i aminokyselin vyskytujících se v bílkovinných hydrolyzátech.

Na principu střednětlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou, postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí pracuje Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400. Je určen pro stanovení aminokyselin v hydrolyzátech bílkovin, peptidů, pro stanovení volných aminokyselin ve fyziologických roztocích a extraktech a pro stanovení biogenních aminů. Jednotlivé aminokyseliny jsou z kolony eluovány do vyhřátého reaktoru, kde reagují s ninhydrinem. Ninhydrin je silné oxidační činidlo, které dekarboxyluje aminokyseliny na oxid uhličitý, amoniak a aldehyd. Redukovaný ninhydrin - hydrindantin reaguje se vzniklým amoniakem za vzniku purpurové substance (Ruhemanova červeň). Barevné produkty reakce jsou detekovány fotometricky. Ruhemanova červeň má absorpční maximum při 570 nm. Koncentrace aminokyselin je přímo úměrná množství těchto produktů a jejich množství je přímo úměrné odezvě detektoru [45,62,64,67,69].

#### 4.2.2 Vysokotlaká kapalinová chromatografie HPLC

Stanovení se provádí po hydrolyze analyzovaného vzorku. Při klasické kapalinové chromatografii se analyt rozděluje mezi mobilní a stacionární fázi tím, že mobilní fáze prostupuje kolonou působením gravitační síly, složky vzorku se od sebe separují a v různých časech opouštějí kolonu. Tento princip se stal základem pro HPLC, kde se k účinnější separaci používá dostatečně malých zrníček sorbentu, která kladou prostupující kapalině značný odpor. Proto je nutno pracovat za vysokého tlaku. K dělení se používá metoda vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí (338 nm a 266 nm) nebo s fluorescenční detekcí. Při použití HPLC metody se ponejvíce využívá separace aminokyselin na reverzní fázi oktadecyl. K detekci aminokyselin se používá různých činidel k derivatizaci před kolonou i za kolonou, předkolonová derivatizace aminokyselin je používána častěji [64].

#### 4.2.3 Plynová chromatografie

Aminokyseliny, jako silně polární látky, jsou velmi málo těkavé, proto je nutné jejich převedení na vhodný, dostatečně těkavý derivát. Aminokyseliny lze stanovovat plynovou chromatografií ve formě esterů. Detekce se provádí na plamenovém ionizačním detektoru, nosným plynem je dusík. Principem dělení jednotlivých aminokyselin je rozdílná rozpustnost jejich esterů ve stacionární fázi. Čím jsou ve stacionární fázi rozpustnější, tím více jsou kolonou zadržovány. Jednotlivé aminokyseliny jsou detekovány na detektoru, výstu-

pem je chromatogram. Z retenčního času píku lze určit, o jakou aminokyselinu se jedná, plocha píku odpovídá koncentraci aminokyseliny [61].

#### 4.2.4 Chromatografické dělení na tenké vrstvě

Jako stacionární fáze se nejčastěji používá silikagel nebo celulóza, která je součástí chromatografické tenké vrstvy. Mobilní fází je kapalina, směs rozpouštědel. Vzorek se nanáší na start, blíže jednomu konci plochy. Podložka s tenkou vrstvou stacionární fáze je vnořena do mobilní fáze, která vzlíná tenkou vrstvou pomocí kapilárních sil a tím s sebou unáší jednotlivé složky vzorku. Ty se uvolňují různě rychle, což závisí na síle jejich vazby na stacionární fázi a jejich rozpustnosti v mobilní fázi. Analýza se ukončuje, až čelo mobilní fáze dosáhne blízkosti druhého konce plochy. Detekce aminokyselin se provádí roztokem ninhydrinu. Aminokyseliny reagují za vzniku modrých až modrofialových skvrn. Identifikace jednotlivých aminokyselin se provádí podle příslušných standardů [45,61,68].

#### 4.2.5 Elektroforetické dělení

Kapilární elektroforéza představuje vysoce účinnou separační techniku. Analýza je rychlá, nenáročná na množství vzorku a elektrolytu. K dělení složek dochází na základě jejich různé pohyblivosti v elektrickém poli. Každá aminokyselina má svůj specifický izoelektrický bod, který je dán hodnotou pH, při níž daná aminokyselina vykazuje nulový náboj, je elektricky neutrální. Hodnota pH elektrolytu pak ovlivňuje náboj aminokyseliny a tím i její pohyb v elektrickém poli. Vzhledem k tomu, že rychlost pohybu částic je závislá na velikosti náboje a velikosti molekuly, různě velké a různě nabitě molekuly se pohybují odlišnou rychlostí a tím dochází k separaci [61,71].

## II. PRAKTICKÁ ČÁST

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu aminokyselin u čtyř kmenů sladkovodních řas, jednoho druhu sinice a jednoho vzorku rostliny, které jsou využívány ke konzumaci a k dalšímu průmyslovému zpracování. Chemické složení řas a sinic je ovlivněno také podmínkami kultivace, proto bylo porovnáno aminokyselinové složení ve dvou sadách vzorků, z nichž každá byla kultivována za jiných podmínek.

K analýze obsahu dusíkatých látek bylo použito Kjeldahlovy metody s úpravou podle Winklera. Bylo porovnáno, jak rozdílné kultivační podmínky ovlivnily obsah dusíkatých látek v řasách.

Aminokyselinové složení bylo zjištěno pomocí iontoměničové chromatografie na automatickém analyzátoru aminokyselin. Bylo vyhodnoceno aminokyselinové složení jednotlivých analyzovaných vzorků. Provedeno bylo také srovnání aminokyselinové skladby vzhledem k různým kultivačním podmínkám.

## 6 METODIKA PRÁCE

### 6.1 Stanovení dusíkatých látek

#### Použité přístroje a pomůcky

běžné laboratorní sklo a pomůcky

předvážky Kern & Sohn EG 620-3NM (Germany)

analytické váhy – Explorer Pro model 214CM

mineralizátor – Selecta, Bloc Digest 12 (O.K. SERVIS BioPro, Praha)

automatická destilační jednotka Selecta, Pro-Nitro 1430 (O.K. SERVIS BioPro, Praha)

#### Material

Analyzovány byly čtyři kmeny zelených sladkovodních řas *Chlorella kessleri*, směsný vzorek označen jako K1 obsahoval 60 % *Scenedesmus quadricauda* + 40 % kmene K1, kmen K2, *Scenedesmus quadricauda*, sinice (*Spirulina platensis*) a rostlina (*Salicornia europea*). Vzorky sladkovodních zelených řas a sinice byly získány z Ústavu fyzikální biologie JČU ČB v Nových Hradech. Rostlina (*Salicornia europea*) byla získána z Abant Izzet Baysal University v Bolu (Turecko). Zelené řasy označené jako kmen K1 a kmen K2 patří mezi zelené kokální řasy, jejichž taxonomická klasifikace nebyla zatím provedena. Jedná se o laboratorní kmeny, které byly k výzkumu použity z důvodu zkoumání možnosti jejich budoucího potravinářského využití. Řasy a sinice byly analyzovány ve dvou sadách vzorků, přičemž jedna sada pocházela z autotrofní kultivace ve fotobioreaktorech a jedna sada pocházela z autotrofní kultivace v laboratoři.

Kultivace řas v laboratoři probíhala za těchto podmínek:

*Spirulina* byla pěstována v médiu Zarrouk. Zelené sladkovodní řasy byly pěstovány v médiu 1/2 Šetlík-Simmer při průměrné teplotě 31,2 °C, koncentrace CO<sub>2</sub> na probublávání média byla 2,2 %. Osvětlení mělo průměrnou intenzitu 479,59 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

Kultivace řas ve fotobioreaktorech probíhala ve stejných médiích, koncentrace média Šetlík-Simmer však byla nižší – 1/3 případně 1/4 původní koncentrace.

U vzorků řasa a sinice se jednalo o suchou, lyofilizovanou biomasu. Rostlina *Salicornia europea* byla dodána v usušeném stavu.

Tab. 1 Charakteristika analyzovaných vzorků

<b>vzorek</b>	<b>Zařazení</b>	<b>Označení vzorku</b>
<i>Spirulina platensis</i>	sinice	S
<i>Chlorella kessleri</i>	řasa	CH
Kmen K1+ <i>Scenedesmus quadricauda</i> (40 % + 60 %)	řasa	K1
Kmen K2	řasa	K2
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	řasa	SC
<i>Salicornia europea</i>	rostlina	SE

### Metodika stanovení

Pro stanovení obsahu dusíkatých látek byl použit metodický postup uvedený v kapitole 3.2.

### Použité roztoky a chemikálie:

kyselina sírová (konc.) (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

peroxid vodíku (30% w/w) (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

katalyzátor ( $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$  v poměru 10:1)

kyselina boritá (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

hydroxid sodný (30% w/w) (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

kyselina chlorovodíková ( $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

indikátor Tashiro (dodavatel: Fisher Scientific, spol. s r. o., Pardubice)

### Stanovení obsahu dusíkatých látek podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera.

K analýze obsahu dusíkatých látek bylo naváženo na analytických vahách 0,1 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Vzorek byl kvantitativně převeden do mineralizační zkumavky. V digestoři bylo ke vzorku přidáno 10 ml koncentrované kyseliny sírové, několik kapek

peroxidu vodíku a zhruba 3 g směsného katalyzátoru ( $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$  v poměru 10:1). Poté byly mineralizační zkumavky vloženy do mineralizátoru s nastavenou teplotou ohřevu 400 °C. Mineralizace probíhala 60 minut. Ve zkumavce vznikl čirý roztok světle zelené barvy.

Obsah dusíkatých látek byl stanoven na automatické destilační jednotce ProNitro. Před samotným stanovením obsahu dusíkatých látek byly vzorky v mineralizační zkumavce doplněny destilovanou vodou na objem 25 ml. Poté byla mineralizační baňka vložena do přístroje ProNitro a do zkumavky byl manuálně nadávkován přebytek 30 % NaOH (asi 60 ml). Uvolněný amoniak byl jímán do roztoku kyseliny borité s indikátorem. Zachycený amoniak byl automaticky titrován kyselinou chlorovodíkovou, až došlo ke změně zbarvení ze světle zelené na fialovou. Na displeji přístroje se po dokončení titrace zobrazilo množství spotřebované kyseliny chlorovodíkové v ml a také obsah dusíku v analyzovaných vzorcích v mg. Z množství obsaženého dusíku byl vypočítán obsah dusíkatých látek.

Výpočet obsahu dusíkatých látek % (w/w):

$$\text{NL} = \frac{N}{m} \cdot 100 \cdot f$$

NL ..... obsah dusíkatých látek [%]

N ..... obsah dusíku [g]

m ..... navážka [g]

f ..... přepočítávací faktor (6,25)

Obsah dusíkatých látek byl vypočítán programem Microsoft Office Excel 2003.



## 6.2 Stanovení aminokyselin

### Použité přístroje a pomůcky:

běžné laboratorní sklo a pomůcky

analytické váhy A&D GH-200 EC

chladnička GORENJE

termoblok EVATERM, Labicom

olejová lázeň MEMMERT

vakuová odparka HEIDOLPH Laboratora 4010

analyzátor aminokyselin – AAA 400 (Ingos Praha, ČR)

### Materiál

Aminokyseliny byly analyzovány ve vzorcích uvedených v tabulce č. 1.

### Metodika stanovení

Před vlastní analýzou aminokyselin byla provedena kyselá a oxidativní hydrolyza vzorků podle postupu uvedeném v kapitole 4.1. Analýza aminokyselin byla provedena podle postupu uvedeného v kapitole 4.2.1.

### Použité roztoky a chemikálie:

kyselina chlorovodíková ( 6 mol.l<sup>-1</sup>; 0,1 mol.l<sup>-1</sup>) (ing. Petr Lukeš)

argon

oxidační směs (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : kyselina mravenčí v poměru 1 : 9) (ing. Petr Lukeš)

sodnocitrátový pufr pH 2,2 (0,2 M)

Pro kyselou hydrolyzu bylo naváženo přímo do hydrolyzační nádoby 20 - 30 mg vzorku řas a 100 mg vzorku rostliny *Salicornia europea* s přesností na 0,0001 g. K navážce vzorku bylo přidáno 15 ml kyseliny chlorovodíkové (6 mol.l<sup>-1</sup>). Následně byl obsah hydrolyzační nádoby kvůli odstranění vzduchu probublán argonem po dobu 30 vteřin. Uzavřená hydrolyzační nádoba byla vložena do termobloku na dobu 24 hodin při nastavené teplotě 100 °C. Po ukončení hydrolyzy byl obsah nádoby kvantitativně převeden kyselinou chlo-

rovodíkovou ( $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) přes filtrační papír do odpařovací baňky. Filtrát byl třikrát odpařován na vakuové odparce ve vodní lázni při  $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$  až do sirupovité konzistence, byl třikrát promyt  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  kyselinou chlorovodíkovou. Odparek byl kvantitativně převeden tlumivým rozotokem o pH 2,2 do 25 ml odměrné baňky. Do mikrozkuřavky Eppendorf byl přes mikrofiltr přefiltrován zásobní roztok vzorku, který byl následně použit pro analýzu aminokyselin.

Pro provedení oxidace vzorků oxidativní hydrolyzy bylo do Erlenmayerovy baňky naváženo 100 – 150 mg lyofilizovaných vzorků řas a 1 g vzorku *Salicornia europaea* s přesností na 0,0001 g. Byla připravena oxidační směs z 90 ml kyseliny mravenčí a 10 ml peroxidu vodíku. Tato směs byla ponechána dvě hodiny při pokojové teplotě a následně byla chlazená 15 minut v chladničce. K navážce vzorku bylo přidáno 15 ml oxidační směsi. Po důkladném promíchání směsi s navážkou vzorku byla baňka umístěna na 24 hodin do chladničky. K oxidovanému vzorku byl přidán 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a následně 50 ml kyseliny chlorovodíkové ( $6 \text{ mol.l}^{-1}$ ). Na Erlenmayerovu baňku byl nasazen zpětný chladič, baňky byly vloženy do olejové lázně, kde při teplotě  $118 \text{ }^{\circ}\text{C}$  probíhala po dobu 24 hodin oxidativní hydrolyza. Po ukončení hydrolyzy byl obsah baňek kvantitativně převeden přes filtrační papír do 250 ml odměrné baňky a doplněn  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  kyselinou chlorovodíkovou. Následně bylo do odpařovací baňky odpipetováno 25 ml vzorku. Další postup s filtrátem byl shodný jako u kyselé hydrolyzy.

Vzorky připravené v mikrozkuřavkách byly analyzovány na analyzátoru aminokyselin AAA 400. Separace aminokyselin probíhala na koloně ionexu prostřednictvím nárůstu pH, pomocí sodnitrátových pufrů (rozpětí pufrů pH 2,6 až 7,9). Jednotlivé aminokyseliny po výstupu z kolony vstoupily do reakce s ninhydrinem, vzniklé barevné produkty byly detekovány fotometricky [5,67].

Z esenciálních aminokyselin byly stanoveny: treonin, valin, izoleucin, leucin, fenylalanin, metionin a lyzin. Tryptofan stanoven nebyl. Z neesenciálních aminokyselin byly stanoveny následující aminokyseliny: kyselina asparagová, kyselina glutamová, serin, prolin, glycin, alanin, tyrozin, histidin, arginin a cystein.

Obsah aminokyselin byl vypočten podle rovnice:

$$A_{VZ} = \frac{A_{VZ0}}{NL_{VZ0}} \times 100$$

$A_{VZ}$  – obsah aminokyselin ve vzorku ( $\text{g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ )

$A_{VZ0}$  – obsah aminokyselin ve vzorku ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

$NL_{VZ0}$  – obsah dusíkatých látek ve vzorku ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

Množství jednotlivých aminokyselin bylo vypočítáno programem Unistat, verze 5.1.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Obsah dusíkatých látek

Stanovení obsahu dusíkatých látek bylo provedeno dle postupu uvedeného v kapitole 6.1.

Byly analyzovány a porovnány vzorky řas a sinice, jejichž kultivace probíhala ve fotobioreaktorech a vzorky řas a sinice kultivované v laboratorních podmínkách. Analyzován byl také vzorek rostliny *Salicornia europea*.

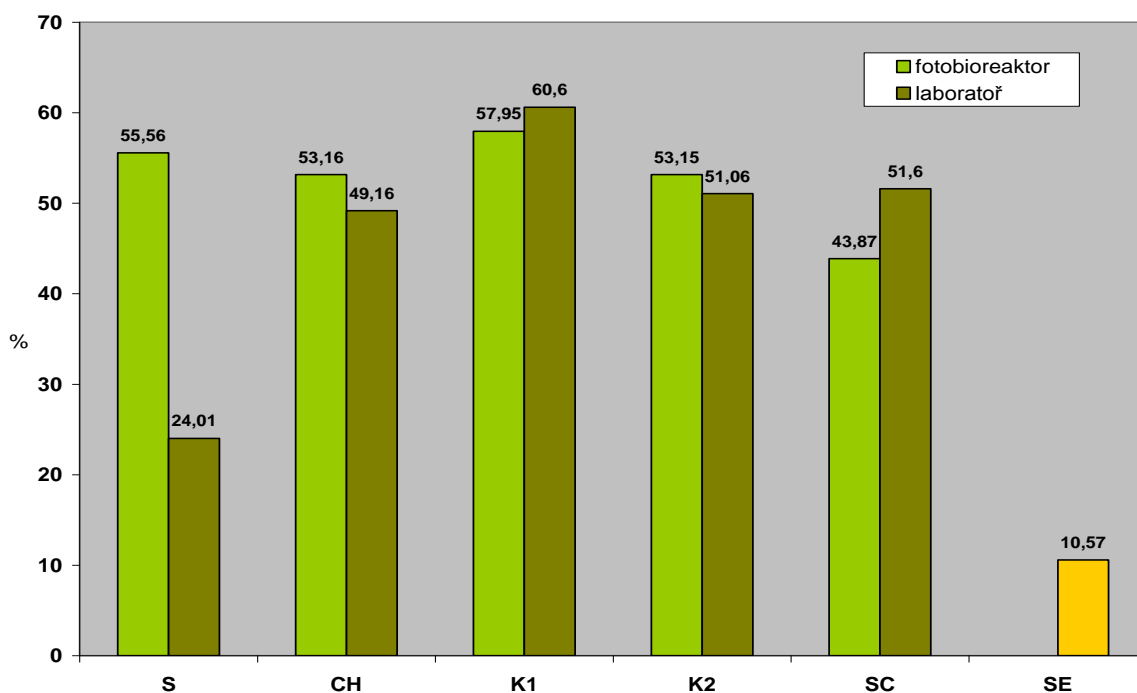
Tab. 2 Obsah dusíkatých látek v analyzovaných vzorcích

Obsah dusíkatých látek (%)		
	Vzorky kultivované ve fotobioreaktorech	Vzorky kultivované v laboratoři
vzorek	mean ± S.D.	mean ± S.D.
S	55,56 ± 0,04	24,01 ± 0,38
CH	53,16 ± 0,01	49,16 ± 0,27
K1	57,95 ± 0,26	60,60 ± 0,03
K2	53,15 ± 0,05	51,06 ± 0,14
SC	43,87 ± 0,26	51,60 ± 0,02
<i>Salicornia europea</i>		
SE	10,57±0,15	

Nejvyšší obsah dusíkatých látek 60,60 % byl naměřen u směsného vzorku K1 kultivovaného v laboratorních podmínkách. Nejméně dusíkatých látek, pouze 10,57 %, obsahovala rostlina *Salicornia europea*.

V porovnání obsahu dusíkatých látek ve vzorcích z fotobioreaktorů a z laboratorní kultivace byl zjištěn významný rozdíl v naměřených hodnotách u vzorků *Spirulina platensis*. Vzorek z fotobioreaktoru obsahoval 55,56 %, zatímco vzorek z laboratoře pouze 24,01 % dusíkatých látek. Ve srovnání s publikovanými údaji, jež uvádí hodnoty 55 – 70 % obsahu dusíkatých látek ve vzorku *Spirulina platensis*, je obsah dusíkatých látek v analyzovaném vzorku z laboratorní kultivace podprůměrný [28,70]. Obsah dusíkatých látek ve vzorku *Spirulina platensis* byl zřejmě výrazně ovlivněn podmínkami při kultivaci.

Rozdílné podmínky kultivace výrazněji ovlivnily také obsah dusíkatých látek v řase rodu *Scenedesmus quadricauda*. V tomto případě byl však obsah dusíkatých látek vyšší u vzorku, který byl kultivován v laboratoři. Vzorek z laboratorní kultivace obsahoval 51,60 % dusíkatých látek, ve vzorku kultivovaném ve fotobioreaktoru bylo zjištěno 43,87 % dusíkatých látek.



Obr. 14 Srovnání obsahu dusíkatých látek ve vzorcích řas kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a ve vzorku rostliny *Salicornia europea*.

U dalších tří vzorků analyzovaných řas nebyl významným způsobem ovlivněn obsah dusíkatých látek rozdílnými podmínkami během kultivace. *Chlorella kessleri* měla vyšší obsah dusíkatých látek ve vzorku z fotobioreaktoru, naměřena byla hodnota 53,16 %. Vzorek z laboratorní kultivace obsahoval 49,16 % dusíkatých látek. Směsný vzorek K1 obsahoval ve vzorku z laboratorní kultivace 60,60 % a ve vzorku z fotobioreaktoru 57,95 % dusíkatých látek. U vzorku kmene K2 kultivovaného v laboratoři byla naměřena hodnota 51,06 %, ve vzorku z fotobioreaktoru 53,15 % dusíkatých látek.

Vzhledem k obsahu dusíkatých látek byly podmínky kultivace ve fotobioreaktoru příznivější pro sinici *Spirulina platensis* a pro řasy kmene *Chlorella kessleri* a K2. Laboratorní

kultivační podmínky byly vzhledem k obsahu dusíkatých látek příznivější u řasy *Scenedesmus quadricauda* a směsného kmene K1.

## 7.2 Obsah aminokyselin v řasách

Aminokyseliny byly v jednotlivých vzorcích řas stanoveny dle postupu uvedeného v kapitole 6.2. Analýza aminokyselinového složení byla provedena u čtyř různých vzorků řas a jednoho vzorku sinice, které byly kultivovány ve fotobioreaktorech. Dále byly analyzovány tytéž kmeny pocházející z laboratorní kultivace. Podmínky kultivací vzorků jsou uvedeny v kapitole 6.1. Analyzován byl také vzorek rostliny *Salicornia europea*.

### 7.2.1 Celkové obsahy aminokyselin a celkové obsahy esenciálních a neesenciálních aminokyselin

Celkové obsahy aminokyselin a celkové obsahy esenciálních a neesenciálních aminokyselin v analyzovaných vzorcích kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratoři jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4.

Tab. 3 Celkový obsah aminokyselin ve vzorcích kultivovaných ve fotobioreaktorech [ $\text{g} \cdot 16\text{g}^{-1} \cdot \text{N}$ ]

<b>vzorek</b>	<b><math>\Sigma</math> EAA</b>	<b><math>\Sigma</math> NEAA</b>	<b><math>\Sigma</math> AA</b>
<b>S</b>	21,36	35,99	57,35
<b>CH</b>	29,53	50,48	80,01
<b>K1</b>	29,18	43,37	72,55
<b>K2</b>	29,35	41,41	70,76
<b>SC</b>	30,79	50,83	81,62

U vzorků pocházejících z fotobioreaktorů byl zjištěn nejvyšší celkový obsah aminokyselin u řasy *Scenedesmus quadricauda*  $81,62 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Vzorek *Chlorella kessleri* obsahoval  $80,01 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , směsný vzorek K1 obsahoval  $72,55 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a kmen K2 obsahoval  $70,76 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejnižší celkový obsah aminokyselin u vzorků pocházejících z fotobioreaktorů byl naměřen u *Spirulina platensis*  $57,35 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Tab. 4 Celkový obsah aminokyselin ve vzorcích kultivovaných v laboratoři [g.16g<sup>-1</sup>.N].

<b>vzorek</b>	<b>Σ EAA</b>	<b>Σ NEAA</b>	<b>Σ AA</b>
<b>S</b>	18,00	29,80	47,80
<b>CH</b>	29,29	47,44	76,73
<b>K1</b>	31,09	45,86	76,95
<b>K2</b>	28,71	47,80	76,51
<b>SC</b>	23,93	36,67	60,60

U vzorků pocházejících z laboratorní kultivace byl zjištěn nejvyšší celkový obsah aminokyselin u směsného vzorku K1 76,95 g.16g<sup>-1</sup> N, *Chlorella kessleri* 76,73 g.16g<sup>-1</sup> N a u kmene K2 76,51 g.16g<sup>-1</sup> N. Zjištěné hodnoty celkového obsahu aminokyselin u těchto tří vzorků jsou velmi podobné.

Ve vzorku řasy *Scenedesmus quadricauda* bylo obsaženo 60,60 g.16g<sup>-1</sup> N, právě u tohoto kmene byl největší rozdíl v naměřeném celkovém obsahu aminokyselin mezi vzorkem z laboratorní kultivace a vzorkem kultivovaným ve fotobioreaktoru. Rozdíl byl 21,02 g.16g<sup>-1</sup> N.

Stejně jako *Spirulina platensis* pocházející z fotobioreaktoru, také *Spirulina platensis* kultivovaná v laboratorních podmínkách obsahovala nejmenší množství aminokyselin 47,80 g.16g<sup>-1</sup> N. I zde byl rozdíl mezi oběma sadami vzorků výrazný a činil 9,55 g.16g<sup>-1</sup> N.

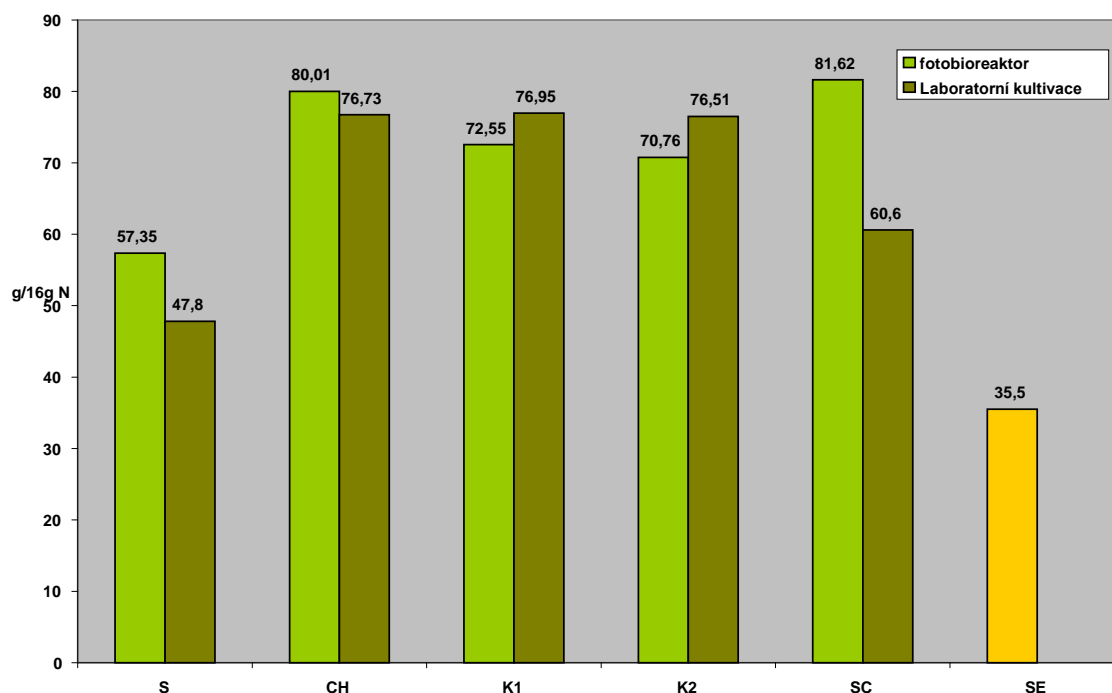
V tabulce 5 je uveden celkový obsah aminokyselin a celkový obsah esenciálních a neesenčních aminokyselin ve vzorku rostliny *Salicornia europea*.

Tab. 5 Celkový obsah aminokyselin ve vzorku rostliny *Salicornia europea* [g.16g<sup>-1</sup>.N].

<b>vzorek</b>	<b>Σ EAA</b>	<b>Σ NEAA</b>	<b>Σ AA</b>
<b>SE</b>	11,95	23,55	35,50

Ve vzorku rostliny *Salicornia europea* bylo zjištěno, že celkový obsah aminokyselin činí 35,5 g.16g<sup>-1</sup> N, což je ve vztahu k obsahům celkových aminokyselin ve vzorcích zelených řas velmi nízká hodnota.

Ze vzájemného porovnání celkového obsahu aminokyselin ve vzorcích pocházejících z fotobioreaktorů a z laboratorní kultivace, jak je znázorněno na obr. 15 je možné konstatovat, že podmínky kultivace ve fotobioreaktorech byly vzhledem k celkovému obsahu aminokyselin vhodnější. Nejvíce byla podmínkami kultivace ovlivněna řasa kmene *Scenedesmus quadricauda* a *Spirulina platensis*. Celkový obsah aminokyselin v rostlině *Salicornia europea* byl výrazně nižší než v ostatních analyzovaných vzorcích.



Obr. 15 Porovnání celkového obsahu aminokyselin v řasách kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a rostliny *Salicornia europea*.

### 7.2.2 Obsahy esenciálních aminokyselin

Nejvíce zastoupenou esenciální aminokyselinou byl ve všech analyzovaných vzorcích leucin. Jeho největší množství  $6,43 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  bylo stanoveno v řase *Chlorella kessleri* kultivované v laboratoři. Nejméně zastoupenými esenciálními aminokyselinami byly izoleucin, metionin a treonin.



Obsahy esenciálních aminokyselin ve vzorcích zelených řas a *Spirulina platensis*, kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratoři jsou uvedeny v tabulkách 6 a 7 a hodnoty obsahů esenciálních aminokyselin ve vzorku rostliny *Salicornia europea* v tabulce 8.

Tab. 6 Obsah esenciálních aminokyselin v  $g \cdot 16g^{-1}N$  ve vzorcích z fotobioreaktoru.

	<b>Valin</b>	<b>Leucin</b>	<b>Izoleucin</b>	<b>Fenylalanin</b>	<b>Lyzin</b>	<b>Metionin</b>	<b>Treonin</b>
vz.	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD
<b>S</b>	3,26±0,20	4,03±0,26	2,48±0,11	3,17±0,24	3,61±0,13	2,49±0,14	2,28±0,08
<b>CH</b>	4,19±0,18	6,32±0,40	3,45±0,16	3,89±0,19	4,29±0,22	3,72±0,16	3,67±0,18
<b>K1</b>	4,15±0,20	5,87±0,31	3,21±0,13	3,69±0,07	6,43±0,23	2,63±0,12	3,20±0,16
<b>K2</b>	4,40±0,08	6,11±0,29	3,51±0,04	3,53±0,14	6,15±0,22	2,39±0,11	3,26±0,17
<b>SC</b>	4,68±0,22	5,89±0,50	2,84±0,17	4,32±0,19	6,07±0,16	4,06±0,33	2,93±0,21

Tab. 7 Obsah esenciálních aminokyselin v  $g \cdot 16g^{-1}N$  ve vzorcích z laboratorní kultivace.

	<b>Valin</b>	<b>Leucin</b>	<b>Izoleucin</b>	<b>Fenylalanin</b>	<b>Lyzin</b>	<b>Metionin</b>	<b>Treonin</b>
vz.	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD
<b>S</b>	3,06±0,09	4,74±0,08	2,90±0,12	1,70±0,05	2,38±0,09	1,66±0,08	1,56±0,04
<b>CH</b>	4,28±0,15	6,43±0,25	3,35±0,13	3,88±0,06	4,39±0,09	3,74±0,23	3,22±0,26
<b>K1</b>	4,21±0,07	6,38±0,12	3,41±0,05	3,86±0,07	6,62±0,11	3,05±0,11	3,56±0,05
<b>K2</b>	4,16±0,09	6,04±0,05	2,74±0,01	3,88±0,05	4,43±0,03	3,71±0,14	3,75±0,17
<b>SC</b>	3,11±0,13	4,72±0,20	2,00±0,13	2,99±0,12	4,34±0,19	3,94±0,11	2,83±0,13

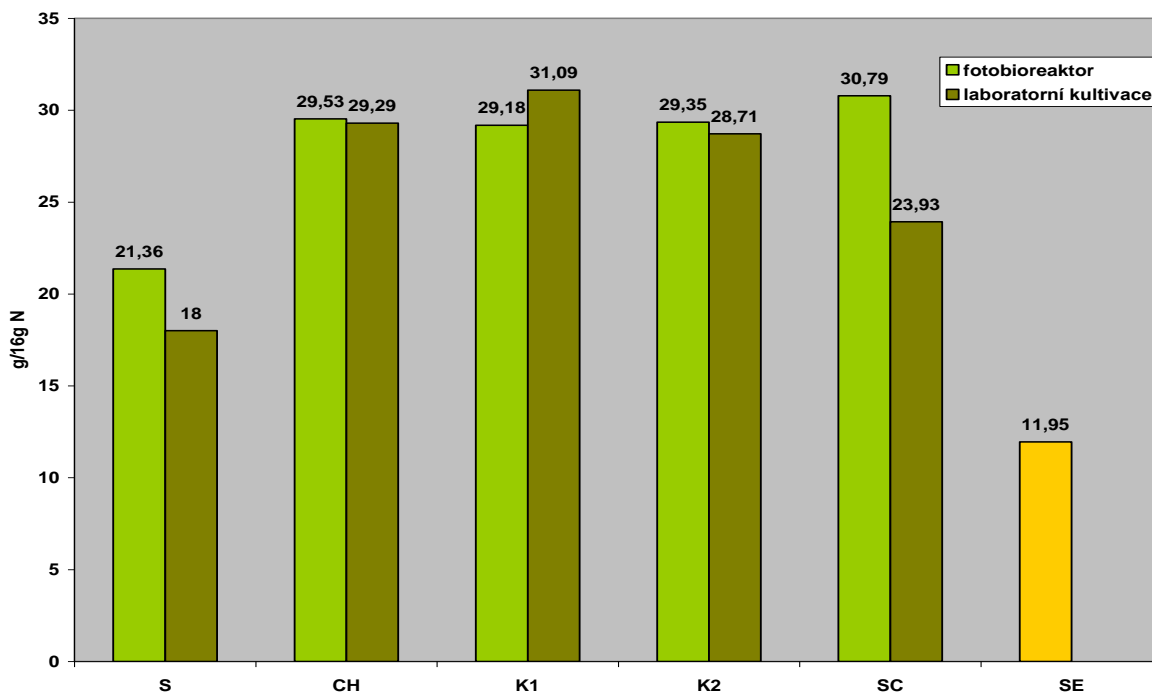
Tab. 8 Obsah esenciálních aminokyselin v  $g \cdot 16g^{-1}N$  ve vzorku rostliny *Salicornia europea*.

	<b>Valin</b>	<b>Leucin</b>	<b>Izoleucin</b>	<b>Fenylalanin</b>	<b>Lyzin</b>	<b>Metionin</b>	<b>Treonin</b>
vz.	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD
<b>SE</b>	1,48±0,06	2,31±0,12	1,2±0,02	1,95±0,02	1,57±0,07	2,09±0,07	1,35±0,05

Ve vzorku rostliny *Salicornia europea* byl nejvíce zastoupenou esenciální aminokyselinou, stejně jako u analyzovaných vzorků sinice a řas, leucin s obsahem  $2,31 g \cdot 16g^{-1}N$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou s obsahem  $1,35 g \cdot 16g^{-1}N$  byl treonin.

Na obr. 16 je znázorněn celkový obsah esenciálních aminokyselin v analyzovaných vzorcích. Nejbohatším zdrojem esenciálních aminokyselin byl směsný vzorek K1 kultivovaný v laboratorních podmínkách, který obsahoval  $31,09 g \cdot 16g^{-1}N$ . Největší rozdíl,

v naměřených hodnotách celkového obsahu esenciálních aminokyselin mezi vzorky z fotobioreaktoru a z laboratorní kultivace, byl u kmene *Scenedesmus quadricauda* a *Spirulina platensis*. Nejmenší obsah aminokyselin byl stanoven ve vzorku rostliny *Salicornia europaea*  $11,95 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .



Obr. 16 Srovnání celkového obsahu esenciálních aminokyselin v řasách kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a v rostlině *Salicornia europaea*.

Vzhledem k celkovému obsahu aminokyselin a celkovému obsahu esenciálních aminokyselin byly rozdílnými podmínkami kultivace nejvíce ovlivněny analyzované vzorky *Scenedesmus quadricauda* a *Spirulina platensis*.

### 7.2.3 Obsah aminokyselin v analyzovaných vzorcích

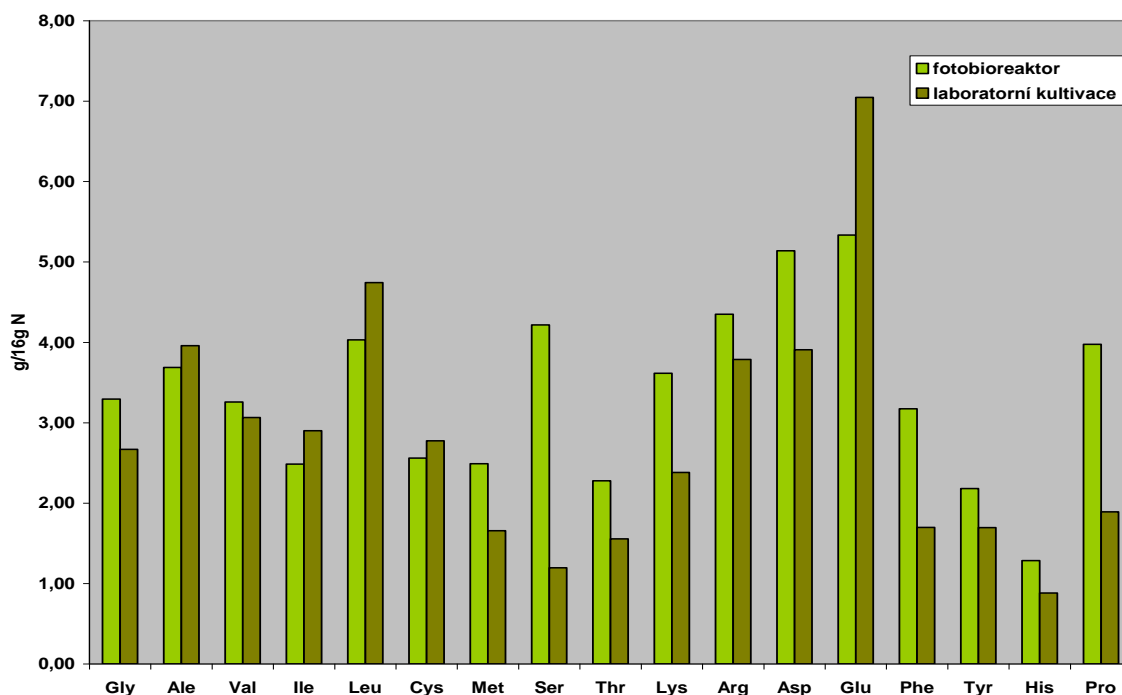
#### 7.2.3.1 Obsah aminokyselin v sinici *Spirulina platensis*

Nejvíce zastoupenou aminokyselinou byla kyselina glutamová  $7,05 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a kyselina asparagová  $5,41 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Esenciální aminokyselinou s nejvyšším naměřeným množstvím byl leucin  $4,03 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou byl treonin  $1,56 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně ze všech aminokyselin byl zastoupen histidin  $0,88 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Kultivační podmínky ve fotobioreaktoru byly pro *Spirulina platensis* vhodnější. Dvanáct (Gly, Val, Met, Ser, Thr, Lys, Arg, Asp, Phe, Tyr, His, Pro) ze sedmnácti stanovených aminokyselin bylo zastoupeno ve větším množství než u vzorků z laboratorní kultivace, přičemž nejvýraznější rozdíl byl zaznamenán v obsahu serinu a prolinu. Jejich množství ve vzorcích z fotobioreaktoru bylo více než dvojnásobné. Ve vzorku *Spirulina platensis* pocházejícího z fotobioreaktoru byl stanoven vůbec nejvyšší obsah serinu  $4,22 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ze všech zkoumaných vzorků. *Spirulina* kultivovaná v laboratoři obsahovala v porovnání s ostatními řasami nejmenší množství histidinu  $0,88 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Aminokyselinové složení *Spirulina platensis* je uvedeno v tabulce 9 a znázorněno na obr. 17.

Tab. 9 Obsah aminokyselin *Spirulina platensis*.

Obsah AA [ $\text{g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ ]		
	Vzorek kultivovaný ve fotobioreaktoru	Vzorek kultivovaný v laboratoři
AA	mean $\pm$ S.D.	mean $\pm$ S.D.
Val	3,26 $\pm$ 0,20	3,06 $\pm$ 0,09
Leu	4,03 $\pm$ 0,26	4,74 $\pm$ 0,08
Ile	2,48 $\pm$ 0,11	2,90 $\pm$ 0,12
Met	2,49 $\pm$ 0,14	1,66 $\pm$ 0,08
Thr	2,28 $\pm$ 0,08	1,56 $\pm$ 0,04
Lys	3,61 $\pm$ 0,13	2,38 $\pm$ 0,09
Phe	3,17 $\pm$ 0,24	1,70 $\pm$ 0,05
Gly	3,29 $\pm$ 0,20	2,67 $\pm$ 0,11
Ala	3,69 $\pm$ 0,19	3,96 $\pm$ 0,17
Cys	2,56 $\pm$ 0,08	2,78 $\pm$ 0,13
Ser	4,22 $\pm$ 0,27	1,20 $\pm$ 0,06
Arg	4,35 $\pm$ 0,17	3,79 $\pm$ 0,10
Asp	5,14 $\pm$ 0,19	3,91 $\pm$ 0,16
Glu	5,33 $\pm$ 0,18	7,05 $\pm$ 0,20
Tyr	2,18 $\pm$ 0,11	1,70 $\pm$ 0,04
His	1,28 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,06
Pro	3,98 $\pm$ 0,25	1,89 $\pm$ 0,12
$\Sigma$ EAA	21,36	18,00
$\Sigma$ NEAA	35,99	29,80
$\Sigma$ AA	57,35	47,80



Obr. 17 Aminokyselinové složení sinice *Spirulina platensis* z různých kultivačních podmínek.

### 7.2.3.2 Obsah aminokyselin v řase *Chlorella kessleri*

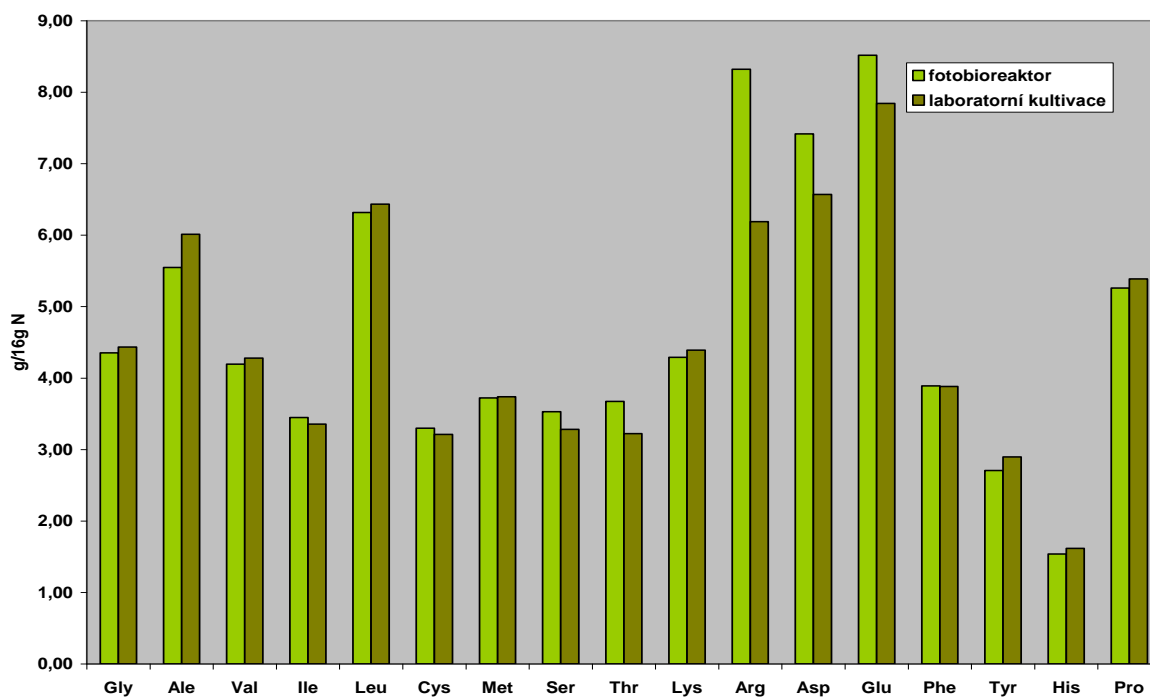
V největším množství byla zastoupena kyselina glutamová  $8,52 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , kyselina asparagová  $7,42 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a arginin  $8,32 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejvíce zastoupenou esenciální aminokyselinou byl leucin  $6,43 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Kvantitativně byl nejméně zastoupen histidin  $1,54 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou byl treonin  $3,22 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Z celkového počtu sedmnácti analyzovaných aminokyselin jich osm (Ile, Cys, Ser, Thr, Arg, Asp, Glu, Phe) bylo zastoupeno ve větší míře ve vzorku z fotobioreaktoru, devět aminokyselin (Gly, Ala, Val, Leu, Met, Lys, Tyr, His, Pro) bylo naměřeno ve větším množství u vzorku kultivovaného v laboratoři. Čtyři esenciální aminokyseliny (Val, Leu, Lys, Met) byly ve větším množství zastoupeny ve vzorku z laboratorní kultivace, pouze izoleucin a treonin byly ve větší míře stanoveny ve vzorku z fotobioreaktoru. Obsah fenylalaninu byl shodný u obou typů kultivace. Významnější rozdíly byly zaznamenány v obsahu argininu, kyseliny asparagové a kyseliny glutamové, kde bylo množství aminokyselin výrazně vyšší u vzorků z fotobioreaktoru. U ostatních aminokyselin byly naměřeny velmi blízké hodnoty.

Aminokyselinové složení *Spirulina platensis* je uvedeno v tabulce 10 a na obr. 18.

Tab. 10 Obsah aminokyselin *Chlorella kessleri*.

Obsah AA [g.16g <sup>-1</sup> N]		
	Vzorek kultivovaný ve fotobioreaktoru	Vzorek kultivovaný v laboratoři
AA	mean±S.D.	mean±S.D.
Val	4,19±0,18	4,28±0,15
Leu	6,32±0,40	6,43±0,25
Ile	3,45±0,16	3,35±0,13
Met	3,72±0,16	3,74±0,23
Thr	3,67±0,18	3,22±0,26
Lys	4,29±0,22	4,39±0,09
Phe	3,89±0,19	3,88±0,09
Gly	4,35±0,21	4,43±0,14
Ala	5,55±0,24	6,01±0,47
Cys	3,30±0,21	3,21±0,15
Ser	3,53±0,16	3,28±0,16
Arg	8,32±0,49	6,19±0,21
Asp	7,42±0,38	6,57±0,75
Glu	8,52±0,42	7,84±0,73
Tyr	2,71±0,15	2,89±0,06
His	1,54±0,05	1,62±0,02
Pro	5,26±0,29	5,39±0,40
Σ EAA	29,53	29,29
Σ NEAA	50,48	47,44
Σ AA	80,01	76,73



Obr. 18 Aminokyselinové složení řasy *Chlorella kessleri* z různých kultivačních podmínek.

Vzorky řasy *Chlorella kessleri* obou typů kultivací obsahovaly největší množství argininu  $8,32 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a leucinu  $6,43 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ze všech analyzovaných vzorků.

Kultivační podmínky ve fotobioreaktoru byly vzhledem k celkovému obsahu aminokyselin vhodnější.

### 7.2.3.3 Aminokyselinové složení směšného vzorku K1

V největším množství byla zastoupena kyselina glutamová  $7,91 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , po ní následoval esenciální lyzin  $6,62 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a leucin  $6,38 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou aminokyselinou byl histidin  $1,53 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou byl metionin  $2,63 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Směšný vzorek K1 obou typů kultivací byl v porovnání s ostatními vzorky řas nejbohatší na esenciální aminokyselinu lyzin  $6,62 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ve vzorku kultivovaném v laboratoři a  $6,43 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ve vzorku z fotobioreaktoru.

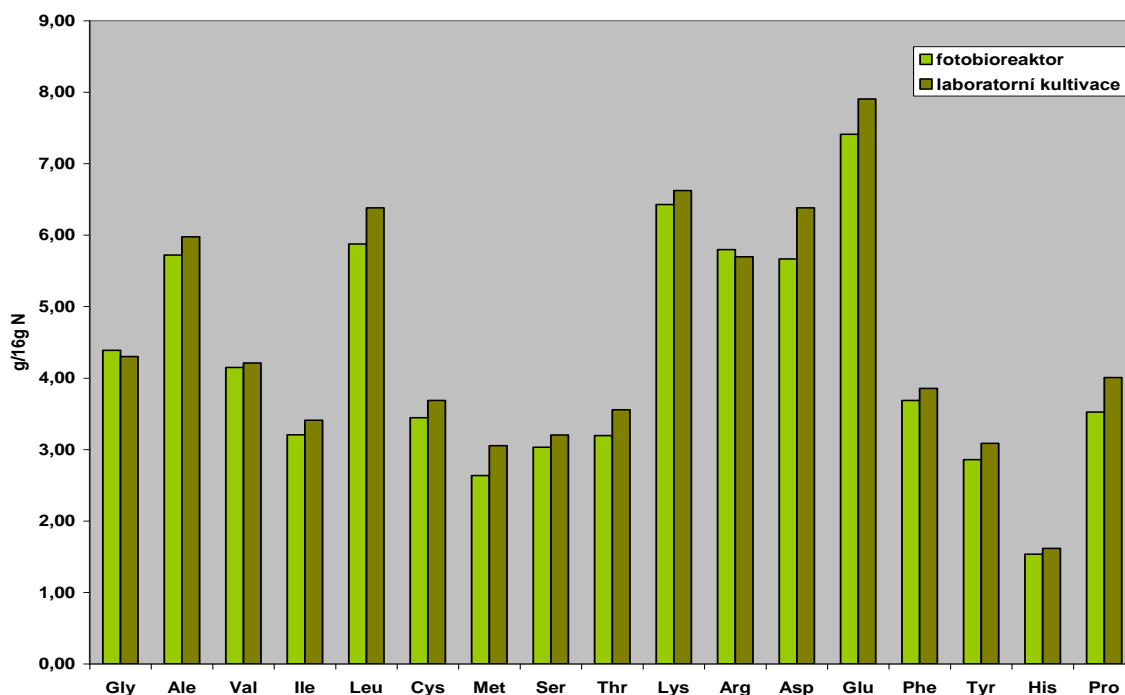
Ve vzorcích pocházejících z laboratorní kultivace bylo ve větším množství zastoupeno patnáct (Ala, Val, Ile, Leu, Cys, Met, Ser, Thr, Lys, Asp, Glu, Phe, Tyr, His, Pro) ze sedm-

nácti stanovovaných aminokyselin, přičemž ve vzorcích z laboratoře byly hojněji zastoupeny všechny esenciální aminokyseliny. I když se naměřené hodnoty jednotlivých aminokyselin výrazněji nelišily, z celkového obsahu aminokyselin a z obsahu esenciálních aminokyselin ve vzorcích můžeme usoudit, že kultivační podmínky, které byly použity u laboratorní kultivace, byly příznivější.

Aminokyselinové složení směšného vzorku K1 je uvedeno v tabulce 11 a na obr. 19.

Tab. 11 Obsah aminokyselin směšného vzorku K1.

Obsah AA [g.16g <sup>-1</sup> N]		
Vzorek kultivovaný ve fotobioreaktoru	Vzorek kultivovaný v laboratoři	
AA	mean ± S.D.	mean ± S.D.
<b>Val</b>	4,15±0,20	4,21±0,07
<b>Leu</b>	5,87±0,31	6,38±0,12
<b>Ile</b>	3,21±0,13	3,41±0,05
<b>Met</b>	2,63±0,12	3,05±0,11
<b>Thr</b>	3,20±0,16	3,56±0,05
<b>Lys</b>	6,43±0,23	6,62±0,11
<b>Phe</b>	3,69±0,07	3,86±0,07
<b>Gly</b>	4,39±0,22	4,30±0,06
<b>Ala</b>	5,72±0,15	5,98±0,07
<b>Cys</b>	3,45±0,24	3,69±0,07
<b>Ser</b>	3,03±0,16	3,20±0,05
<b>Arg</b>	5,80±0,23	5,70±0,13
<b>Asp</b>	5,67±0,21	6,38±0,28
<b>Glu</b>	7,41±0,31	7,91±0,15
<b>Tyr</b>	2,86±0,18	3,09±0,06
<b>His</b>	1,53±0,08	1,62±0,02
<b>Pro</b>	3,52±0,17	4,01±0,21
<b>Σ EAA</b>	29,18	31,09
<b>Σ NEAA</b>	43,37	45,86
<b>Σ AA</b>	72,55	76,95



Obr. 19 Aminokyselinové složení řasy směsného vzorku K1 z různých kultivačních podmínek.

#### 7.2.3.4 Aminokyselinové složení kmene K2

Aminokyselinou zastoupenou v největším množství byla kyselina glutamová  $8,86 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a kyselina asparagová  $7,03 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Naopak nejméně zastoupen byl histidin  $1,57 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou byl metionin  $2,39 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Jedenáct (Gly, Ala, Met, Ser, Thr, Arg, Asp, Glu, Phe, Tyr, Pro) ze sedmnácti analyzovaných aminokyselin bylo stanoveno ve větším množství ve vzorcích z laboratorní kultivace. Výraznější rozdíl v naměřených hodnotách byl zjištěn u cysteinu a lyzinu ve prospěch vzorků z fotobioreaktorů. U metioninu, prolinu a kyseliny glutamové bylo naměřeno větší množství u vzorků, které byly kultivovány v laboratoři. Ve vzorcích z laboratorní kultivace byly u treoninu  $3,75 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a alaninu  $6,43 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  naměřeny nejvyšší hodnoty ze všech analyzovaných vzorků. Izoleucin  $3,51 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a cystein  $3,81 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  byly nejvíce ze všech vzorků zastoupeny u kmene K2 pocházejícího z fotobioreaktorů.

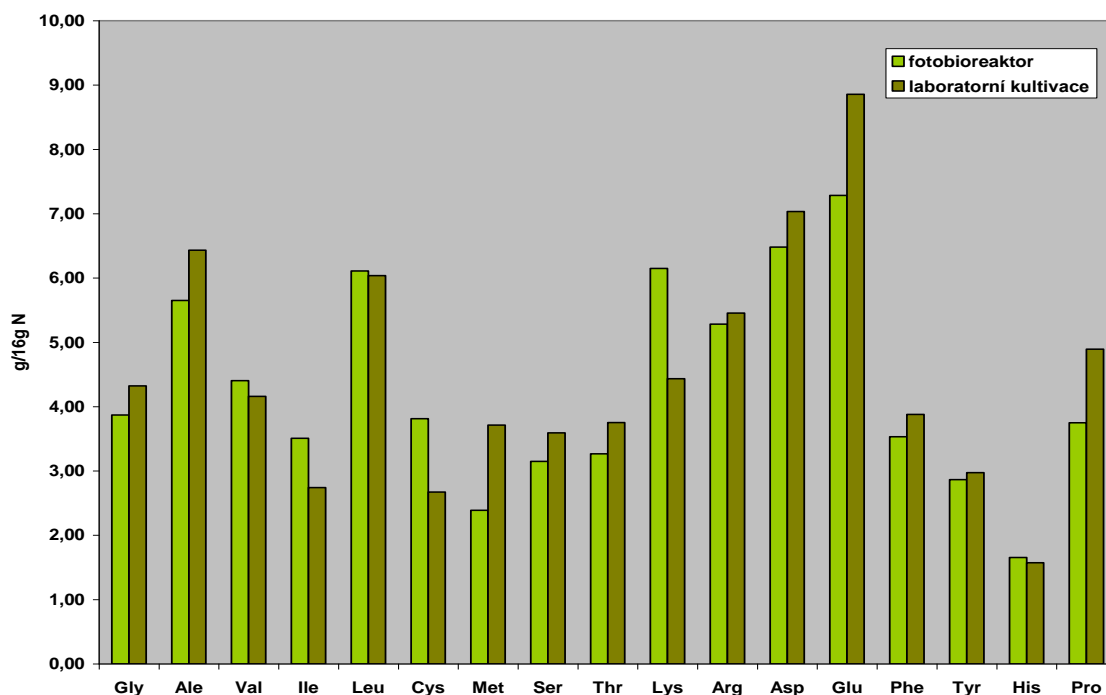
Vzhledem k celkovému obsahu aminokyselin lze usoudit, že podmínky kultivace byly příznivější při laboratorní kultivaci, avšak celkový obsah esenciálních aminokyselin byl vyšší u vzorku z fotobioreaktoru.

Aminokyselinové složení kmene K2 je uvedeno v tabulce 12 a na obr 20.



Tab. 12 Obsah aminokyselin kmene K2.

Obsah AA [g.16g <sup>-1</sup> N]		
	Vzorek kultivovaný ve fotobioreaktoru	Vzorek kultivovaný v laboratoři
AA	mean±S.D.	mean±S.D.
Val	4,40±0,08	4,16±0,09
Leu	6,11±0,29	6,04±0,05
Ile	3,51±0,04	2,74±0,01
Met	2,39±0,11	3,71±0,14
Thr	3,26±0,17	3,75±0,17
Lys	6,15±0,22	4,43±0,03
Phe	3,53±0,14	3,88±0,05
Gly	3,87±0,27	4,32±0,03
Ala	5,65±0,34	6,43±0,19
Cys	3,81±0,25	2,67±0,05
Ser	3,15±0,18	3,59±0,21
Arg	5,28±0,21	5,45±0,50
Asp	6,48±0,22	7,03±0,06
Glu	7,28±0,46	8,86±0,11
Tyr	2,87±0,17	2,97±0,12
His	1,65±0,09	1,57±0,05
Pro	3,75±0,29	4,89±0,23
Σ EAA	29,35	28,71
Σ NEAA	41,41	47,80
Σ AA	70,76	76,51



Obr. 20 Aminokyselinové složení řasy kmene K2 z různých kultivačních podmínek.

### 7.2.3.5 Aminokyselinové složení kmene *Scenedesmus quadricauda*

Nejvíce zastoupenou aminokyselinou byla kyselina glutamová  $9,85 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a kyselina asparagová  $8,36 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou aminokyselinou byl histidin  $1,32 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminokyselinou byl izoleucin  $2,00 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

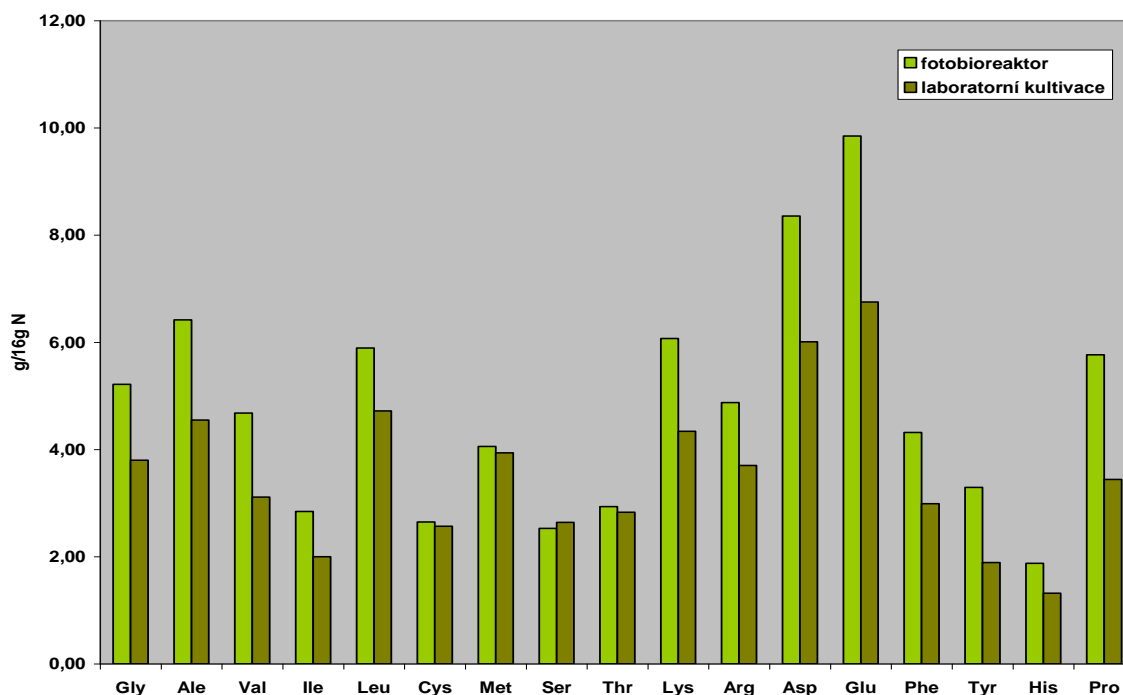
U vzorku kmene *Scenedesmus quadricauda* byl analyzován výrazný rozdíl v celkovém obsahu aminokyselin mezi vzorky kultivovanými ve fotobioreaktoru a v laboratorních podmínkách. Šestnáct ze sedmnácti stanovovaných aminokyselin bylo ve větším množství obsaženo ve vzorku z fotobioreaktoru, přičemž zejména u kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, prolinu a alaninu byly rozdíly větší. Ve vzorku z fotobioreaktoru bylo stanoveno největší množství kyseliny asparagové  $8,36 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , kyseliny glutamové  $9,85 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , prolinu  $5,77 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , glycinu  $5,21 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , valinu  $4,68 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , tyrozinu  $3,29 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , fenylalaninu  $4,32 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , histidinu  $1,88 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a metioninu  $4,06 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ze všech analyzovaných vzorků. Všechny esenciální aminokyseliny byly ve větším množství zastoupeny ve vzorku z fotobioreaktoru.

U kmene *Scenedesmus quadricauda* měly rozdílné podmínky kultivace největší vliv na aminokyselinové složení řasy. Vzhledem k obsahu aminokyselin byly jednoznačně vhodnější kultivační podmínky ve fotobioreaktoru.

Aminokyselinové složení *Scenedesmus quadricauda* je uvedeno v tabulce 13 a na obr. 21.

Tab. 13 Obsah aminokyselin v řase *Scenedesmus quadricauda*.

Obsah AA [g.16g <sup>-1</sup> N]		
	Vzorek kultivovaný ve fotobioreaktoru	Vzorek kultivovaný v laboratoři
AA	mean±S.D.	mean±S.D.
<b>Val</b>	4,68±0,22	3,11±0,13
<b>Leu</b>	5,89±0,50	4,72±0,20
<b>Ile</b>	2,84±0,17	2,00±0,13
<b>Met</b>	4,06±0,33	3,94±0,11
<b>Thr</b>	2,93±0,21	2,83±0,13
<b>Lys</b>	6,07±0,16	4,34±0,19
<b>Phe</b>	4,32±0,19	2,99±0,12
<b>Gly</b>	5,21±0,44	3,80±0,20
<b>Ala</b>	6,42±0,51	4,55±0,22
<b>Cys</b>	2,65±0,08	2,57±0,18
<b>Ser</b>	2,53±0,15	2,64±0,08
<b>Arg</b>	4,88±0,38	3,70±0,09
<b>Asp</b>	8,36±0,36	6,01±0,38
<b>Glu</b>	9,85±0,52	6,75±0,30
<b>Tyr</b>	3,29±0,25	1,89±0,01
<b>His</b>	1,88±0,01	1,32±0,09
<b>Pro</b>	5,77±0,23	3,44±0,04
<b>Σ EAA</b>	30,79	23,93
<b>Σ NEAA</b>	50,83	36,67
<b>Σ AA</b>	81,62	60,60



Obr. 21 Aminokyselinové složení řasy *Scenedesmus quadricauda* z různých kulti-  
vačních podmínek.

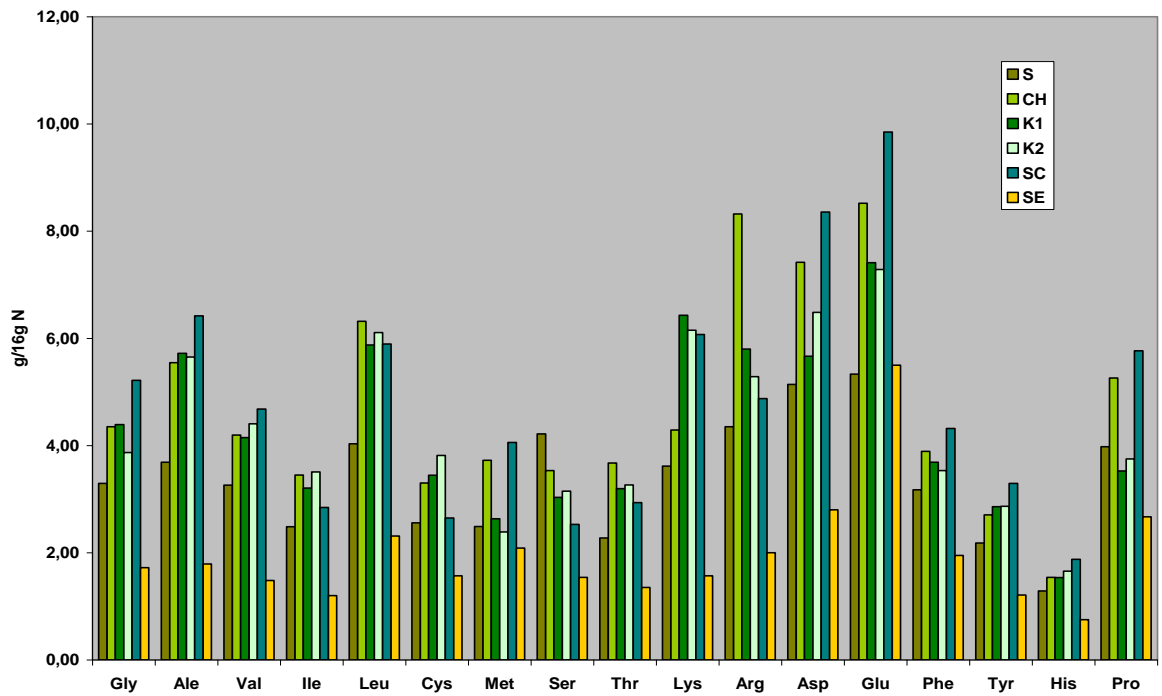
#### 7.2.4 Aminokyselinové složení *Salicornia europea* v porovnání se složením řas

Stejně jako u zkoumaných vzorků řas byla kyselina glutamová nejvíce zastoupenou amino-  
kyselinou i ve vzorku rostliny *Salicornia europea*. Její obsah byl téměř dvojnásobný  
 $5,5 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , než obsah druhé nejvíce zastoupené kyseliny asparagové  $2,8 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nej-  
více zastoupenou esenciální aminokyselinou byl leucin  $2,31 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupe-  
nou aminokyselinou byl histidin  $0,75 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Nejméně zastoupenou esenciální aminoky-  
selinou *Salicornia europea* byl stejně jako u kmene *Scenedesmus quadricauda* izoleucin  
 $1,2 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ , kdežto u kmene K1 a K2 to byl metionin a ve vzorcích *Spirulina platensis* a  
*Chlorella kessleri* to byl treonin.

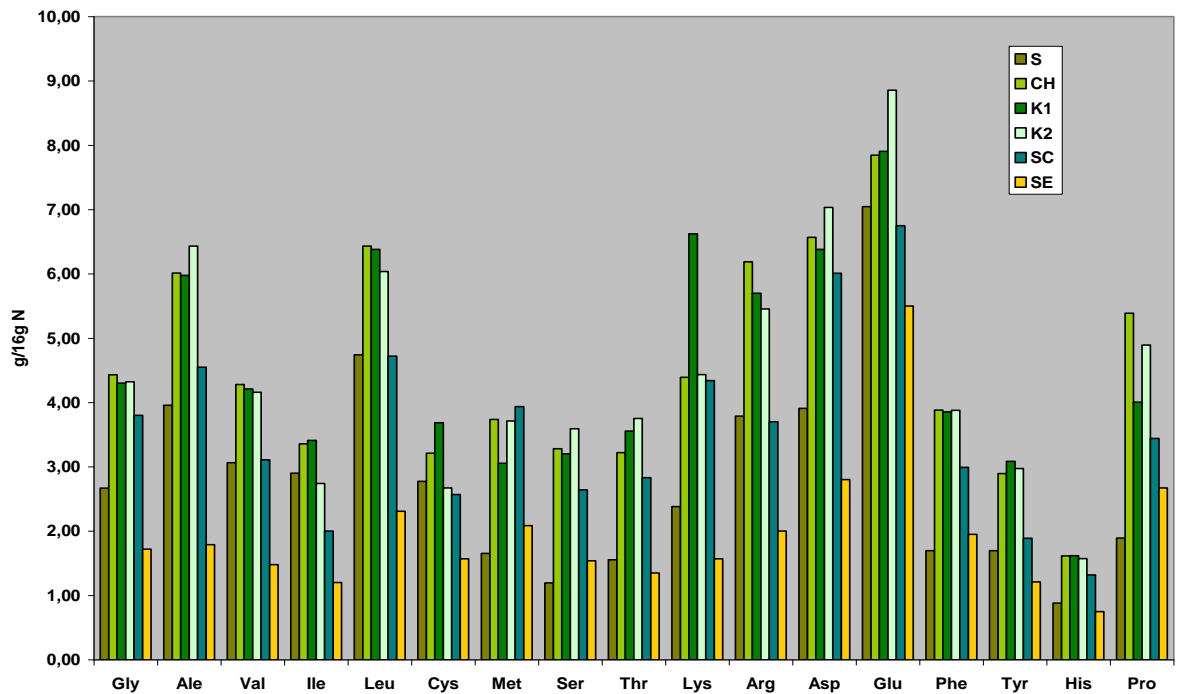
Aminokyselinové složení *Spirulina platensis* je uvedeno v tabulce 14 a srovnání obsahů  
aminokyselin v rostlině *Salicornia europea* s obsahy aminokyselin analyzovaných vzorků  
z kultivace ve fotobioreaktoru a v laboratoři jsou znázorněny na obr. 22 a obr. 23.

Tab. 14 Obsah aminokyselin v *Salicornia europea*.

<b>Obsah AA [g.16g<sup>-1</sup> N]</b>	
<b>AA</b>	<b>mean ± S.D.</b>
<b>Val</b>	1,48±0,06
<b>Leu</b>	2,31±0,12
<b>Ile</b>	1,20±0,02
<b>Met</b>	2,09±0,07
<b>Thr</b>	1,35±0,05
<b>Lys</b>	1,57±0,07
<b>Phe</b>	1,95±0,02
<b>Gly</b>	1,72±0,09
<b>Ala</b>	1,79±0,08
<b>Cys</b>	1,57±0,04
<b>Ser</b>	1,54±0,04
<b>Arg</b>	2,00±0,08
<b>Asp</b>	2,80±0,07
<b>Glu</b>	5,50±0,12
<b>Tyr</b>	1,21±0,03
<b>His</b>	0,75±0,03
<b>Pro</b>	2,67±0,15
<b>Σ EAA</b>	11,95
<b>Σ NEAA</b>	23,55
<b>Σ AA</b>	35,50



Obr. 22 Aminokyselinové složení vzorků sinice a řas z fotobioreaktoru a *Salicornia europea*.



Obr. 23 Aminokyselinové složení vzorků sinice a řas kultivovaných v laboratoři a *Salicornia europea*.

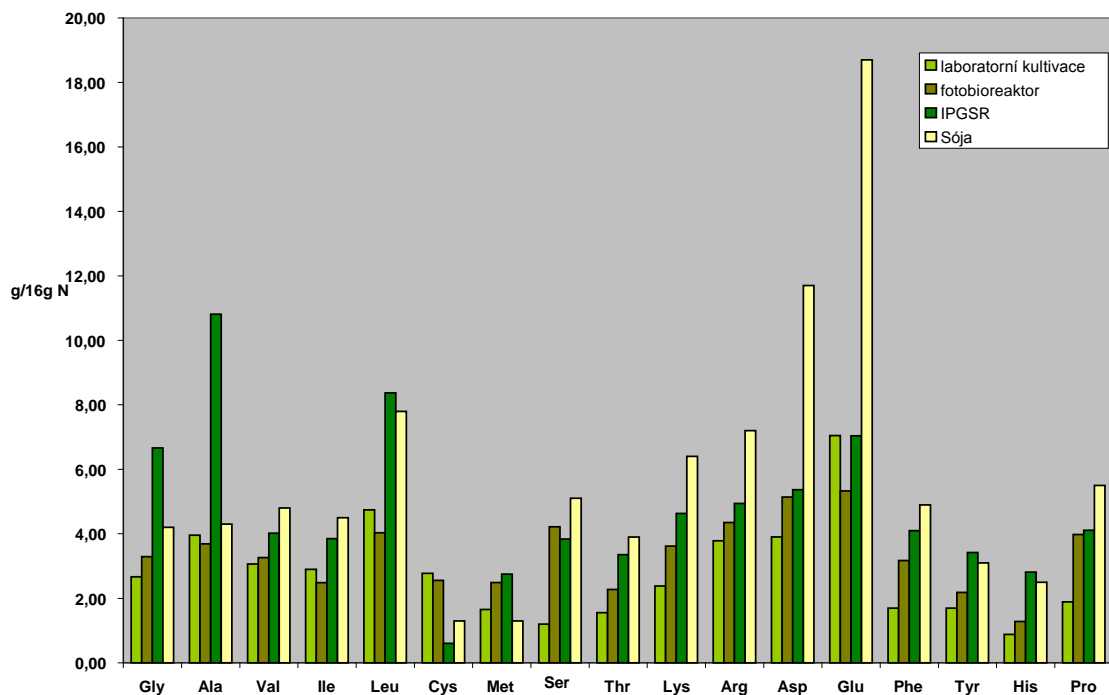
S ostatními analyzovanými vzorky byl ve vzorku *Salicornia europea* srovnatelný obsah kyseliny glutamové, jejíž obsah byl  $5,5 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . *Spirulina platensis* kultivovaná ve fotobioreaktoru obsahovala  $5,33 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  kyseliny glutamové. Rovněž obsah metioninu  $2,09 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  ve vzorku *Salicornia europea* je srovnatelný s obsahem ve vzorku *Spirulina platensis*, která ve vzorku z fotobioreaktoru obsahovala  $2,49 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a ve vzorku z laboratoře to bylo méně,  $1,66 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ .

Také obsah serinu  $1,54 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  byl u *Salicornia europea* vyšší než u *Spiruliny platensis* z laboratorní kultivace, ta obsahovala pouze  $1,20 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$ . Dále obsah fenylalaninu  $1,95 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  a prolinu  $2,67 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  byl u *Salicornia europea* vyšší než u *Spiruliny platensis* z laboratorní kultivace, která obsahovala  $1,70 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  fenylalaninu a  $1,89 \text{ g} \cdot 16\text{g}^{-1} \text{ N}$  prolinu.

Obsah ostatních aminokyselin byl ve vzorku rostliny *Salicornia europea* výrazně nižší než u analyzovaných vzorků sinice a řas.

### 7.2.5 Porovnání aminokyselinového složení analyzovaných vzorků s publikovanými údaji

Chemické složení řas je ovlivněno kultivačními podmínkami a také lokalitou kultivace. Aminokyselinové složení námi analyzovaných vzorků bylo srovnáno s publikovanými údaji. Množství jednotlivých stanovovaných aminokyselin ve dvou sadách vzorků *Spirulina platensis* pocházejících z fotobioreaktoru a z laboratorní kultivace z Ústavu fyzikální biologie JČU v Nových Hradech bylo porovnáno se vzorkem *Spirulina platensis*, který byl analyzován v IPGSR (Institute of Post-graduate Studies and Research laboratory) v Malajsii. Obsahy aminokyselin ve třech různých vzorcích *Spirulina platensis* byly srovnány také s obsahem jednotlivých aminokyselin v sóji. Srovnání obsahů aminokyselin je znázorněno na obr. 24.



Obr. 24 Porovnání aminokyselinového složení sinice *Spirulina platensis* z Ústavu fyzikální biologie JČU v Nových Hradech a z IPGSR v Malajsii a se sójovou bílkovinou.

Ve vzorku *Spirulina platensis* z IPGSR v Malajsii bylo zjištěno, že nejvíce zastoupenou aminokyselinou byl alanin. V námi analyzovaných vzorcích to byla kyselina glutamová. Výrazně vyšší byl u sinice *Spirulina platensis* z IPGSR obsah leucinu, glycínu a histidinu, naopak tento vzorek obsahoval méně cysteinu. Z porovnání tří vzorků *Spirulina platensis* vyplývá, že jejich aminokyselinové složení se liší a kromě kultivačních podmínek může být ovlivněno i lokalitou jejich kultivace [28].

Ve srovnání aminokyselinového složení *Spirulina platensis* se vzorkem sóji bylo zjištěno, že sója obsahuje mnohem větší množství kyseliny glutamové a asparagové, nejméně obsahuje siřných aminokyselin, které jsou zároveň jejími limitujícími aminokyselinami [40].



## ZÁVĚR

Cílem práce bylo stanovení aminokyselin ve vybraných druzích sladkovodních řas. Analyzovány byly tyto kmeny sladkovodních řas: *Chlorella kessleri*, *Scenedesmus quadricauda* a zkušební kmeny K1 (směsný vzorek složený z 60 % *Scenedesmus quadricauda* + 40 % kmene K1) a K2. Dalším analyzovaným vzorkem byla sinice *Spirulina platensis*. Ze získaných výsledků čtyř kmenů sladkovodních řas a jednoho kmene sinice bylo zjištěno, že se jedná o velmi kvalitní zdroje bílkovin s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin. Kultivace analyzovaných vzorků řas a sinice byla autotrofní a byla provedena v laboratorních podmínkách a ve fotobioreaktoru.

*Salicornia europea* je sukulent, který má podobné využití jako řasy a sinice, proto byl součástí této práce. Výsledky stanovení však ukazují, že celkový obsah aminokyselin v *Salicornia europea* 35,5 g.16g<sup>-1</sup> N je v porovnání s analyzovanými řasami poloviční.

Mezi analyzovanými vzorky kultivovanými v laboratorních podmínkách a ve fotobioreaktoru nebyl prokázán přímý vztah mezi koncentrací média a obsahem aminokyselin. Nejvyšší celkový obsah aminokyselin byl stanoven ve vzorku řasy *Scenedesmus quadricauda* 81,62 g.16g<sup>-1</sup> N z kultivace ve fotobioreaktoru. U téhož kmene byly stanoveny největší změny v obsahu celkového množství aminokyselin v závislosti na způsobu kultivace, přičemž kultivace ve fotobioreaktorech byla jednoznačně vhodnější. Nejmenší celkové množství aminokyselin 47,80 g.16g<sup>-1</sup> N z analyzovaných vzorků řas a sinice obsahovala *Spirulina platensis* kultivovaná v laboratoři.

Nejvíce zastoupenou aminokyselinou ve všech analyzovaných vzorcích byla kyselina glutamová. Naopak nejméně zastoupenou aminokyselinou byl ve všech analyzovaných vzorcích histidin.

Celkový obsah aminokyselin byl u vzorku *Spirulina platensis*, *Chlorella kessleri* a *Scenedesmus quadricauda* vyšší v sadě vzorků pocházejících z kultivace ve fotobioreaktorech. Celkový obsah aminokyselin u zkušebních kmenů K1 a K2 byl vyšší v sadě vzorků pocházejících z laboratorní kultivace. Největší vliv kultivačních podmínek na aminokyselinové složení byl zjištěn u sinice *Spirulina platensis* a u řasy kmene *Scenedesmus quadricauda*.

Nejbohatším zdrojem esenciálních aminokyselin byl kmen K1 31,09 g/16g N pocházející z laboratorní kultivace. Velmi podobné hodnoty byly naměřeny u kmene K2, *Chlorella kessleri* a *Scenedesmus quadricauda*. U kmene *Scenedesmus quadricauda* však pouze u

vzorku pocházejícího z fotobioreaktoru. Nejvíce zastoupenými esenciálními aminokyselinami byly leucin a lyzin. Naopak nejméně zastoupenými esenciálními aminokyselinami byly treonin a izoleucin. Tryptofan stanoven nebyl.

Bylo provedeno porovnání námi analyzovaných vzorků *Spirulina platensis* s aminokyselinovým složením *Spirulina platensis* analyzované v IPGSR. Výrazné rozdíly byly naměřeny u aminokyselin alaninu, glycinu a leucinu. Obsah ostatních aminokyselin byl v porovnání se vzorky z Ústavu fyzikální biologie JČU v Nových Hradech podobný.

Porovnání aminokyselinového složení sóji se vzorky *Spirulina platensis* prokázalo, že obsah kyseliny glutamové je v sóji dvojnásobně vyšší než v řasách. Také obsah kyseliny asparagové, leucinu, lyzinu a argininu byl u sójového proteinu výrazně vyšší.

Zelené sladkovodní řasy a sinice jsou kvalitním zdrojem bílkovin s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin. Jejich nutriční hodnota je umocněna obsahem cenných biologicky aktivních látek. Velkoobjemové kultivace sladkovodních řas a sinic jako zdroje kvalitních bílkovin jsou velkým potenciálem pro země třetího světa, kde lidé trpí podvýživou typu kwashiorkor z nedostatku bílkovin. Ve vyspělých státech jsou sladkovodní řasy a sinice kultivovány spíše za účelem zisku biologicky aktivních látek, jelikož přísun kvalitních bílkovin je pokryt běžnou stravou.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] *Oddělení Chlorophyta - zelené řasy* [online] [cit. 2010-04-20]. Dostupný z WWW: <http://www.sinicearasy.cz/pokr/Chlorophyta>
- [2] ŠPAČEK, J. Hlenky, houby, řasy. Brno: Masarykova univerzita, 1999. 79-110 s. ISBN 80-210-2157-8.
- [3] LARCHER, W. Fyziologická ekologie rostlin. 1.vyd. Praha: Academia, 1988. 179s.
- [4] LEDERER, F., LUKAVSKÝ, J. Řasy Šumavy [online] [cit. 2010-04-19]. Dostupný z WWW: [http://www.sinicearasy.cz/files/Lederer\\_Lukavsky\\_2003.pdf](http://www.sinicearasy.cz/files/Lederer_Lukavsky_2003.pdf)
- [5] MIŠURCOVÁ, L., BUŇKA, F., KRÁČMAR, S. Zhodnocení obsahů aminokyselin v produktech ze sladkovodních a mořských řas In Proteiny 2008. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. 114s. ISBN 978-80-7318-706-4
- [6] PAPÁČEK, Š., ŽITNÝ, R. Modelování růstu čas ve fotobioreaktorech: hybridní multicompartiment/CDF přístup [online] [cit. 2010-04-18]. Dostupný z WWW: <http://www.alga.cz/users/papacek/papers/Papacek-Rybnik04.pdf>
- [7] HARTMAN, P., PŘIKRYL, I., ŠTĚDRONSKÝ, E. Hydrobiologie. 3. vyd. Praha: Informatorium, 2005.
- [8] NĚMCOVÁ, L. Fylogeneze a systém nižších rostlin. Ústí na Labem: Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, 2006 [online] [cit. 2010-04-20]. Dostupný z WWW: [http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory/Fylogeneze\\_nizsich\\_rostlin.pdf](http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory/Fylogeneze_nizsich_rostlin.pdf)
- [9] ROZSYPAL, S. Nový přehled Biologie. Praha: Scientia, 2003. ISBN 80-7183-268-5.
- [10] *Systém a vývoj sinic a čas* [online] [cit. 2010-04-18]. Dostupný z WWW: <http://www.sci.muni.cz/botany/studium/nr-rasy.htm>
- [11] DESORTOVÁ, B. Algologie, Studijní distanční text. Praha, 2010 [online] [cit. 2010-04-19]. Dostupný z WWW: [http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory\\_ukazky/Algologie%20text.pdf](http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory_ukazky/Algologie%20text.pdf)
- [12] *Využití vodních rostlin.* [online]. [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: [http://web2.mendelu.cz/af\\_224\\_rybari/dok%20rybari/botany/Vyuziti.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_224_rybari/dok%20rybari/botany/Vyuziti.pdf)
- [13] *Přehled hlavních taxonů bakterií, sinic a řas* [online] [cit. 2010-04-18]. Dostupný z WWW: [http://web2.mendelu.cz/af\\_224\\_rybari/dok%20rybari/hydrobot.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_224_rybari/dok%20rybari/hydrobot.pdf)

- [14] MIŠURCOVÁ, L., STRATILOVÁ, I., KRÁČMAR, S. Obsah minerálních látek ve vybraných produktech z mořských a sladkovodních řas. *Chemické listy*, 2009, 103, 1027-1033.
- [15] *Chlorella pool* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: <http://www.fineusa.us/images/chlorellapool.jpg>
- [16] *Algae reactor* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://www.hielscher.com/image/algae\\_reactor\\_p0300.jpg](http://www.hielscher.com/image/algae_reactor_p0300.jpg)
- [17] *Chlorella* [online] [cit. 2010-04-18]. Dostupný z WWW: <http://www.chlorella.cz/>
- [18] PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, vol. 57, no. 3, p. 287-293.
- [19] ZELINKA M., SLÁDEČEK V. Hydrobiologie pro vodohospodáře. 1. vyd. Praha: SNTL, 1964. 211 s.
- [20] *Chlorella* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://3.bp.blogspot.com/\\_SG9jRGkU\\_uk/SZt0Oe5gCII/AAAAAAAAAOA/XCmhsi2GdI0/s400/20\\_Chlorella.jpg](http://3.bp.blogspot.com/_SG9jRGkU_uk/SZt0Oe5gCII/AAAAAAAAAOA/XCmhsi2GdI0/s400/20_Chlorella.jpg)
- [21] *Impérium: Prvojaderní - Prokaryota*. [online] [cit. 2010-04-19]. Dostupný z WWW: [www.ped.muni.cz/wbio/studium/Ucit\\_mat/rasykarty.doc](http://www.ped.muni.cz/wbio/studium/Ucit_mat/rasykarty.doc)
- [22] *Scenedesmus* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: <http://www.glerl.noaa.gov/seagrant/GLWL/Algae/Chlorophyta/Images/OUScene.JPG>
- [23] CIFERRI, O. *Spirulina*, the Edible Mikroorganism. *Microbiological reviews*, 1983, 47, p.551-578.
- [24] *Oddělení CYANOBACTERIA (CYANOPHYTA) - Sinice* [online] [cit. 2010-04-21]. Dostupný z WWW: <http://www.sci.muni.cz/botany/studium/nr-rasy.htm#cyanobacteria>
- [25] *Sinice* [online] [cit. 2010-04-22]. Dostupný z WWW: <http://algologie.upol.cz/files/system/Sinice.pdf>
- [26] *Spirulina* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: <http://starfishproject.files.wordpress.com/2008/10/spirulina.jpg>
- [27] *Spirulina* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://www.auroville.org/health/images/spirulina\\_spi.jpg](http://www.auroville.org/health/images/spirulina_spi.jpg)

- [28] HABIB, M.A.B. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Rome: FAO, 2008. 1-8s. ISBN 978-92-5-106106-0
- [29] KOUTECKÝ, P., KÚR, P. *Chenopodiaceae, Amaranthaceae* - Určovací seminář 2010 [online] [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: [botanika.bf.jcu.cz/materials/Urcsem/Chenopodiaceae1.ppt](http://botanika.bf.jcu.cz/materials/Urcsem/Chenopodiaceae1.ppt)
- [30] *Salicornia prostrata* [online] [cit. 2010-04-18]. Dostupný z WWW: <http://botany.cz/cs/salicornia-prostrata/>
- [31] *Salicornia europea* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://wpcontent.answers.com/wikipedia/commons/thumb/3/3b/Salicornia\\_europaea\\_MS\\_0802.JPG/300px-Salicornia\\_europaea\\_MS\\_0802.JPG](http://wpcontent.answers.com/wikipedia/commons/thumb/3/3b/Salicornia_europaea_MS_0802.JPG/300px-Salicornia_europaea_MS_0802.JPG)
- [32] *Salicornia europea* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: <http://botany.cz/foto/salicorniaprostrataherb1.jpg>
- [33] BRÁZDOVÁ, Z. Kapitoly o výživě člověka, učební text pro posluchače pedagogické fakulty MU Brno. 1993. 11-14s.
- [34] VOKURKA, M. Velký lékařský slovník. 8. vyd., Praha: Maxdorf, 2009. ISBN 978-80-7345-166-0
- [35] DOSTÁL, J., KAPLAN, P. Lékařská chemie II. Brno: Masarykova univerzita, 2004. 177-194s. ISBN 80-210-2731-2.
- [36] HOLEČEK, M. Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin. 1. vydání, Praha: Grada Publishing, 2006. 147-214s. ISBN 80-247-1562-7.
- [37] MÜLLEROVÁ, D. Zdravá výživa a prevence civilizačních nemocí ve schématech. Praha: Triton, 2003. 18-19s. ISBN 80-7254-421-7
- [38] LEDVINA, M. Biochemie pro studující medicíny I.díl. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova - Nakladatelství Karolinum, 2004. 215-250s. ISBN 80-246-0849-9.
- [39] WILHELM, Z. Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy. Brno: Masarykova univerzita, 2003. 63s. ISBN 80-210-2837-8
- [40] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 1. 1.vydání, Tábor: Osis, 1999. 3-52s. ISBN 80-902391-3-7.
- [41] LIŠKA, M. Úvod do imunologie [online] [cit. 2010-04-26]. Dostupný z WWW: <http://www.lfp.cuni.cz/Imunologie/Prednasky/Prednaska250209.ppt>

- [42] *Bílkoviny* [online] [cit. 2010-03-10]. Dostupný z WWW: [http://home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/vyz/pred\\_02b.pdf](http://home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/vyz/pred_02b.pdf)
- [43] MASOPUST, J. *Metabolismus proteinů* [online] [cit. 2010-03-12]. Dostupný z WWW: <http://web.telecom.cz/dotdiag/dokument/patobio/metabol.pdf>
- [44] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie I.* 1.vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 72-95s. ISBN 80-7318-495-8
- [45] *Aminokyseliny* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://www.vscht.cz/zkp/ustav/skripta/AP/02/AP\\_3.pdf](http://www.vscht.cz/zkp/ustav/skripta/AP/02/AP_3.pdf)
- [46] GROFOVÁ, Z. *Nutriční podpora.* 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2007. 70-73s. ISBN 978-80-247-1868-2.
- [47] *Aminokyseliny* [online] [cit. 2010-02-23]. Dostupný z WWW: <http://www.biochemie.euweb.cz/Biochemie/Aminokyseliny.ppt>
- [48] *Introduction to Amino Acis Metabolism* [online] [cit. 2010-02-19]. Dostupný z WWW: <http://themedicalbiochemistrypage.org/amino-acid-metabolism.html#intro>
- [49] MURRAY, R.K. *Harperova Biochemie.* 4.vyd. Praha: Nakladatelství H+H, 2002.
- [50] *Metabolismus aminokyselin* [online] [cit. 2010-02-23]. Dostupný z WWW: [mefanet-motol.cuni.cz/download.php?fid=144](http://mefanet-motol.cuni.cz/download.php?fid=144)
- [51] NELSON, D.L. *Principles of biochemistry.* New York: Freeman and company, 2008. 685- s. ISBN 978-0-7167-7108-1.
- [52] *Odbourávání fenylalaninu* [online] [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: <http://ibiochemie.upol.cz/WebGraphics/biochemie/download/Modul-06.ppt>
- [53] *Biosynthesis of Glycine and Serine*[online] [cit. 2010-04-26]. Dostupný z WWW: <http://www.biocarta.com/pathfiles/GlycinePathway.asp>
- [54] *Integrace a regulace savčího energetického metabolismu* [online] [cit. 2010/04/26]. Dostupný z WWW: <http://ibiochemie.upol.cz/WebGraphics/biochemie/download/Modul-12.ppt>
- [55] *Syntéza cysteinu* [online] [cit. 2010-04-25]. Dostupný z WWW: [www.lfhk.cuni.cz/kohler/vyuka/seminar/AK.ppt](http://www.lfhk.cuni.cz/kohler/vyuka/seminar/AK.ppt)
- [56] *Syntéza serinu* [online] [cit. 2010-04-24]. Dostupný z WWW: [http://www.metabolic-databasa.com/html/body\\_serin\\_\\_metabolic\\_scheme.html](http://www.metabolic-databasa.com/html/body_serin__metabolic_scheme.html)
- [57] KARLSON, P., GEROK, W., GROSS, W. *Pathobiochemie.* Praha: Academia, 1987. 90-99s.

- [58] KOŠTÍŘ, J. Biochemie. Praha: Avicenum, 1974. 164-165s.
- [59] CIBULKA, R. Metabolické účinky karnitinu a jeho význam v medicíně. *Klinická chemie a metabolismus*, 2005, roč. 13, č. 1, s. 24-27. Dostupný z WWW: [http://nts.prolekare.cz/cls/odkazy/kbm0501\\_24.pdf](http://nts.prolekare.cz/cls/odkazy/kbm0501_24.pdf)
- [60] HOŘEJŠÍ, J., MAŠEK, K., PUDLÁK, P. Základy klinické biochemie ve vnitřním lékařství. Praha: Avicenum, 1970.
- [61] Analýza a hodnocení potravin I. Distanční text. Cepac Morava, 2007. 75-21s.
- [62] POMERANZ, Y. Food analysis. Aspen Publishers, Inc, 2000. 733-761s. ISBN 0-8342-1826-7.
- [63] KUBÁŇ, V. Analýza potravin. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. 63-67s. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [64] *Stanovení aminokyselin v krmivech* [online] [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: <http://hplc1.sweb.cz/Amk/amk.htm>
- [65] LIŠKA, I., KRÁČMAR, S. Současný stav a trendy v přípravě hydrolyzátů ke stanovení aminokyselin vázaných v bílkovinách a peptidech. Sborník příspěvků z II. Semináře věnovaného stanovení aminokyselin. Brno: MZLU, 2000. 18-27s. ISBN 80-7157-450-3.
- [66] *Stanovení obsahu aminokyselin* [online] [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: [http://www.ukzuz.cz/Print/Articles/Uploads/109246-7-21\\_Stanoveni\\_obsahu\\_aminokyselinpdf.aspx](http://www.ukzuz.cz/Print/Articles/Uploads/109246-7-21_Stanoveni_obsahu_aminokyselinpdf.aspx)
- [67] Analyzátor aminokyselin AAA 400 [online] [cit. 2010-04-23]. Dostupný z WWW: <http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzator-aminokyselin-aaa-400>
- [68] KLOUDA, P. Moderní analytické metody. 2.vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 10-34s. ISBN 80-86369-07-2.
- [69] CAZES, J. Encyclopedia of chromatography. Florida Atlantic University: Marcel Dekker, Inc, 2001. 26s. ISBN 0-8247-0511-4.
- [70] TARTIEL, M. B., IBRAHIM, E. M., ZEINHOM, M.M. *Partial replacement of fish meal with dried microalga (Chlorella spp and Scenedesmus spp) in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) diets.* [online] [cit. 2010-04-22]. Dostupný z WWW: [ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA8/TARTIEL.doc](http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA8/TARTIEL.doc)

- [71] ŠTULÍK, K. Analytické separační metody. Praha: Karolinum, 2005. 180-181s. ISBN 80-246-0852-9.
- [72] YONGZHONG, L., XUECHENG, Z. The upstream sequence of the phycocyanin b subunit gene from *Arthrospira platensis* regulates expression of gfp gene in response to light intensity, 2005, vol. 8, no. 1. [online] [cit. 2010-04-19]. Dostupný z WWW: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol8/issue1/full/9/index.html>



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

%	procento
AA	aminokyselina
ALT	alaninaminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
BCAA	branched-chain amino acid
CGF	chlorela růstový faktor
ČSAV	Československá akademie věd
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EAA	esenciální aminokyselina
GABA	Γ-aminomáselná kyselina
HPLC	vysokotlaká kapalinová chromatografie
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě
L-DOPA	L-hydroxyfenylalanin
NEAA	neesenciální aminokyselina
PAPS	fosfoadenosylfosfosulfátu
PBC	fotobioreaktor
SAHC	S-adenosylhomocystein
SAMe	S-adenosylmetionin
tRNA	transferová ribonukleová kyselina
Ala	alanin
Arg	arginin
His	histidin
Cys	cystein
Gly	glycin
Ile	Izoleucin
Asp	kyselina asparagová
Glu	kyselina glutamová
Leu	leucin
Lys	lyzin
Met	metionin
Phe	fenylalanin

Pro	prolin
Ser	serin
Thr	treonin

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Otevřený systém kultivace</i> .....	16
<i>Obr. 2 Fotobioreaktor</i> .....	16
<i>Obr. 3 Chlorella pyrenoidosa</i> .....	17
<i>Obr. 4 Scenedesmus quadricauda</i> .....	18
<i>Obr. 5 Spirulina platensis</i> .....	19
<i>Obr. 6 Spirulina platensis – biomasa</i> .....	19
<i>Obr. 7 Salicornia europea</i> .....	20
<i>Obr. 8 Podzimní zbarvení Salicornia europea</i> .....	20
<i>Obr. 9 Biosyntéza glycinu</i> .....	27
<i>Obr. 10 Glukózo-alaninový cyklus</i> .....	29
<i>Obr. 11 Biosyntéza cysteinu</i> .....	31
<i>Obr. 12 Syntéza serinu</i> .....	33
<i>Obr. 13 Metabolizmus fenylalaninu a tyrozinu</i> .....	39
<i>Obr. 14 Srovnání obsahu dusíkatých látek ve vzorcích řas kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a ve vzorku rostliny Salicornia europea</i> .....	58
<i>Obr. 15 Porovnání celkového obsahu aminokyselin v řasách kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a rostliny Salicornia europea</i> .....	61
<i>Obr. 16 Srovnání celkového obsahu esenciálních aminokyselin v řasách kultivovaných ve fotobioreaktorech a v laboratorních podmínkách a v rostlině Salicornia europea</i> .....	63
<i>Obr. 17 Aminokyselinové složení sinice Spirulina platensis z různých kultivačních podmínek</i> .....	65
<i>Obr. 18 Aminokyselinové složení řasy Chlorella kessleri z různých kultivačních podmínek</i> .....	67

<i>Obr. 19 Aminokyselinové složení řasy směsného vzorku K1 z různých kultivačních podmínek .....</i>	<i>69</i>
<i>Obr. 20 Aminokyselinové složení řasy kmene K2 z různých kultivačních podmínek .....</i>	<i>71</i>
<i>Obr. 21 Aminokyselinové složení řasy Scenedesmus quadricauda z různých kultivačních podmínek .....</i>	<i>73</i>
<i>Obr. 22 Aminokyselinové složení vzorků sinice a řas z fotobioreaktoru v porovnání se Salicornia europea .....</i>	<i>75</i>
<i>Obr. 23 Aminokyselinové složení vzorků sinice a řas kultivovaných v laboratoři v porovnání se Salicornia europea .....</i>	<i>75</i>
<i>Obr. 24 Porovnání aminokyselinového složení sinice Spirulina ve dvou sadách vzorků z Ústavu fyzikální biologie JČU v Nových Hradech s jinou studií Spiruliny a se sojovou bílkovinou .....</i>	<i>77</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1 Charakteristika analyzovaných vzorků</i> .....	52
<i>Tab. 2 Obsah dusíkatých látek v analyzovaných vzorcích</i> .....	57
<i>Tab. 3 Celkový obsah aminokyselin ve vzorcích kultivovaných ve fotobioreaktorech [g.16g<sup>-1</sup>.N]</i> .....	59
<i>Tab. 4 Celkový obsah aminokyselin ve vzorcích kultivovaných v laboratoři [g.16g<sup>-1</sup>.N] .....</i>	60
<i>Tab. 5 Celkový obsah aminokyselin ve vzorku rostliny Salicornia europea [g.16g<sup>-1</sup>.N]</i> ....	60
<i>Tab. 6 Obsah esenciálních aminokyselin v g.16g<sup>-1</sup>N ve vzorcích z fotobioreaktoru</i> .....	62
<i>Tab. 7 Obsah esenciálních aminokyselin v g.16g<sup>-1</sup>N ve vzorcích z laboratorní kultivace .....</i>	62
<i>Tab. 8 Obsah esenciálních aminokyselin v g.16g<sup>-1</sup>N ve vzorku rostliny Salicornia europea .....</i>	62
<i>Tab. 9 Obsah aminokyselin Spirulina platensis</i> .....	64
<i>Tab. 10 Obsah aminokyselin Chlorella kessleri</i> .....	66
<i>Tab. 11 Obsah aminokyselin směsného vzorku K1</i> .....	68
<i>Tab. 12 Obsah aminokyselin kmene K2</i> .....	70
<i>Tab. 13 Obsah aminokyselin v řase Scenedesmus quadricauda</i> .....	72
<i>Tab. 14 Obsah aminokyselin v Salicornia europea</i> .....	74