

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Syrovátkové koncentráty ve výživě
Zuzana Škraňková

Bakalářská práce
2017

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Whey proteins in nutrition

Zuzana Škraňková

Bachelor thesis

2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana Škraňková**
Osobní číslo: **C14059**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Syrovátkové koncentráty ve výživě**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. S využitím dostupné odborné literatury vypracujte vědeckou kompilaci na téma syrovátkových proteinů/koncentrátů s ohledem na jejich roli ve výživě.
2. V první části popište, co to jsou syrovátkové proteiny, hlavní zástupce a v jakém typu potravinových doplňků se vyskytují nejvíce. Dále popište jejich roli ve výživě.
3. V poslední části se zaměřte na technologické postupy a laboratorní metody související s jejich zpracováním a analýzou. Zmiňte porovnání se sójovými proteiny (pro a proti).

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Odborné vědecké práce, dostupné v databázích SCOPUS, WOS, Sciencedirect apod.

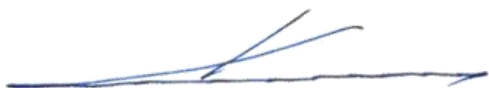
Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 19. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Zuzana Škraňková

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala své vedoucí práce RNDr. Lucii Korecké, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a ochotu, které mi pomohly při zpracování bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je rešerší, která se zabývá syrovátkovými proteiny ve výživě, které jsou velmi ceněnou a vyhledávanou složkou. Sirovátkové proteiny jsou využívány především jako součást doplňků stravy sportovců, ale i v kojenecké výživě nebo ve zdravotnictví při speciálních požadavcích na výživu. Sirovátkové proteiny jsou kvalitní mléčné proteiny charakteristické vysokým obsahem esenciálních aminokyselin a aminokyselin s rozvětveným řetězcem.

Dále se tato bakalářská práce zabývá sójovými koncentráty a jejich porovnáním se syrovátkovými proteiny jakožto zdroji živočišných a rostlinných bílkovin.

KLÍČOVÁ SLOVA

syrovátka, syrovátková bílkovina, bílkovina, koncentráty, sója, výživa

ANNOTATION

This bachelor thesis is focused on importance of whey proteins in nutrition, which are very valued and sought-after component. Whey proteins are used mainly as a part of dietary supplements for athletes, but also in baby nutrition or healthcare with special nutrition requirements. Whey proteins are quality milk proteins characterized by high content of essential amino-acids and amino-acid with branched chain.

This thesis is also focused on comparison with soy concentrates as the source of animal and plant proteins.

KEY WORDS

whey, whey protein, protein, concentrate, soya, nutrition

OBSAH

0 ÚVOD	12
1 SYROVÁTKA	13
1.1 Složení syrovátky.....	14
1.2 Syrovátkový protein.....	15
1.2.1 Složení syrovátkového proteinu	16
1.3 Syrovátkový proteinový koncentrát	17
1.4 Syrovátkový proteinový izolát.....	18
1.5 Syrovátkový proteinový hydrolyzát.....	18
2 VYUŽITÍ SYROVÁTKOVÝCH PROTEINŮ	20
2.1 Aplikace syrovátkových proteinů	20
3 SYROVÁTKOVÝ PROTEIN JAKO MAKRONUTRIENT.....	22
4 SÓJA.....	24
4.1 Využití sóji	25
4.2 Sójové koncentráty.....	26
4.3 Sójové izoláty	26
4.4 Výživové a léčivé vlastnosti.....	26
5 TECHNOLOGICKÉ POSTUPY VÝROBY SYROVÁTKOVÝCH KONCENTRÁTŮ.....	28
5.1 Filtrační techniky	29
5.2 „Cross flow“ mikrofiltrace	31
5.3 „Dead-end“ mikrofiltrace	32
5.4 Iontově-výměnná chromatografie (IEC)	32
6 LABORATORNÍ METODY ANALÝZY SYROVÁTKOVÝCH PROTEINŮ	35
6.1 Stanovení dle Kjeldahla	36
6.2 Chromatografické metody	36
6.3 Metoda SDS-PAGE	37
6.4 Identifikace proteinů pomocí infračervené spektrometrie	37
7 POROVNÁNÍ SÓJOVÉHO A SYROVÁTKOVÉHO PROTEINU.....	38
8 ZÁVĚR.....	40
9 ZDROJE.....	41

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Vysrážený kasein a syrovátka	14
Obrázek 2: Syrovátkový protein	19
Obrázek 3: Porovnání aminokyselinového složení živočišných bílkovin	23
Obrázek 4: Rostlina sóji	25
Obrázek 5: Schéma výroby syrovátkových koncentrátů	29
Obrázek 6: Schématické znázornění rozdílů mezi mikrofiltrací, ultrafiltrací, nanofiltrací a reverzní osmózou.....	30
Obrázek 7: Filtrační metody	32
Obrázek 8: Schéma iontové – výměnné chromatografie.....	33

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení sladké a kyselé syrovátky	15
Tabulka 2: Složky, které se v syrovátkovém proteinu nacházejí	17
Tabulka 3: Chemické složení sójových bobů	25
Tabulka 4: Principy membránových procesů	30
Tabulka 5: Obsah syrovátkových frakcí.....	34

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

- WPC – Syrovátkový proteinový koncentrát (Whey protein concentrate)
- WPI – Syrovátkový proteinový izolát (Whey protein isolate)
- WPH – Syrovátkový proteinový hydrolyzát (Whey protein hydrolysate)
- AK – Aminokyselina (Aminoacid)
- BCAA – Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem (Branched chain amino acid)
- BV – Biologická hodnota (Biological value)
- PDCAAS – Hodnota stravitelnosti (Protein digestibility corrected amino acid score)
- PER – Účinnost proteinu (Protein efficiency ratio)
- CFM – Křížová mikrofiltrace (Cross-flow microfiltration)
- MF – Mikrofiltrace (Microfiltration)
- UF – Ultrafiltrace (Ultrafiltration)
- NF – Nanofiltrace (Nanofiltration)
- RO – Reverzní osmóza (Reverse osmosis)
- BSA – Hovězí sérový albumin (Bovine serum albumin)
- GMP – Glykomakropeptid (Glycomacropeptide)
- IEC – Ionově výměnná chromatografie (Ion exchange chromatography)
- GPC – Gelově-permeační chromatografie (Gel permeation chromatography)
- NPU – Využitelnost proteinu (Net protein utilization)

0 ÚVOD

V dnešní době jsou syrovátkové koncentráty velmi vyhledávaným a oblíbeným doplňkem stravy hlavně v oblasti zdravé výživy a sportu. Obsahují velké množství syrovátkových proteinů (30–90%), zbytek tvoří laktóza a mléčný tuk. Obsah jednotlivých látek je specifický pro daný koncentrát. Syrovátkové koncentráty můžeme také nalézt pod označením WPC (z angl. whey protein concentrate), kdy whey je anglické označení pro syrovátku.

Nejvíce se využívají pro výrobu proteinových nápojů vhodných jako doplněk stravy především pro sportovce a to díky rychlé vstřebatelnosti syrovátkových proteinů, nebo při dietách díky nízkému obsahu cukru a vysokému obsahu proteinů.

Syrovátkové koncentráty jsou získávány ze syrovátky, převážně ultrafiltrací. Hlavní surovinou pro výrobu syrovátkových koncentrátů je samotná syrovátka, která vzniká srážením mléka jako vedlejší produkt při výrobě sýrů a tvarohů. Jedná se o živočišný zdroj velmi kvalitních tzv. plnohodnotných bílkovin.

Z hlediska historie se na syrovátku můžeme dívat jako na odpad mlékárenského průmyslu, pro nějž se hledalo uplatnění z důvodu velkého množství produkce a jehož likvidace byla ekologicky náročná. Své uplatnění postupně nacházela v krmivářství, potravinářském průmyslu a farmacii. Dnes jsou syrovátka a její produkty velmi vyhledávanými surovinami nejenom v potravinářství, kde jsou využívány pro zvýšení kvality a nutriční hodnoty potravin. Využívá se i jejich funkčních vlastností.

Tato bakalářská práce se zabývá především využitím syrovátkových proteinových koncentrátů z hlediska lidské výživy, kdy se využívá právě ke zvyšování nutričních hodnot některých potravin nebo k výrobě jednotlivých potravinových doplňků využívaných při potřebě redukce váhy, pro sportovce k podpoře růstu a regeneraci svalové tkáně nebo jako náhražka mateřského mléka u kojenců.

Dále jsou v práci zmíněny informace i o sójových koncentrátech, jejich roli ve výživě jakožto rostlinný zdroj proteinů a následně jsou porovnány se syrovátkovými koncentráty.

1 SYROVÁTKA

Syrovátka je tekutina vznikající při výrobě tvarohů a sýrů. Sýry jakožto tradiční produkty známé již před 8 000 lety, se získávají oddělováním tekutiny (syrovátky) po koagulaci mléka [1].

Dříve byla syrovátka likvidována jako odpad, což způsobovalo velké ekologické zatížení vzhledem k jejímu vyprodukovanému množství právě při výrobě tvarohů a sýrů. Proto byla velká snaha najít nové možnosti jak tento vedlejší produkt využít. Oddělená syrovátka obsahuje ještě asi polovinu sušiny původního mléka [1, 2].

Syrovátka obsahuje velké množství vitamínů a minerálních látek, laktózy a vysoce kvalitních proteinů. Můžeme jí rozdělit podle původu na sladkou a kyselou. Sladká syrovátka je produkována při výrobě sýrů, zatímco kyselá při izolaci kaseinu a výrobě tvarohů [1, 2].

Nejprve byla největší část syrovátky využívána jako krmivo – buď v tekuté, zahuštěné, nebo sušené formě. Její využití v potravinářském průmyslu bylo nejdříve minimální, postupem času ale využití syrovátky v potravinářství začalo stoupat. Můžeme ji využít při výrobě nápojů, pečiva, cukrovinek a tavených sýrů nejčastěji v sušené nebo zahuštěné formě [3].

Dnešní technologie, jako je např. mikrofiltrace nebo iontová chromatografie, umožňují separaci jednotlivých složek syrovátky (laktóza, syrovátkové proteiny v podobě izolátů, koncentrátů, laktoglobuliny, laktalbuminy) [1].

Právě syrovátkové proteiny, koncentrované nebo izolované, jsou vyhledávaným produktem hlavně v oblasti sportovní výživy, dále pak v dietních potravinách a kojenecké výživě. Jsou to speciální výrobky s vysokým obsahem mléčných proteinů, které přispívají ke zvýšení kvality a nutriční hodnoty potravin. Koncentráty syrovátkových proteinů nacházejí i uplatnění v jiných odvětvích než ve výživě, a to díky svým funkčním vlastnostem jako je vaznost vody, emulgační vlastnosti, tvorba gelu aj. [1, 2].



Obrázek 1: Vysrážený kasein a syrovátka (převzato z [4]).

1.1 Složení syrovátky

Syrovátka je jedna ze dvou základních složek mléka, která zůstane po jeho vysrážení. Základní složky mléka tvoří kasein (přibližně 80 %), a syrovátkový protein (do 20 %), dále je pak tvořeno mléčným tukem, enzymy, laktózou a minerálními látkami (hořčík, draslík, sodík, fosfor). Obsahuje i řadu vitamínů, jako jsou vitamíny řady B (B1, B2, B6, B12) a vitamíny E a C [1].

Složení syrovátky je mnohdy rozdílné, záleží na použité technologii zpracování mléka. Obsah syrovátkových proteinů závisí na tepelném ošetření mléka před srážením [5].

V tabulce 1 je znázorněno přibližné složení dvou základních typů syrovátky (kyselé a sladké). Kyselá syrovátka získaná při výrobě tvarohů, obsahuje více popelovin, ale i více vápníku, zatímco do sladké syrovátky, vzniklé při výrobě sýrů, přechází rozpustný kaseinomakropeptid odštěpený syřidlem [1, 5].

Tabulka 1: Složení sladké a kyselé syrovátky (převzato z [1]).

Složka	Sladká syrovátka (%)	Kyselé syrovátka (%)
Sušina	6,0– 6,5	5,0–6,0
Laktóza	4,5–5,0	3,8–4,3
Tuk	0,05–0,2	0,05–0,2
Čistá bílkovina	0,55	0,55
Kyselina mléčná	stopy	až 0,8
Nebílkovinný dusík	0,18	0,18
Popeloviny	0,5	0,8

1.2 Syrovátkový protein

Syrovátkové proteiny (bílkoviny) nesou označení „Whey proteins“ (Whey – anglicky syrovátka). Je to mléčný, vysoce kvalitní protein, obsahující velké množství esenciálních aminokyselin a aminokyselin s větveným řetězcem označovaných jako BCAA (z angl. Branched chain amino acids). Řadíme sem zejména L-leucin, L-Isoleucin, L-valin.

Druhou významnou složkou je protein kasein, který není tak rychle vstřebatelný jako syrovátková bílkovina [6].

Proteiny syrovátky mají dobrou biologickou dostupnost s vysokou biologickou hodnotou. Ta udává, kolik gramů tělesných proteinů je vytvořeno ze 100 g proteinů obsažených ve stravě [7].

Syrovátkové proteiny mají ve struktuře přítomné všechny základní aminokyseliny, a to ve vyšších koncentracích než proteiny rostlinných zdrojů např. proteiny sóji, pšenice, kukuřice [7, 8].

Vysoký obsah BCAA, zejména leucinu, je důležitý pro růst a obnovu tkání, dále je klíčovou aminokyselinou při syntéze nových proteinů [6, 8].

Tyto nově syntetizované proteiny jsou nedílnou součástí svalů. Při metabolických pochodech jsou ihned vstřebávány a využity k regeneraci a nárůstu svalové hmoty, tkání a podpoře dalších funkcí v organismu. Leucin má také vliv na hladinu glutathionu v těle, zvyšuje jeho produkci a tím podporuje imunitní systém [6, 7].

Syrovátkové proteiny jsou termolabilní a částečně denaturují již při 60 – 70 °C. Rozbalením své globulární struktury umožňují odkrytí funkčních skupin aminokyselin (karboxylová a aminoskupina) a dojde k chemickým reakcím jako je transaminace, dekarboxylace, oxidační deaminace [6–9].

Pokrok v technologiích nám umožňuje izolaci vysokých koncentrací syrovátkových proteinů, které je možné dále upravovat tak, abychom dosáhli potřebných vlastností pro další využití jak v potravinářském, farmaceutickém nebo biomedicínském průmyslu. Izolace vysoce kvalitních syrovátkových proteinů vedla ke komerčnímu úspěchu a přípravě syrovátkových proteinových doplňků jako primárních produktů. Podle obsahu proteinů a jednotlivých složek syrovátkových proteinů je dělíme do tří skupin. Syrovátkové koncentráty, izoláty, hydrolyzáty [6, 7].

Tyto tři druhy se od sebe liší nejen obsahem syrovátkových proteinů, ale i obsahem vitamínů, minerálních látek a poměrem živin [10].

1.2.1 Složení syrovátkového proteinu

Základní stavební jednotkou proteinů jsou aminokyseliny spojené peptidovou vazbou. Rozlišujeme 20 základních aminokyselin, z toho osm si organismus člověka není schopen sám syntetizovat a musí je přijímat v potravě. Jedná se o tzv. esenciální aminokyseliny. Na tyto aminokyseliny jsou bohaté právě syrovátkové proteiny.

Obsah proteinů se liší, podle druhu mléka, ze kterého je syrovátka získána (kravské, ovčí, kozí). Dále podle použitého tepelného zpracování před srážením mléka [7, 9, 10]. V tabulce 2 je uvedeno přibližné procentuální zastoupení jednotlivých složek syrovátkových proteinů a jejich funkce, které vykonávají. Součástí syrovátkových proteinů může být i proteázo-peptonová frakce (fosfoprotein) a transferin (glykoprotein syntetizován v játrech), který je důležitý při metabolismu železa [7].

Tabulka 2: Složky, které se v syrovátkovém proteinu nacházejí (převzato a upraveno z [6]).

Syrovátková složka	Obsah v proteinu (v %)	Vlastnosti
B-laktoglobulin (β-LG)	50–55%	<ul style="list-style-type: none"> - tvořen 162 AK - zdroj esenciálních AK a BCAA - není součástí mateřského mléka - váže vitamíny rozpustné v tucích
α-laktalbumin (α-LA)	20–25%	<ul style="list-style-type: none"> - tvořen 123 AK - součást mateřského mléka - zdroj esenciálních AK a BCAA - váže vápník
Imunoglobuliny	10–15%	<ul style="list-style-type: none"> - vysoká koncentrace v mlezivu - je součástí obrany proti infekci mláďat - mají vyšší denaturační teplotu než β-laktoglobulin
Laktoferin	1–2 %	<ul style="list-style-type: none"> - transportní glykoprotein - váže volné železo - je přítomen v mléce, slinách, slzách - ochrání proti volným radikálům - stimuluje růst buněk - má antioxidační schopnosti
Hovězí sérový albumin (BSA)	5–10%	<ul style="list-style-type: none"> - zdroj esenciálních AK - má schopnost vázat tuk
Glykomakropeptid (GMP)	10–15%	<ul style="list-style-type: none"> - zdroj BCAA - postrádá aromatické AK - je přítomný pouze ve sladké syrovátce - regulátor trávení - ovlivňuje tvorbu zubního plaku

1.3 Syrovátkový proteinový koncentrát

Velmi často označovaný jako WPC (z angl. Whey protein concentrate). Jak již bylo zmíněno, syrovátka obsahuje velmi kvalitní proteiny s vysokou BV, které také nalézají své využití díky svým funkčním vlastnostem. Vedle těchto kvalitních proteinů se v syrovátce nachází také velké množství laktózy (mléčný cukr). Nové technologické postupy nám umožňují získávat syrovátkový protein ve vyšších koncentracích a snižovat obsah laktózy. Syrovátkové koncentráty obsahují 38 – 80% bílkovin [2, 5, 11].

Proteiny syrovátky jsou v syrovátce přítomny ve formě koloidního roztoku. Proteiny se úpravou pH a zvýšením teploty denaturují a stávají se nerozpustnými. Prvním krokem pro získání syrovátkového koncentrátu je vždy čištění za použití různých fyzikálně-

chemických technik, jako je ultrafiltrace, použití tlakově řízených membrán, kdy dochází k jejich zakoncentrování. Obsah proteinů je v rozmezí 38-80%. Tento obsah se dá snižovat i zvyšovat podle zvoleného procesu [2, 5, 11].

Syrovátkové koncentráty jsou dostupné s různými koncentracemi proteinů – 34%, 50%, 80%. V koncentracích nad 80% hovoříme o syrovátkových izolátech. [2, 6, 11]

Jsou stále vyvíjeny další technologické postupy, které by umožnily získat co nejčistší protein. Syrovátkové koncentráty se podle způsobu jejich využití mohou také obohacovat o další složky např. vitamíny, minerály [2, 5, 11].

1.4 Syrovátkový proteinový izolát

Syrovátkové izoláty (WPI-whey protein isolate) jsou ze tří uvedených druhů tou nejčistší formou syrovátkového proteinu. Syrovátkový izolát může obsahovat až 96% bílkovin. Obsahuje minimální množství laktózy a tuku [5, 12].

Získávání proteinového izolátu je technologicky náročnější než syrovátkového koncentrátu. To zapříčiňuje i to, že syrovátkové izoláty jsou ve výsledku dražší než syrovátkové koncentráty [5, 12].

Syrovátkové izoláty jsou velmi dobře a rychle vstřebatelné, snadno vážou vodu a tak jsou dobře rozpustné i v širokém rozmezí pH [5, 12].

K izolaci se využívá nejpokročilejších filtračních procesů (mikrofiltrace/ultrafiltrace), a iontově – výměnné chromatografie [5, 12, 13].

I přesto, že syrovátkové izoláty obsahují velké množství proteinů především β -laktoglobulinu, bohužel vlivem mikrofiltrace pro získání co nejčistšího proteinu dochází ke ztrátě jiných hodnotných složek, jako jsou např. glykomakropeptidy [5, 12].

1.5 Syrovátkový proteinový hydrolyzát

Nese označení HYDRO, nebo také WPH (z angl. Whey protein hydrolysis), vznikl ve snaze dosažení co nejčistšího proteinu tzv. dokonalého proteinu [5, 9, 14].

Je získáván dalším zpracováním syrovátkového koncentrátu nebo izolátu. Hydrolýzou koncentrátu nebo izolátu dochází ke zlepšení jejich funkčních vlastností. Hydrolýzou dochází ke štěpení vazeb proteinů a tím se stávají lépe vstřebatelnými pro organismus. V potravinářském průmyslu je nejčastěji využívána enzymatická hydrolýza. Působením vybraných enzymů (chymotrypsin, pepsin, trypsin) dochází ke štěpení vazeb a vzniku peptidů. Podle doby působení enzymu jsou proteiny rozštěpeny na různě dlouhé peptidy.

Enzymatická hydrolýza ale způsobuje také ztrátu některých esenciálních aminokyselin, hlavně tryptofanu. Na typu použitého enzymu závisí biologické vlastnosti syrovátkového hydrolyzátu. Tyto vlastnosti jsou ovlivněny i dalšími podmínkami, za kterých hydrolýza probíhá – teplota, pH, doba působení, poměr substrát/enzym, ale i to jestli je pro výrobu použit izolát nebo koncentrát [5, 14].

Syrovátkové hydrolyzáty jsou bezkonkurenční formou proteinového produktu, co se týče vstřebatelnosti a maximální biologické hodnoty. Těmto vlastnostem odpovídá i jejich cena, v porovnání se syrovátkovými koncentráty i izoláty jsou nejdražší.

Z pohledu sensorických vlastností mají velmi hořkou chuť [5, 14].

Na obrázku č. 2 můžeme vidět, jak vypadá již finální syrovátkový koncentrát (izolát, hydrolyzáte). Vždy je to sypký prášek, lišící se obsahem proteinů.



Obrázek 2: Syrovátkový protein (převzato z [15]).

2 VYUŽITÍ SYROVÁTKOVÝCH PROTEINŮ

Syrovátkové proteiny se využívají v široké škále potravinářských aplikací pro své nutriční hodnoty a funkční vlastnosti. Využívají se ve všech třech typech – WPC, WPI, WPH [14].

Vlastností syrovátkového proteinu jako je gelovatění, emulgace, nebo agregace se využívá v mlékárenství, cukrárenství, konzervárenství, pekárenství, při výrobě nápojů nebo jako náhrada jiných proteinů pro zlepšení sensorických a mechanických vlastností potravin nebo pro zvýšení nutričních hodnot potravin [5, 14].

Funkční vlastnosti jsou ovlivněny několika faktory, ke kterým dochází, při zpracování syrovátkového proteinu. Takovými faktory může být například změna pH, tepelné změny, nebo důsledky tlakové ošetření [14].

Funkčnost syrovátkového proteinu je možné upravovat pomocí chemických, enzymatických a fyzikálních procesů. Posílením funkčnosti syrovátkového proteinu se zvyšuje produkce koncentrovaných a speciálních forem syrovátkového proteinu v potravinářském průmyslu [5, 14].

2.1 Aplikace syrovátkových proteinů

Syrovátkový protein má široké pole využitelnosti. Jeho vlastností se velmi rozsáhle využívá při **stavbě nové svalové hmoty**, zároveň přispívá k rychlé regeneraci svalové tkáně hlavně u sportovců, kteří mají velké zatížení svalstva. Obsah velkého množství BCAA napomáhá stimulovat syntézu nových proteinů důležitých při tvorbě nové svalové hmoty. Syrovátkový protein také chrání před poruchami svalové tkáně [5, 16].

Díky vysokému obsahu proteinů, a zároveň nízkému obsahu tuku a cukru se syrovátkový protein používá při udržení a **redukci váhy**. Byly provedeny studie na lidech trpících obezitou, které opravdu po dobu přijímání syrovátkových proteinů pozorovali úbytek váhy. Tento efekt je přiřazován obsahu leucinu v syrovátce, který způsobuje pocit nasycení a podporuje redukci tuku. Při poruchách příjmu potravy, jsou syrovátkové proteiny účinnější než ostatní proto je můžeme využívat při vysoko-proteinových a nízko-sacharidových dietách [5, 16].

Syrovátkové bílkoviny také **chrání a podporují imunitní systém** díky vysokému obsahu glykomakropeptidů.

Kojícím ženám je doporučován vyšší příjem syrovátkového proteinu pro vysoký obsah α -laktalbuminu, který je obsažen v mateřském mléce a nezpůsobuje alergie. Slouží také pro prevenci cukrovky [6, 12, 16–18].

U dětí syrovátkové proteiny stimulují růstové faktory, zvyšují produkci chemických látek v mozku, způsobujících dobrou náladu a lepší soustředěnost. Hojně jsou využívány u dětí trpící podvýživou [16].

Nejnovější studie poukazují na využití syrovátkových proteinů **ve zdravotnictví**, kde je jejich aplikace stále rozsáhlejší. Je obecně známo, že syrovátkový protein pili již v minulosti lidé proto, že syrovátka měla pozitivní vliv na jejich imunitní systém. Důvodem je vysoký obsah cysteinu, který je prekurzorem glutationu. Příjem syrovátkového proteinu způsobí nárůst hladin glutathionu a zvyšuje jeho aktivitu [6, 12, 16–18].

Glutathion je tripeptid složený z kyseliny glutamové, cysteinu a glycinu. Patří mezi silné antioxidanty bránící tvorbě vzniku volných radikálů, má antikarcinogenní účinky a schopnost vázat železo. Dnes syrovátkový protein využíváme nejenom pro zlepšení a **podporu imunity**, ale díky této schopnosti zvyšování produkce glutathionu je podávána pacientům trpící infekcí **HIV**, nebo jako prevence při **léčbě rakoviny**. Dále byly provedeny studie u lidí trpících **chronickým únavovým syndromem**, u lidí se špatným **gastrointestinálním systémem**, u lidí, kteří mají problémy s **krevním tlakem** a spousty další studií, kde byli prokázány pozitivní účinky syrovátkového proteinu [6, 12, 16–18].

3 SYROVÁTKOVÝ PROTEIN JAKO MAKRONUTRIENT

Proteiny řadíme obecně do skupiny makronutrientů, mezi které dále patří sacharidy a tuky. Proteiny jsou nezbytnou součástí lidské stravy a pro člověka nenahraditelné. Jsou nositeli biochemických projevů živé hmoty. V těle jsou nejprve v několika fázích rozštěpeny na menší stavební prvky (aminokyseliny) a teprve potom dále využívány. Kvalitu proteinů a jejich biologickou hodnotu udává aminokyselinové složení, tedy obsah esenciálních aminokyselin [19, 20–24].

Syrovátkové a obecně živočišné proteiny obsahují kompletní tzv. aminokyselinové skóre. Z rostlinných zdrojů to jsou pouze proteiny sóji a amarantu [19, 22]. Z výživového hlediska je žádoucí denaturace proteinů, to znamená, že dochází k narušení struktury proteinů a zlepšuje se přístup proteolytických enzymů. Štěpení proteinů zahajují proteázy, které jsou obsaženy ve slinách a žaludeční šťávě (pepsin), trávení proteinů je tedy enzymová hydrolyza. Poté co jsou proteiny rozštěpeny na jednotlivé aminokyseliny, jsou vstřebávány v tenkém střevě do krve a jsou přeneseny do jater, kde dochází ke vzniku nových proteinů nebo přeměně na jiné. Odpadem nevyužitých aminokyselin je močovina, amoniak nebo anorganické kyseliny. V játrech se také metabolizují BCAA (valin, leucin, izoleucin), které přecházejí rovnou do svalů [19, 20–24].

Proteiny obecně neslouží jako zdroj energie (pouze výjimečně). Tělo je schopno využít až 90% proteinů z přijaté potravy. Minimální příjem proteinů u dospělého člověka se udává 0,6g/kg. Optimální hodnota 1,5-1g/kg, u kojících žen může být příjem vyšší až 2g/kg. Tyto hodnoty jsou pouze orientační. Nároky na příjem bílkovin ovlivňuje řada faktorů (strava, zdravotní stav, věk). Doporučují se především proteiny živočišného původu. Je ale také známo, že nadměrný příjem proteinů zatěžuje organismus [19, 20–24].

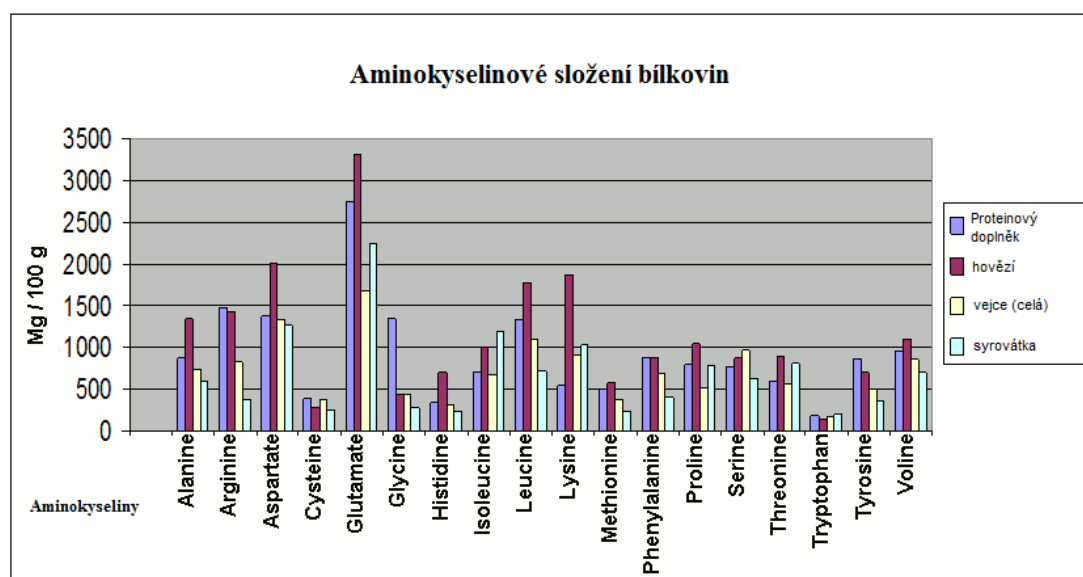
Syrovátkový protein je bohatým zdrojem esenciálních aminokyselin, které jsou důležité hlavně v období růstu tedy u dětí [20, 22].

Děti tak mají vyšší požadavky na příjem proteinů. Nedostatek proteinů může vést k poruchám tělesného i duševního vývoje a snížení odolnosti imunitního systému. V populacích trpících podvýživou jsou syrovátkové proteiny využívány jako růstové faktory. Vyšší obsah glykomakropeptidů přispívá ke stavbě buněčných stěn. Hydrolyzovaný syrovátkový protein se používá jako přísada do kojenecké výživy a slouží jako prevence alergických onemocnění [19, 20–24].

Zvláštní nároky na příjem proteinů mají především sportovci. Mnoho z nich konzumuje syrovátkové proteiny jako strategickou potravinu na podporu stavby nové svalové hmoty a k regeneraci té stávající. Jak už bylo několikrát zmíněno, syrovátkový protein obsahuje vhodné aminokyselinové spektrum, které je optimální k nastartování syntézy proteinů sloužících ke stavbě svalové hmoty [19, 20–24].

Vzhledem k vysoké hodnotě nasycenosti, tedy opět vysokého obsahu esenciálních aminokyselin především leucinu, který slouží jako mediátor proteosyntézy a podněcuje produkci inzulínu, brání tak k přibývání na váze [19, 20–24].

Obrázek č. 3 porovnává výsledky obsahu jednotlivých aminokyselin obsažených v hovězím mase, celých vejcích a syrovátce, tyto výsledky jsou porovnávány právě se syrovátkou [19–24].



Obrázek 3: Porovnání aminokyselinového složení živočišných bílkovin (převzato z [25]).

4 SÓJA

Rostlinné zdroje obecně neobsahují takové množství esenciálních aminokyselin jako ty živočišné. Výjimkou je sója, patřící mezi rostlinný zdroj, který se svým obsahem esenciálních aminokyselin je zdrojem kvalitního proteinu, který může sloužit jako náhražka živočišné bílkoviny.

Sója luštiná je keříkovitá rostlina pocházející z Číny, která byla postupně rozšířena do celého světa. V ČR se začala pěstovat v roce 1934. Bohužel klimatické podmínky dobře neodpovídají jejím požadavkům na pěstování. Největší produkce je v USA. Je řazena mezi luštěniny, obsahuje velké množství kvalitních bílkovin, má výborné funkční vlastnosti a její cena je ve srovnání s živočišnými bílkovinami nízká a tím ekonomicky významná. [1, 26–28].

Sója je dobře stravitelná, její semena obsahují 33% bílkovin, modifikovaná sója až 45%, 15–25% lipidů, obsah sacharidů asi 30%, z nichž větší část zaujímá škrob, a řadu minerálních látek jako je draslík, fosfor, hořčík, mangan, sodík, vápník, zinek, železo, kyselinu pantotenovou a kyselinu listovou. Chemické složení semen se liší podle způsobu a místa pěstování. Vzhledem k živočišným bílkovinám jsou sójové bílkoviny stále nedostačující. Nutričním omezením je nízký obsah methioninu a cysteinu (sírných aminokyselin), ze kterých si organismus syntetizuje glutation, jehož funkce byla již dříve popsána [1, 26–29].

Sójové bílkoviny jsou tvořeny aminokyselinami, které organismus získává enzymaticky z natrávené potravy snáze než je tomu u živočišných bílkovin. Nevýhodou sójových proteinu a sóji samotné je, že na některé jedince může působit jako alergen, také může obsahovat antinutriční látky (lektiny, trypsinové inhibitory, nestravitelné oligosacharidy), které jsou odstraňovány během tepelného záhřevu nebo při enzymatickém rozkladu [28].

V tabulce 3 jsou vypsány jednotlivé složky, které jsou obsaženy ve 100g sójových bobů.



Obrázek 4: Rostlina sóji (převzato z [30]).

Tabulka 3: Chemické složení sójových bobů (převzato a upraveno z [31]).

Chemické složení sójových bobů	
Energie a živiny	g/ve 100g
Energie (kJ/kcal)	1741/416
Bílkoviny	36,49 g
Lipidy	19,94 g
Sacharidy	30,16 g
Z toho vláknina potravy	9,30 g
Popeloviny	4,87 g
Voda	8,54 g

4.1 Využití sóji

Sója poskytuje řadu možností průmyslového zpracování. Vyrábějí se sójové oleje, sójový lecithin (směs fosfolipidů získávaných ze sójového oleje používající se jako emulgátor při výrobě doplňků stravy), sójové mouky, vločky (obsahují až 40–55% bílkovin), Sójové vločky se používají k obohacení potravinových doplňků, dnes jsou postupně nahrazovány koncentráty a izoláty sójové bílkoviny) [1, 31].

Kromě sójových koncentrátů a izolátu se vyrábí také texturované sójové bílkoviny sloužící jako náhražka masa pro vegany a vegetariány [1, 31].

4.2 Sójové koncentráty

Obsahují 70% bílkovin a velké množství vlákniny. Vyrábějí se z odtučněných sójových vloček nebo mouk (jemný prášek vzniklý obrušováním bobů) odstraněním ve vodě rozpustných sacharidů a některých minerálních látek. Vločky nebo mouka jsou promývány směsí vody a nižšího alkoholu (methanol, ethanol). Dochází ke koncentraci. Koncentráty jsou nadále sušeny horkým vzduchem ve sprejových sušárnách [32].

Takto připravené koncentráty jsou velmi dobře stravitelné. Používají se pro výrobu dalších sójových produktů, využívají se jako složka dobře zadržující vodu, nebo pro zvýšení obsahu bílkovin v potravinách [33].

4.3 Sójové izoláty

Obsah bílkovin se pohybuje v rozmezí 90–95 %. Bílkoviny jsou extrahovány z odtučněné sójové mouky vodou s přidávkem alkálií (NaOH, NH₃ ...) o pH 7,5–9 a teplotě do 80°C. Extrakt se dále čistí filtrací nebo použitím iontoměničů kde se využívá rozdílných izoelektrických bodů bílkovin. Posledním krokem je sušení. Použití nachází v potravinářství pro výrobu dalších produktů. Sójové izoláty jsou využívány ve sportovní suplementaci, nebo nacházejí uplatnění jako emulgátory, pro zlepšení textury potravin [32, 33].

4.4 Výživové a léčivé vlastnosti

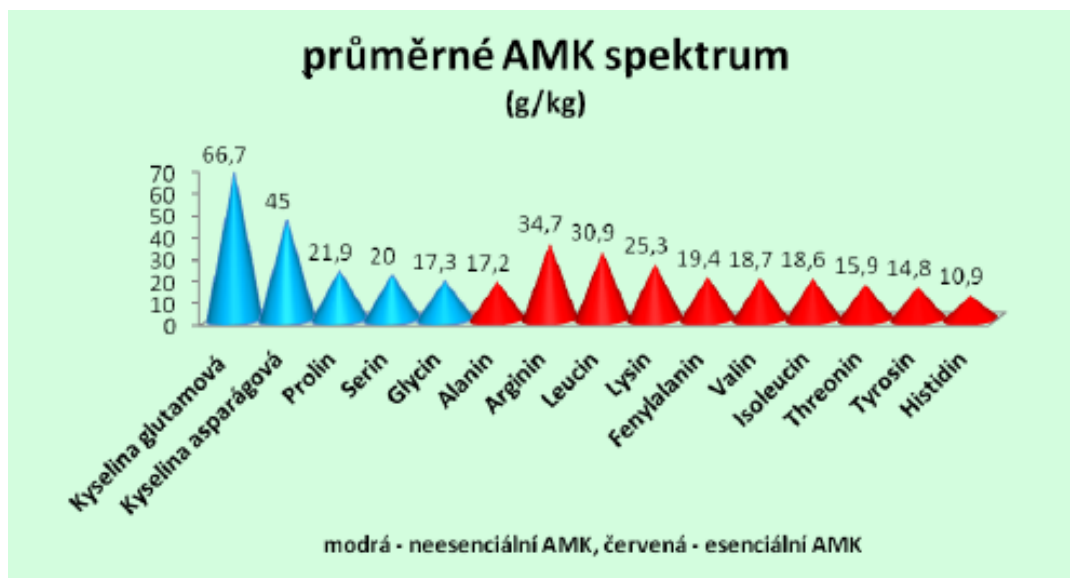
Nutriční hodnota sóji je vysoká a složením dobře vyvážená díky obsahu kvalitních proteinů, s vysokým podílem esenciálních aminokyselin. Snižuje hladinu cholesterolu, je prevencí proti srdečním onemocněním. Dále urychluje metabolismus štítné žlázy, to má pozitivní vliv při redukci váhy [27, 33].

Antinutričními faktory jsou inhibitory trypsinu, proto se v potravinářství nepoužívají syrové sójové boby [27, 33].

Sójové bílkoviny se využívají jako náhražka živočišných bílkovin pro vegany a vegetariány [27, 33].

Bylo prokázáno, že příjem 25g sóji/den snižuje hladinu cholesterolu v krvi, zpevňuje kosti, má protirakovinné účinky, snižuje krevní tlak, reguluje hladinu krevního cukru a podporuje produkci některých přírodních hormonů (např. fytoestrogenů) [27, 33].

Na obrázku č. 5 je vidět jednotlivé zastoupení aminokyselin v sóje.



Obrázek 5: Zastoupení jednotlivých aminokyselin v sóje (převzato z [34]).

5 TECHNOLOGICKÉ POSTUPY VÝROBY SYROVÁTKOVÝCH KONCENTRÁTŮ

Syrovátkové proteiny získáváme ze syrovátky, která vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů, tvarohů, kaseinátů po koagulaci mléka. Tato syrovátka obsahuje v průměru 65% syrovátkových proteinů [6].

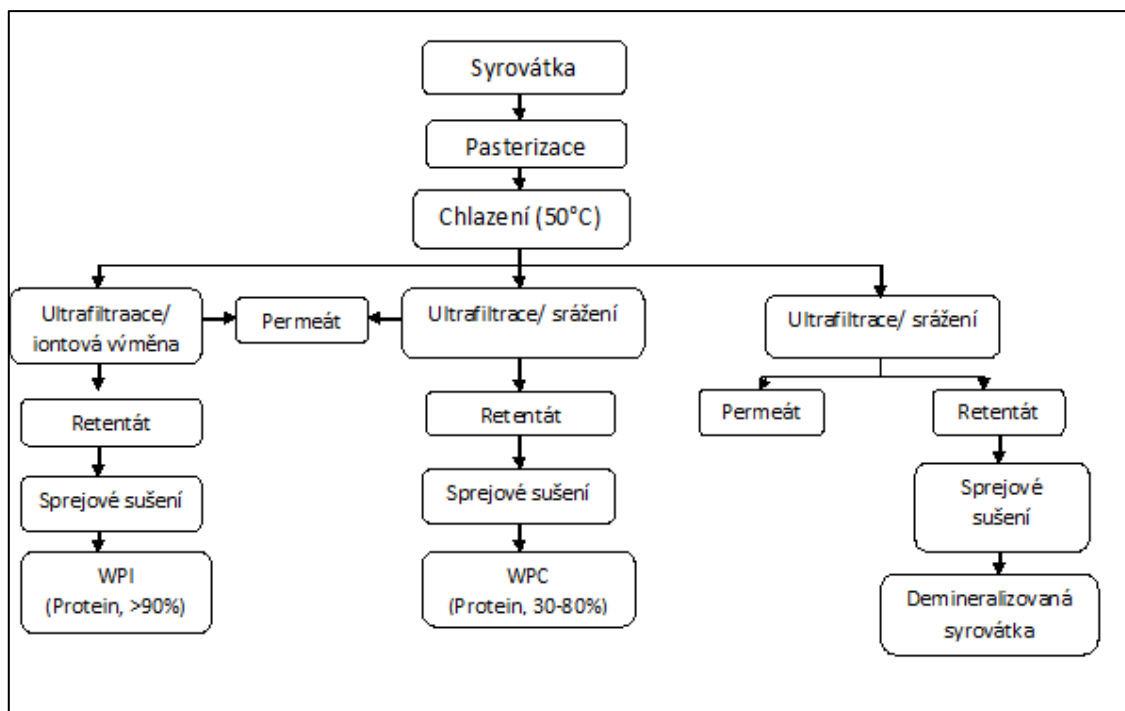
Jako zdroj syrovátkového proteinu jsou využívány dva druhy syrovátky. Kyselá syrovátka je produkována při izolaci kaseinů, výrobě tvarohů a některých druhů sýra přímým srážením kyselinou např. kyselinou mléčnou, octovou, citrónovou nebo i kyselinou chlorovodíkovou. Pokud je koagulace mléka prováděna syřidlem tzn. enzymaticky, vzniká sladká syrovátka [1].

Při získávání syrovátkových proteinů se využívá membránových separačních metod, které byly navrženy pro čištění/dělení homogenních směsí nebo pro separaci vícefázových disperzních systémů. Proteiny mají různou velikost, koncentraci a také jiný izoelektrický bod. S ohledem na tyto rozdíly je následně zvolena separační technika [35, 36].

Výroba syrovátkových koncentrátů začíná krokem čištění, kdy se odstředováním odstraní zbytky vysráženého kaseinu a sýra. Dalším a nejdůležitějším krokem je mikrofiltrace, fyzikálně-chemická metoda probíhající za mírných podmínek (pH a teplota). Roztok syrovátky je pod tlakem přiváděn na filtrační přepážku, a tím dochází k oddělení syrovátkových proteinů od laktózy, solí a vody. V posledním kroku probíhá sušení nejčastěji ve sprejových sušárnách kdy je protein rozprášen v sušící komoře. Takto získaný produkt obsahuje cca 95 % pevných částic [6, 35, 38].

Podle realizace procesu máme hned několik metod využívaných k výrobě co nejčistších syrovátkových proteinů. Nejnovější a nejpoužívanější metodou je křížová mikrofiltrace (CFM z angl. Cross – flow microfiltration), dále pak iontově-výměnná chromatografie nebo konvenční mikrofiltrace tzv. „dead-end“ [35, 38].

Na obrázku č. 5 je znázorněn postup výroby jednotlivých syrovátkových koncentrátů.



Obrázek 5: Schéma výroby syrovátkových koncentrátů (převzato a upraveno z [14]).

5.1 Filtrační techniky

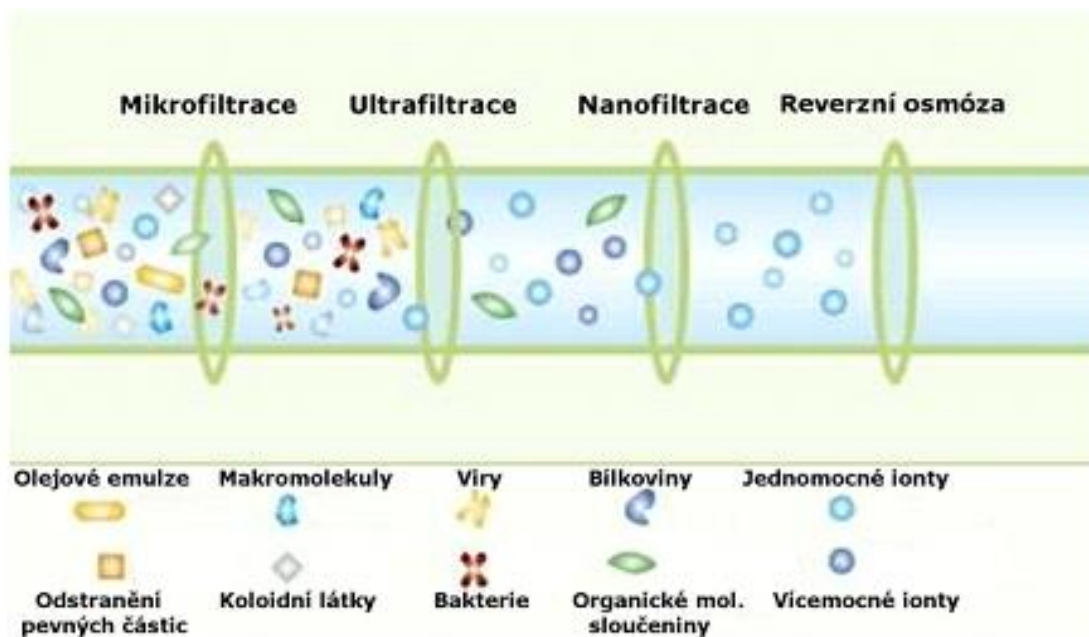
K získávání syrovátkových proteinů je využíváno tlakových membránových procesů, mezi které řadíme mikrofiltraci (MF), ultrafiltraci (UF), nanofiltraci (NF) a reverzní osmózu [36,39].

Všechny zmíněné filtrační techniky používají polopropustnou membránu jako separační element, která využívá tlakových rozdílů jako hnací síly při transportu skrz membránu. Rozdíly jsou ve vlastnostech a velikosti pórů použitých membrán a velikosti tlakových rozdílů [36, 39].

Mikrofiltrace je v potravinářství využívána k číření syrovátky a, jejímu zakoncentrování, k separaci složek při zpracování mléka, separaci tuků/ mikroorganismů z mléka, separaci nečistot při zpracování cukru, číření piva/ vína/ džusů, ovocných šťáv. Od mikrofiltrace se odvíjí kvalita a čistota získaných proteinů, proto tvoří nejdůležitější krok v celém procesu. Mikrofiltrace může být dvojího uspořádání „cross flow“ nebo „dead-end“ [36, 37, 40].

Použití ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmózy je také možné, ale tyto procesy jsou náročnější.

Na obrázku č. 6 jsou znázorněné jednotlivé principy separačních technik, kterým odpovídají informace v tabulce č. 4.



Obrázek 6: Schématické znázornění rozdílů mezi mikrofiltrací, ultrafiltrací, nanofiltrace a reverzní osmózou (převzato z [39]).

Tabulka 4: Principy membránových procesů (převzato a upraveno z [39]).

	Mikrofiltrace	Ultrafiltrace	Nanofiltrace	Reverzní osmóza
Membrány	Symetrické porézní	Asymetrické porézní	Kompozitní	Asymetrické nebo kompozitní
Tloušťka membrán	10 – 150 μm	150 μm	Nosič 150 μm Aktivní složka 1 nm	Nosič 150 μm Aktivní složka 1 nm
Velikost pórů	0,1 – 1 μm	1 – 100 nm	> 2 nm	> 2 nm
Hnací síla	Rozdíl tlaků (< 4 bary)	Rozdíl tlaků (1 – 10 barů)	Rozdíl tlaků (10 – 25 barů)	Rozdíl tlaků (15 – 80 barů)
Princip separace	Sítový mechanismus	Sítový mechanismus	Rozpouštění-difúze	Rozpouštění-difúze
Materiál membrán	Polymerní, keramický	Polymery (např. polysulfan), keramika	polyamidy	Acetáty celulózy, polyamidy

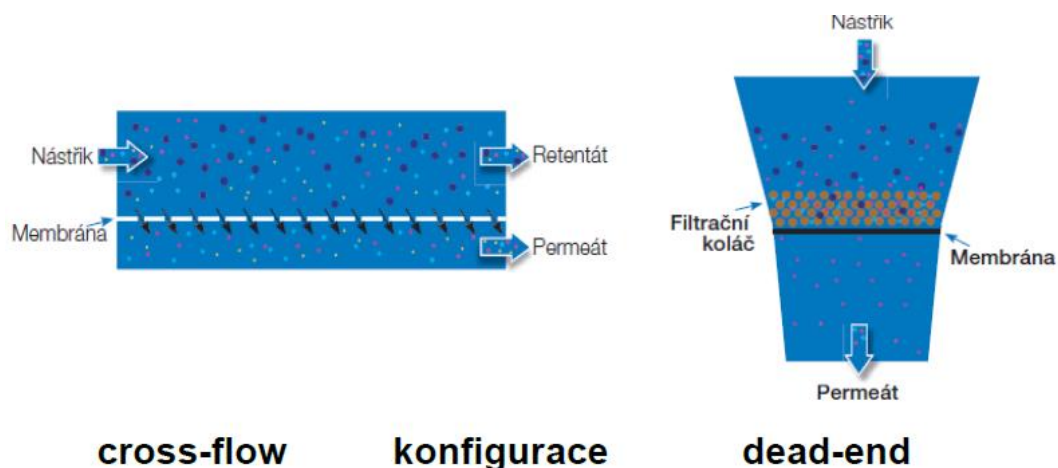
5.2 „Cross flow“ mikrofiltrace

Jedná se o nejnovější a nejpoužívanější technologii používanou při výrobě velmi kvalitních syrovátkových koncentrátů. CFM technologie (z angl. Cross flow microfiltration) byla představena na počátku 80. let. Vznikla kombinací v té době již známých technologických procesů, a to reverzní osmózy a ultrafiltrace s příčným průtokem [35].

Aplikací CFM je celá řada např. při snaze zachovat makromolekulární rozpuštěné látky v původních koncentracích nebo umožnění jejich identifikace. V potravinářském průmyslu je velmi využívána při výrobě a zpracování piva, vína, mléka, syrovátky. CFM šetrně odděluje proteiny ze syrovátky od dalších látek (vysrážených proteinů), mléčného tuku a laktózy [35].

Jedná se o povrchovou dynamickou filtraci, kdy jsou částice zachycovány na povrchu porézní přepážky, a díky proudící kapalině rovnoběžně s povrchem membrány (viz. Obr. 7), je povrch přepážky neustále omýván, proto nedochází k nárůstu výšky filtračního koláče jako v případě koláčové filtrace. Tímto je zachován vyšší výkon tohoto procesu [36, 37]. V případě CFM, hovoříme o mikrofiltraci, kdy dochází k oddělování částic o velikosti 0,1 – 10 μm . Využívá se keramických filtrů, na které je přiváděn roztok syrovátky. Keramické filtry propouští pouze syrovátkový protein, ostatní složky zůstávají uvnitř filtru. Jde o mechanickou separaci, kdy je protein šetrně oddělen, nepřichází do styku s žádnými chemikáliemi, které mohou být použity v jiných technologiích výroby WPC a WPI (NaCl, NaOH) [35, 38, 40].

Protein je na konci procesu zcela čistý, a má vysokou biologickou využitelnost. Kvalita syrovátkového proteinu je dána především obsahem jednotlivých biologicky účinných frakcí, které díky dobrému mechanickému zpracování v proteinu zůstávají. Jsou to např. glykomakropeptidy, laktoferiny a α -laktalbumin. Během výroby dochází k odfiltrování většiny tuků a laktózy. Zůstává tak čistý, rychle a snadno vstřebatelný 90% protein [35, 38, 40].



Obrázek 7: Rozdíl v technologii „cross-flow“ a „dead-end“ mikrofiltrací (převzato z [41]).

5.3 „Dead-end“ mikrofiltrace

Jedná se o povrchovou koláčovou filtraci označovanou jako „dead-end“. Při koláčové filtraci je na filtrační přepážce tvořen filtrační koláč tvořený tuhými částicemi. Pro koláčovou filtraci jsou vybrány přepážky s velikostí pórů skoro o jeden řád menší, než je velikost separovaných částic. Jako filtrační přepážka bývá použita hloubková fritra nebo jakýkoliv jiný porézní materiál (porézní keramika, frity) [37].

Proud kapaliny je přiváděn kolmo na povrch membrány (viz. Obr. 7), kapalina a menší částice projdou póry membrány, zatímco větší částice jsou zachycovány na povrchu a tvoří tak filtrační koláč [36, 37].

Nevýhodou této technologie je, že výška filtračního koláče se zvyšuje a tím zvyšuje i odpor systému proudící tekutiny a mění tak dobu filtrace. Ke konci filtrace vlivem většího odporu se tekutina dodává pod větším tlakem a může tak dojít i k odfiltrování části proteinové složky [36].

5.4 Iontově-výměnná chromatografie (IEC)

Jedná se o druh kapalinové, kolonové chromatografie. Stacionární fáze je pevná látka přírodního (celulosa, dextran, agarosa) nebo syntetického (polystyren, polyakrylamid) charakteru, mobilní fáze je kapalina [43–45].

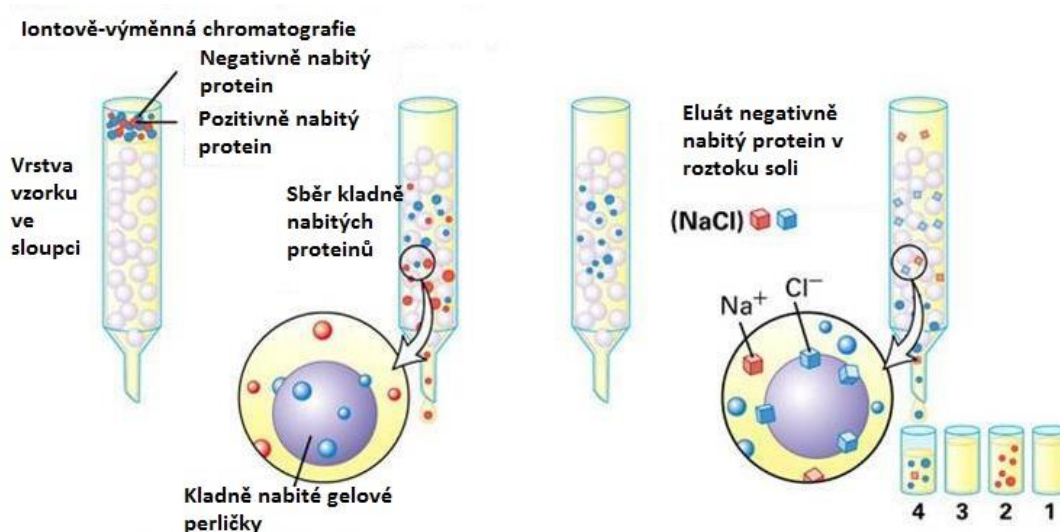
Metoda je založena na výměně iontů na povrchu iontoměniče. Sorbent (ionex) zachycuje ion daného typu výměnou za jiný (viz. Obr. 8). Stacionární fází je iontoměnič

(ionex), makromolekulární matrice obsahující kyselou nebo bazickou funkční skupinu [42–45].

Podle náboje iontů dělíme iontoměniče na katexy a anexy. Katexy jsou iontoměniče nesoucí záporný náboj (obsahující kyselou funkční skupinu – sulfo-kyselina, karboxylová kyselina). Anexy jsou naopak iontoměniče s kladným nábojem nesoucí bazickou funkční skupinu (amino skupina) [42–45].

Vzorek v našem případě syrovátkový protein je dávkován na kolonu (anex a následně katex), kdy dochází k zachycení iontu a výměně za jiný. Tento ion je pak dále unášen mobilní fází ven z kolony. Eluční síla (síla jakou je ion zadržován stacionární fází) závisí na pH a iontové síle [42–45].

Mnoho makromolekul nese v nativním stavu náboj, který se mění při změně pH. Touto metodou získáme velmi čistý protein o koncentraci až 96%. Takto připravený izolát obsahuje minimální množství laktózy a tuku, avšak na úkor získání co nejvyššího obsahu β -laktoglobulinu jsou ztraceny další prospěšné komponenty, jako jsou glykomakropeptidy, laktoferin nebo imunoglobuliny. Jednotlivý obsah syrovátkových frakcí získaných CFM metodou je v tabulce č. 5 porovnáván s dalšími zmíněnými metodami [42–45].



Obrázek 8: Schéma iontově – výměnné chromatografie (převzato a upraveno z [46]).

Tabulka 5: Obsah syrovátkových frakcí (převzato a upraveno z [24]).

% obsah proteinů jednotlivých frakcí syrovátkové bílkoviny danou metodou			
	Mikrofiltrace	Iontová výměna	Metoda CFM
B-lactoglobulin	60	80	43
A-laktalbumin	12	14	20
Hovězí sérový albumin	2	3	2
Imunoglobuliny	5	3	7
Glykomakropeptidy	21	0	27

6 LABORATORNÍ METODY ANALÝZY SYROVÁTKOVÝCH PROTEINŮ

Výživová hodnota proteinů je dána obsahem esenciálních aminokyselin. K hodnocení kvality proteinů se využívá těchto hodnot:

- BV – biologická hodnota (biological value), udává kolik g tělesných bílkovin je vytvořeno ze 100g bílkovin obsažených ve stravě.
- EAAI – index esenciálních aminokyselin (essential amino acid index), je přesnější výsledek výživové hodnoty bílkoviny. Zahrnuje všechny AAS (geometrický průměr).
- AAS – aminokyselinové skóre (amino acid score), vypočítává se pro každou aminokyselinu zvlášť. Určí se limitující esenciální aminokyselina, která určuje výživovou hodnotu potraviny. Obsah se vyjadřuje procentuálně k obsahu téže aminokyseliny v ideální potravě.
- PCAAS – (The protein digestibility-corrected amino acid score), je metoda, která měří obsah bílkovin v lidské výživě a určuje její stravitelnost. Porovnává koncentrace testovaných bílkovin s elektronickými vzory [5, 47].

Analytických metod je využíváno k ověřování pravosti a kvality syrovátkových produktů, určení obsahu syrovátkových frakcí nebo např. zjištění požadovaných funkčních vlastností [48].

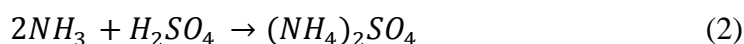
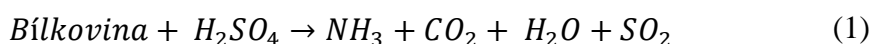
K těmto účelům jsou nejvíce využívány chromatografické metody, jako jsou vysokoúčinná kapalinová chromatografie, iontově-výměnná chromatografie, gelově-permeační chromatografie nebo elektroforéza. Dále pak můžeme využít infračervené spektrometrie nebo stanovení dle Kjeldahla nebo [48].

Při výběru metody je třeba brát v potaz, že biologické materiály obsahují vedle jiných sloučenin i další bílkoviny, které mohou být chemicky méně odlišné. Proto je důležité vybrat vhodnou selektivní preparační metodu. V praxi se proto obvykle kombinuje více metod [49].

Bílkovinné molekuly jsou také citlivé na vnější vlivy, což je další omezení při výběru metod a technik. Separace musí být provedena tak, aby nedošlo k narušení struktury daného proteinu [49].

6.1 Stanovení dle Kjeldahla

Tato metoda je velmi používaná, stanovuje se obsah celkového dusíku v potravinách. Principem této metody je zmineralizování vzorku pomocí kyseliny sírové, kdy je veškerý dusík obsažený ve vzorku převeden na síran amonný. Reakce probíhá za varu (340–390°C). Použitím selenového katalyzátoru se síranem draselným se urychluje reakce.



Síran amonný poté nechá reagovat s 30 % hydroxidem sodným a dochází k uvolnění amoniaku, který je jímán do předlohy (kyseliny sírové, kyseliny borité) a titračně je stanoven obsah dusíku [50].

6.2 Chromatografické metody

Metody sloužící k separaci složitých směsí látek na základě jejich určitých vlastností. Slouží nejenom k separaci, ale i k analýze látek. Plní kvalitativní i kvantitativní funkci, tedy určení složení směsi a určení koncentrace jednotlivých složek směsi. Chromatografie je propojována často s dalšími metodami (UV/VIS spektrofotometrie), a slouží k úplné identifikaci proteinů [45].

Pro separaci bílkovin je nejvíce využívána kapalinová chromatografie (HPLC z angl. High performance liquid chromatography). Mobilní fází je tedy kapalina. Separace a identifikace látek probíhá tak, že po nástřiku na kolonu je vzorek unášen mobilní fází. V koloně dochází k separaci a kolonu už opouštějí jednotlivé látky, které jsou vedeny na detektor, a je zaznamenáván signál v závislosti na použitém typu detektoru [51].

Tato metoda byla využita například pro stanovení obsahu a složení syrovátkových proteinů v kozím mléce [52]. Nebo pak dále při stanovení obsahu syrovátkových proteinů a kaseinu v kozím mléce v závislosti na plemeni [51].

Pro separaci syrovátkových proteinů, je také velmi využívána již dříve popsána iontově-výměnná chromatografie (IEC).

6.3 Metoda SDS-PAGE

Rozšířenou metodou pro separaci a analýzu syrovátkových proteinů je metoda elektroforetické separace v polyakrylamidovém gelu (PAGE) v prostředí dodecyl-sulfátu sodného (SDS). Tato metoda je využívána k hodnocení zastoupení syrovátkových proteinů z důvodů vysoké citlivosti metody, potřeby malého množství vzorku pro analýzu, rychlosti a možnosti kvalitativního i kvantitativního vyhodnocení [53].

Tyto vlastnosti popisuje ve své práci Čurda a kol. (2012), jejichž cílem práce bylo testovat analytické a fyzikálně-chemické metody vhodné pro analýzu kravského a koziho kolostra [54].

Principem elektroforézy je denaturace proteinů pomocí SDS, který se pevně váže na protein a uděluje proteinu náboj, který je úměrný velikosti. Proteiny jsou pak separovány podle jejich molekulové hmotnosti a velikosti molekuly [46, 53, 55].

6.4 Identifikace proteinů pomocí infračervené spektrometrie

Infračervená spektrometrie je analytická metoda využívající schopnosti látek absorbovat infračervené záření, tedy elektromagnetické záření delší než 780 nm. Podle použité vlnové délky rozlišujeme infračervenou spektrometrii v blízké, střední a vzdálené oblasti. Po absorpci infračerveného záření dochází ke změně vibračně rotačních energetických stavů molekuly. Výstupem je infračervené spektrum, které informuje o funkčních skupinách molekul stejně jako o vzájemné interakci molekul.[56, 57]

Toho využila skupina Wang a kol. (2015) jejichž cílem bylo najít vhodnou metodu, která by rychle a dostatečně přesně rozpoznala přítomnost komerčně dostupných syrovátkových proteinů. Využitím střední infračervené spektrometrie byla získána spektra jednotlivých typů syrovátkových proteinů (WPC, WPI, WPH). Jejich následnou analýzou byl vytvořen model, podle něhož je možné rozlišit jednotlivé typy syrovátkových proteinů na základě rozdílné vzdálenosti center klastrů. Tato metoda se ukázala být vhodná pro jejich rozlišení [49].

7 POROVNÁNÍ SÓJOVÉHO A SYROVÁTKOVÉHO PROTEINU

I přesto, že sójový protein obsahuje vysoké množství kvalitní bílkoviny, jeho biologická hodnota nedosahuje takových hodnot jako syrovátkový protein. V tabulce 6 jsou uvedeny rozdíly mezi sójovou a syrovátkovou bílkovinou.

Využitelnost těchto bílkovin (NPU z angl. net protein utilization) je odlišná. Procentuální obsah vyjadřuje jak moc je naše tělo schopné bílkovinu využít (vyjadřuje množství tělesných bílkovin, které je organismus z dodaných bílkovin schopen vyrobit). Tato hodnota se pohybuje od 0–100 %. Koncentrát sójové bílkoviny dosahuje využitelnosti 67%, zatímco u syrovátkového proteinu je to 92 %[5, 27, 34].

Stravitelnost těchto bílkovin, tedy hodnota PDCAAS je opět u syrovátkového proteinu vyšší (99%) než sójového (95%). Pokud jsou tyto proteiny využívány v krmivářství, zajímá nás pak hodnota poměru účinného proteinu – PER (z angl. protein efficiency ratio). Určuje, jakého váhového přírůstku se při spotřebování určitého množství bílkovin dosáhne. V případě sójového koncentrátu je přírůstek nižší než v případě syrovátkového koncentrátu. Kvalitu těchto bílkovin určuje její ekvivalent, syrovátkový proteinový izolát má skóre 1,00 stejně jako vaječný bílek, sójový koncentrát má skóre nižší, dosahuje hodnoty 0,99. Když to shrneme sójový protein a obecně rostlinné bílkoviny neobsahují takové množství esenciálních aminokyselin jako proteiny syrovátky, tedy proteiny živočišného původu [5, 27, 34].

Proteiny syrovátky mohou na rozdíl od sójového obsahovat větší podíly tuku a sójové bílkoviny zase obsahují určité množství vlákniny. Sójové proteiny jsou tedy především vhodné pro vegany, vegetariány a lidi trpící alergiemi na mléčné bílkoviny [5, 27, 34].

V tabulce 6 jsou pro porovnání zobrazeny hodnoty kvality jednotlivých zdrojů bílkovin a na závěr v tabulce 7 je uveden obsah jednotlivých aminokyselin sójového proteinu ve srovnání se syrovátkovým proteinem.

Tabulka 6: Rozdíly mezi sójovými a syrovátkovými proteiny (převzato a upraveno z [5]).

Rozdíl mezi syrovátkovým a sójovým proteinem	
Sójový protein	Syrovátkový protein
rostlinný zdroj	živočišný zdroj
získává se ze sójových bobů, patří mezi luštěniny	získáván z přírodních zdrojů jako vedlejší produkt
neslouží jako zdroj glutationu	výborný zdroj glutationu
neobsahují dostatek esenciálních AK	obsahuje všechny esenciální AK
výborný zdroj bílkovin pro vegany a vegetariány	není vhodný pro vegany

Tabulka 7: Aminokyselinové skóre sójový vs. syrovátkový protein (převzato a upraveno z [34]).

Sójový vs. Syrovátkový protein	mg EAA na g proteinu	
	Sójový protein	Syrovátkový protein
Aminokyselina		
Isoleucin (BCAA)	49	54
Leucin (BCAA)	82	89
Valin (BCAA)	48	82
Histidin	19	16
Lysin	64	88
Methionin	26	32
Phenylalanin	38	32
Threonin	38	65
Tryptophan	14	22
Celkem	378	480

8 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout informace o využití a roli syrovátkových proteinů ve výživě, dále pak popsat technologické postupy izolace syrovátkových proteinů a laboratorních metod využívaných k analýze syrovátkových proteinů po jejich izolaci.

Syrovátka a syrovátkové proteiny se stávají významným prvkem stravy, který je nutný pro lidskou výživu. Syrovátkové proteiny jsou velmi kvalitní živočišné proteiny, přispívají k výraznému nutričnímu obohacení potravin. Využívány jsou zejména sportovci k podpoře stavby nové svalové hmoty a regeneraci. Lidem trpícím obezitou pak pomáhá při redukci váhy, uplatnění nachází i při léčbě poruch příjmu potravy. Díky tomu, že syrovátkový protein podporuje imunitní systém, získává stále větší význam ve zdravotnictví. Je studována ve spojitosti s prevencí rakoviny, chronickým únavovým syndromem a problémy s krevním tlakem a gastrointestinálním systémem.

K analýze syrovátkového proteinu se mimo jiné využívá stanovení dle Kjeldahla, kdy se stanovuje celkový obsah dusíku v potravíně. Je také možné využít chromatografických metod, při spojení s dalšími metodami je tímto způsobem možné úplně identifikovat jednotlivé proteiny. Metoda SDS-PAGE pak umožňuje stanovit zastoupení daných proteinů. Byly také provedeny studie využívající infračervené spektrometrie. Pro porovnání zde byl popsán sójový protein, jakožto rostlinný zdroj velmi kvalitních proteinů.

9 ZDROJE

1. KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Technologie potravin: Přehled tradičních potravinářských výrob.* 1. Ostrava: KEY Publishing s.r.o, 2012. ISBN 978-80-7418-145-0.
2. GANGURDE, HemantH, PoojaS PATIL, MayurA CHORDIYA a NayanaS BASTE. Whey protein. *Scholars' Research Journal* [online]. 2011, 1(2), 69- [cit. 2017-06-04]. DOI: 10.4103/2249-5975.99663. ISSN 2249-5975. Dostupné z: <http://www.scholarsjournal.in/text.asp?2011/1/2/69/99663>
3. FORMAN, Ladislav a Miloš MERGL. *Syrovátka: její užití v lidské výživě a ve výživě zvířat.* 1. vyd. Praha: Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1979, 343 s.
4. JEŽ, Petr. Není protein jako protein-vyberte si ten správný. In: *FaktorPlus* [online]. Benešov: FaktorPlus, 2016 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.faktorplus.cz>
5. http://biomikro.vscht.cz/vyuka/b2/Biologie_potravin_a_surovin_zivocisneho_puvodu.pdf [online]. [cit. 2017-03-13].
6. MARSHALL, Keri, N. D. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 2004, 9.2: 136-156.
7. ETZEL, Mark R. Manufacture and use of dairy protein fractions. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134.4: 996S-1002S.
8. BINDER, Michael, Jan DRBOHLAV a Eleonora WILDOVÁ. Funkční vlastnosti mléčných bílkovin ve sterilovaných nápojích z technologického a výživového hlediska. *Mlékárenské listy*. Praha: Milcon, 2014, (147), XLV-XLVIII
9. . CAHA, Jan. Syrovátka vs. kasein (I.část). In: *Aktin* [online]. Brno: Selltime, 2011 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <https://aktin.cz/syrovatka-vs-kasein-i-cast>
10. CAHA, Jan. Syrovátkový protein- věčné téma. In: *FitnessInstitut* [online]. Brno: FitnessInstitut, 2013 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.fitnessinstitut.cz/clanky/9/58/Syrovatkovy-protein-vecne-tema.html>
11. BALCAR, Jaromír. Výroba sušených a zahuštěných mléčných výrobků. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1978. 1. vyd.
12. TARIQ, Muhammad Rizwan, et al. Nutritional and therapeutic properties of whey. *Journal of Annals Food Science and Technology*, 2013, 14: 19-26.

13. *ForActiv* [online]. Brno: ForActive.cz [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.foractiv.cz/novy-globalni-standard-native-whey/t-360/>
14. JEEWANTHI, Renda Kankanamge Chaturika; LEE, Na-Kyoung; PAIK, Hyun-Dong. Improved functional characteristics of whey protein hydrolysates in food industry. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2015, 35.3: 350.
15. *Kulturistika.com* [online]. Fitness Trade, 2015 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.kulturistika.com/vyziva/dopluky-stravy/proc-protein-cfm>
16. STOBAUGH, Heather C., et al. Including whey protein and whey permeate in ready-to-use supplementary food improves recovery rates in children with moderate acute malnutrition: a randomized, double-blind clinical trial. *The American journal of clinical nutrition*, 2016, 103.3: 926-933.
17. BOUNOUS, Gustavo. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Alternative Medicine Review*, 2001, 6.3: 342-342.
18. MORENO, Y. F., et al. Features of whey protein concentrate supplementation in children with rapidly progressive HIV infection. *Journal of tropical pediatrics*, 2006, 52.1: 34-38.
19. CLARKOVÁ, Nancy. *Sportovní výživa: Pro pěknou postavu, dobrou kondici, výkonnostní trénink*. Praha: Grada, 2002. ISBN 80-247-9047-5.
20. PÁNEK, Jan, Jan POKORNÝ, Jana DOSTÁLOVÁ a Pavel KOHOUT. *Základy výživy*. Praha: Svoboda Servis, 2002. ISBN 80-86320-23-5.
21. MACKENZIE-SHALDERS, Kristen L., et al. The effect of a whey protein supplement dose on satiety and food intake in resistance training athletes. *Appetite*, 2015, 92: 178-184.
22. ZIMMER, J. Paul. More evidence is needed for reformulation of fortified blended foods with whey protein concentrate. *The Journal of nutrition*, 2012, 142.4: 647-648.
23. GROFOVÁ, Zuzana. *Nutriční podpora -- Praktický rádce pro sestry*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1868-2.
24. SAMEK, Pavel. Zmatky kolem syrovátkového proteinu. In: *PROM-IN: We build your body* [online]. Toužim: artifex instant, 2016 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.prom-in.cz/clanek/zmatky-kolem-syrovatkoveho-proteinu>

25. RAWBUZZ [online]. RawBuzz [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://www.rawbuzz.com/Sunwarrior-Protein-Value-Pack-p/1333value.htm>
26. BRADON, D.L., FRIEDMAN, M., Immunoassays of Soy Proteins,
J. Agriculture Food Chemistry., 2002, 50 (22), pp 6635–6642
27. RICHTÁROVÁ, Eva. *S ovocem a zeleninou zdravěji*. Ludgeřovice: Pali, c2010.
ISBN 978-80-87389-07-2.
28. EKOPRODUKT [online]. Jinačovice: Ekoprodukt [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://www.soja.cz/o-soji.html>
29. FRIEDMAN, Mendel a David L. BRANDON. *Nutritional and Health Benefits of Soy Proteins* †. DOI: 10.1021/jf0009246. ISBN 10.1021/jf0009246.
30. *Věštírna Pythia* [online]. Karlovy Vary, 2016 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://www.vestirnapythia.com/?p=1744>
31. VESELÁ, Iva. Sója - příznivé živiny i toxické látky. Které produkty
upřednostnit? In: *RONNIE* [online]. Praha: Erasport, 2014 [cit. 2017-06-06].
Dostupné z: <http://kulturstika.ronnie.cz/c-19266-soja-priznive-ziviny-i-toxicke-latky-ktere-produkty-uprednostnit.html>
32. OSBORNE, T.B., CAMPBELL, G.F., Protein of the pea, 1989, Journal of American Chemical Society, 20, pp. 348 – 362 In: MANJAYA, J.G., SUSEELAN, K.N., GOPALAKRISHNA, T., PAWAR, S.E., BAPAT, V.A., Radiation induced variability of seed storage proteins in soybean [Glycine max (L.) Merrill], 2007, Food Chemistry, 100, pp. 1324 – 1327
33. KADLEC, P., DOSTÁLOVÁ, J., et al., , Technologie potravin I., 1.vyd., Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2007, p. 196-199, ISBN 80-7080-509-9
34. CAHA, Jan. Sójový protein. In: *AKTIV* [online]. Brno: Selltime, 2012 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <https://aktin.cz/sojovy-protein>
35. VAN DER HORST, H. C.; HANEMAAIJER, J. H. Cross-flow microfiltration in the food industry. State of the art. Desalination, 1990, 77: 235-258.
36. ČAKL, Jiří. Úvod do procesů a zařízení potravinářských výroby I. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2013. ISBN 978-80-7395-671-4.
37. *MemBrain* [online]. Stráž pod Ralskem: MemBrain [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <https://www.membrain.cz/kontakty.html>
38. *Nutrend* [online]. Olomouc: Nutrend D.S. [cit. 2017-06-06]. Dostupné z: <http://www.nutrend.cz/cfm-nejmodernejsi-vyrobní-technologie-proteinu-a29762.htm>

39. CZEMP [online]. Česká Lípa: Czemp [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://www.czemp.cz/cs/membranove-procesy/tlakove-membranove-procesy>
40. ŽIŽLAVSKÝ, Jiří. Separační metody izolace bílkovin: mikrofiltrace, ultrafiltrace a další. In: *EFIA* [online]. eFIA, 2015 [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://www.efia.cz/2015/08/05/separacni-metody-izolace-bilkovin-mikrofiltrace-ultrafiltrace-a-dalsi/>
41. JIRÁNKOVÁ, Hana. *Membránové procesy v potravinářství a mlékárenství* [online prezentace]. Pardubice: Ústav environmentálního a chemického inženýrství, UPa, [cit. 2017-06-06]. Dostupný z
<http://www.czemp.cz/sites/default/files/clanek/1071/prilohy/1.mempro-mlk.pdf>
42. FRITZ, James S. Ion chromatography. *Analytical Chemistry* [online]. 1987, **59**(4), 335A-344A [cit. 2017-06-08]. DOI: 10.1021/ac00131a002. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00131a002>
43. *Ověření čistoty a charakterizace biomolekul.* [online. [ci. 2017-6-10]. Dostupné z:
http://webcast.skolaprofession.cz/Contexts/profession/Documents/SMB_Overeni_cistoty.pdf
44. ŠKROBÁK, F.; Metody izolace a identifikace mléčných proteinů. Bakalářská Práce. Universita Tomáše Bati ve Zlíně. 2012.
45. BÍLKOVÁ, Kateřina a Blanka KRÁLOVÁ. *Izolace biomakromolekul.* Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-7080-288-x.
46. KLUSÁČKOVÁ, Monika. *Chromatografie „Královna analýz“* [online prezentace]. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AVČR, v.v.i [cit. 2017-06-06]. Dostupný z <http://docplayer.cz/2058765-Chromatografie-kralovna-analyz.html>
47. *Institut Galenus* [online]. Institut Galenus [cit. 2017-06-06]. Dostupné z:
<http://galenus.cz/clanky/vyziva/bilkoviny-vyzivova-hodnota-bilkovin.html>
48. WANG, Ting, et al. Authentication of Whey Protein Powders by Portable Mid-Infrared Spectrometers Combined with Pattern Recognition Analysis. *Journal of food science*, 2015, 80.10: C2111-C2116.
49. VINKLÁRKOVÁ, Bc. Bára. *Stanovení celkové sérové bílkoviny Kjeldahlovou metodou vhodné pro certifikaci kalibračních a kontrolních materiálů.* Brno, 2013. Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav chemie.
50. CHURÁČEK, J. a kolektiv. *Analytická separace látek.* Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1990, s. 276.-277. ISBN 80-03-00569-8

51. RUPRICHOVÁ, Lenka, Michaela DRAČKOVÁ, Ivana BORKOVCOVÁ a Lenka VORLOVÁ. ALLERGENIC PROTEINS IN SHEEP MILK. *Potravinářstvo*. 2011, **5.**, 396-398
52. HEJTMÁNKOVÁ, A., B. JANŠOVÁ a H. DRAGOUNOVÁ. *Obsah a složení syrovátkových bílkovin kozího mléka*. In: *Agris* [online]. Praha: Katedra chemie ČZU 2005 [cit. 2017-06-08]. Dostupné z: http://www.agris.cz/Content/files/main_files/75/153025/33_06.pdf
53. PEÑA-RAMOS, E Aida, Youling L XIONG a Guillermo E ARTEAGA. *Fractionation and characterisation for antioxidant activity of hydrolysed whey protein*. DOI: 10.1002/jsfa.1886. ISBN 10.1002/jsfa.1886. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.1886>
54. ČURDA, Ladislav. *Kolostrum jako zdroj nových primárních produktů v potravinách a doplňcích straci vyznačujících se zlepšujícími dietickými vlastnostmi a vysokým obsahem přirozených biologicky aktivních látek*. [online]. VŠCHT Praha, 2013. [cit. 2017-6-10]. Dostupné z: <http://www.ingredia.cz/wp-content/uploads/2013/11/zaverecna-zprava-2012.pdf>
55. RESTANI, P., T. VELONA, A. PLEBANI, A. G. UGAZIO, C. POIESI, A. MURARO a C. L. GALLI. Evaluation by SDS-PAGE and immunoblotting of residual antigenicity in hydrolysed protein formulas. *Clinical and Experimental Allergy*. 1995, (25), 651-658.
56. ŠUSTOVÁ, K., MLČEK, J., *Využití NIR analyzátoru ke kontrole kvality mléka a mléčných výrobků* [online]. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Ústav Technologie potravin, [cit. 2017-06-06].
57. *Infračervená spektroskopie*. [online]. VŠCHT Praha. [cit. 2017-6-10]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/lms/Zverze/Infrared.htm>