

# 1. ÚVOD

Bílkoviny jsou makromolekulární látky, které vznikají vzájemnou vazbou mnoha set molekul různých aminokyselin. Bílkoviny obsahují vázané atomy uhlíku (50 až 55 %), vodíku (6 až 7 %), kyslíku (20 až 23 %), dusíku (12 až 17 %), někdy též síru, fosfor a jod.

Většina bílkovin je rozpustná ve vodě a zředěných roztocích solí, v organických rozpouštědlech se bílkoviny nerozpouštějí. Za zvýšené teploty se jejich struktura porušuje, což se projevuje jejich vysrážením z roztoku.

Bílkoviny jsou nepostradatelnou složkou potravy živočichů. Organismy živočichů nejsou schopny vytvářet bílkoviny z minerálních látek tak dlouho jako rostliny, a proto je musí přijímat v potravě. Z rostlinné potravy obsahují nejvíce bílkovin luštěniny (čočka, fazole, hrách), méně již obiloviny a brambory. Zdrojem živočišných bílkovin je zejména maso, vejce, mléko a sýr. Při trávení lidský i živočišný organismus nejprve bílkoviny přijaté potravou rozloží na jednodušší látky (popř. až na aminokyseliny) a z nich potom vytváří bílkoviny jiného, sobě vlastního složení. Každý druh organismu vytváří bílkoviny charakteristického složení. Pro tvorbu bílkovin a také přenos dědičných vlastností mají základní význam nukleové kyseliny, které se organismu vyskytují zároveň s bílkoviny.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 BÍLKOVINY

Bílkoviny jsou pro výživu člověka naprosto nutné a nenahraditelné. Bez nich by nebyla možná stavba a obnova tkání ani tvorba bílkovin s určitou funkcí v organismu (enzymy nebo bílkoviny krevní plasmy, nukleové kyseliny a další). V případě, kdy organismus nemá jinou možnost, využije bílkoviny i na pokrytí potřeb energie. Bílkoviny se musí rozštěpit v několika fázích až na nejmenší stavební prvky, kterými jsou aminokyseliny. Teprve potom jsou využitelné. Skladba a množství aminokyselin, které si tělo nedokáže samo vytvořit (esenciální aminokyseliny) jsou kritériem, podle něhož se posuzuje kvalita bílkovinných zdrojů. V dřívějších letech byla z tohoto důvodu nepřiměřeně vyzdvihována hodnota živočišných bílkovin, dnes již je situace trochu jinde. Rostlinné bílkoviny lze totiž mezi sebou kombinovat tak, že výsledkem je kompletní spektrum nepostradatelných aminokyselin. Optimální situace nastává tehdy, když člověk kombinuje ve stravě jak rostlinné, tak živočišné zdroje bílkovin.<sup>1</sup>

#### 2.1.1 BÍLKOVINY A VLIV NA LIDSKÝ ORGANISMUS

Bílkoviny můžeme popsat jako výživné látky pro stavbu těla. Denní doporučená dávka bílkovin v potravě je asi 10–15 % dodávané energie, to je 0,8 g bílkovin na kilogram tělesné hmotnosti. Nedostatek bílkovin nepříznivě ovlivňuje tělesný i duševní vývoj. Nadměrný přísun je naopak velkou metabolickou zátěží pro játra i ledviny.

Bílkoviny jsou složité látky, skládající se z menších jednotek - aminokyselin. Molekula bílkovin je vlastně jeden nebo více řetězců aminokyselin. Aminokyseliny jsou organické látky složené z atomů uhlíku, vodíku, kyslíku, dusíku, ale často i jiných jako třeba z fosforu či síry. V přírodě se vyskytuje přes 80 druhů aminokyselin, ale jen dvacet z nich tvoří bílkoviny. Některé aminokyseliny, které jsou potřebné k výrobě vlastních bílkovin, si lidské tělo umí přestavět z jiných aminokyselin. Tyto aminokyseliny se tělu nemusejí dodávat, jsou nazývány neesenciální. Jiné aminokyseliny si ale tělo neumí samo vytvořit, a proto musí být dodávány v potravě. Těm se říká esenciální. V bílkovinném řetězci jsou sousedící aminokyseliny spojeny takzvanou peptidovou vazbou. O bílkovinách mluvíme tehdy, když je jejich řetězec

složen z více než sta aminokyselinových jednotek a když má velkou molekulovou hmotnost.<sup>2</sup>

### 2.1.2 METABOLISMUS BÍLKOVIN

Potřebné aminokyseliny dostává člověk z jídla, kde jsou obsaženy hlavně ve formě bílkovin. Tyto cizí bílkoviny nemůže lidské tělo využít, a tak se při trávení štěpí na aminokyseliny. Trávení bílkovin začíná v žaludku, kde enzym pepsin rozbíjí některé peptidové vazby, a tím rozděluje bílkoviny na kratší řetězce. V tenkém střevě rozkládají enzymy zbylé polypeptidy na aminokyseliny.

Aminokyseliny jsou pak vstřebávány stěnou tenkého střeva a rozváděny krevním oběhem do těla. Buňky je používají k výrobě svých nových bílkovin. Přebytké aminokyseliny se v lidském těle nikde neukládají a jsou odbourávány v játrech procesem zvaným deaminace. Při deaminaci se z aminokyselin odštěpuje dusík s atomy vodíku, čímž se tvoří amoniak -  $\text{NH}_3$ . Játra jsou nejdůležitějším místem, kde je amoniak metabolizován, a to přeměnou na netoxickou močovinu. Močovina jako konečný produkt se vylučuje ledvinami.

### 2.1.3 ZDROJ BÍLKOVIN

**Živočišné:** jejich výhodou je vyšší podíl esenciálních aminokyselin (jsou označovány, jako plnohodnotné).

Nevýhodou je, že s sebou přináší často i velké množství tuku a cholesterolu. Proto je třeba klást důraz na přísun jen nízkotučných zdrojů - libové maso, drůbež bez kůže, ryby, králík, šunka, zvěřina, vejce, bílky, nízkotučné sýry, netučný tvaroh.

**Rostlinné:** výhody - většinou nízkotučné, přináší zároveň vlákninu a řadu ochranných látek rostlinného původu.

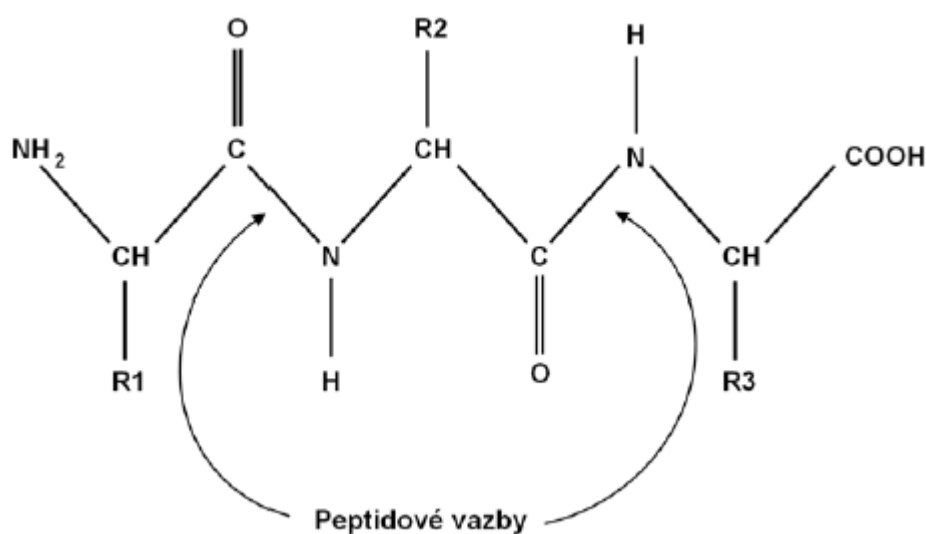
Nevýhoda – kromě sóje a sójových výrobků nemají všechny nepostradatelné aminokyseliny (jsou nazývány jako neplnohodnotné). Bohatým zdrojem jsou luštěniny, sójové boby a sójové výrobky (kostky, drť, plátky, boby, tofu), rostlinná „masa“.

**Bílkovinné koncentráty:** používají se jako doplněk k přirozeným zdrojům pro zabezpečení požadovaného, dostatečného příjmu bílkovin při redukci tukové tělesné hmoty. Značný význam mají bílkovinné koncentráty jako rychlá dodávka proteinů před a po fyzické zátěži.

Výhody: jsou plnohodnotné, „čisté“ - s minimálním přísunem sacharidů, tuků, cholesterolu, rychlá příprava, kdykoliv „po ruce“ v podobě koktejlu.<sup>2</sup>

#### 2.1.4 STAVBA BÍLKOVIN

Polypeptidový řetězec je tvořen mnoha aminokyselinovými zbytky spojenými peptidovou vazbou [obr. 1]<sup>4</sup>



Obr. 1. Peptidová vazba

#### 2.1.5 DĚLENÍ BÍLKOVIN

##### a) Primární struktura:

Proteiny všech organismů obsahují 20 základních aminokyselin. Postupnost aminokyselin v polypeptidovém řetězci je tzv. primární struktura proteinů

##### b) Sekundární struktura:

Sbalení polypeptidového řetězce v důsledku vytváření vodíkových vazeb mezi karbonylovými a imidovými skupinami hlavního řetězce proteinu.

##### c) Terciální struktura:

Prostorové uspořádání všech atomů v jednom polypeptidovém řetězci. Dále se dělí na supersekundární strukturu (strukturní motivy) což je spojení několika málo

elementů sekundární struktury skrze interakce postraních řetězců; a domény což jsou shluky strukturních motivů.

#### **d) Kvartérní struktura**

Vyskytuje se u proteinů, které se skládají z více než jednoho peptidového řetězce (tzv. podjednotky). Podjednotky nejsou spojeny peptidovými vazbami.<sup>5</sup>

## **2.2 DŮKAZ BÍLKOVIN**

Pro důkaz bílkovin v potravinách se nejčastěji využívají srážecí a barevné reakce.

### **2.2.1 SRÁŽECÍ CYSTEINOVÁ REAKCE**

Bílkoviny obsahující aminokyseliny cystein a cystin dávají po zahřátí s roztokem NaOH a přidání rozpustné olovnaté soli černou sraženinu PbS. Působením hydroxidu dojde k převedení kovalentně vázané síry do roztoku ve formě sulfidových aniontů, které potom reagují s přítomnými olovnatými kationty na nerozpustný PbS. Do 0,5 % roztoku octanu olovnatého přidáváme 20 % roztok NaOH až do rozpuštění vznikající sraženiny. Přidáme trochu neředěného vaječného bílku a opatrně zahřejeme. Roztok se zbarví hnědě až černě vznikající sraženinou PbS.<sup>6</sup>

### **2.2.2 BAREVNÉ REAKCE**

Bílkoviny jsou přírodní polymerní sloučeniny složené z aminokyselin, které jsou vázané kovalentními peptidovými vazbami. Chemické reakce bílkovin jsou způsobené funkčními skupinami -NH<sub>2</sub>, -COOH, -OH, -SH, stejně jako přítomností aromatických a heterocyklických skupin. Peptidická vazba je charakteristická pro všechny typy reakcí.

#### **2.2.2.1 Biuretova reakce**

Touto reakcí dokazujeme přítomnost peptidické vazby -CO-NH-. S roztokem síranu měďnatého v alkalickém prostředí vznikají červenofialové komplexní měďnaté sloučeniny. K 1 ml roztoku bílkoviny přidáme přibližně 1 ml roztoku síranu měďnatého.

Potom přidáváme roztok NaOH až do rozpuštění sraženiny, vznikne roztok s charakteristickým zbarvením.<sup>7</sup>

#### **2.2.2.2 Xantoproteinová reakce**

Důkaz spočívá v nitraci aromatického jádra příslušných aromatických aminokyselin v bílkovině (tryptofan, tyrozin a fenylalanin). Působením kyseliny dusičné nastává nitrace aromatického jádra za vzniku žlutých nitrosloučenin. Roztok bílkoviny povaříme ve zkumavce s koncentrovanou kyselinou dusičnou. Vložky vysrážené bílkoviny mají charakteristické žluté zbarvení. Odlijeme kyselinu a vložky zahřejeme s přebytkem hydroxidu sodného, žlutá barva se změní na oranžovou až červenou.<sup>3</sup>

### **2.3 STANOVENÍ BÍLKOVIN**

#### **2.3.1 METODA DLE KJELDAHLA**

Mineralizace koncentrovanou  $H_2SO_4$  za přítomnosti selenového katalyzátoru vzniká  $(NH_4)_2SO_4$ . V alkalickém prostředí se uvolní amoniak, který se predestiluje do předlohy se standardizovanou  $H_2SO_4$  a její přebytek se stanoví alkalimetry.<sup>7</sup>

#### **2.3.2 METODA DLE CONWAYE**

Vytěsněním amoniaku zalkalizováním roztoku vzorku a jeho jímání v kyselině borité se uvádí v uzavřeném prostoru v Conwayových miskách. Amoniak absorbovaný v kyselině borité lze pak stanovit přímou titrací kyselinou sírovou. Užívá se u stanovení čerstvosti masa.<sup>3</sup>

#### **2.3.3 Spektrofotometrické stanovení Nesslerovým činidlem**

Dusík vázaný v bílkovinách se mineralizací kyselinou sírovou převede na amonnou sůl, která se stanoví po reakci s Nesslerovým činidlem spektrofotometricky při vlnové délce 436 nm v alkalickém prostředí.<sup>8</sup>

Stanovení probíhá podle reakce (1).

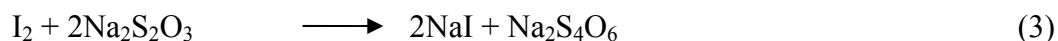
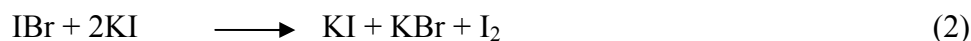


### 2.3.4 Steineggerova metoda

Po neutralizaci vzorku odměrným roztokem NaOH na fenolftalein se přidavkem formaldehydu blokuje působnost volných skupin  $-\text{NH}_2$ . Po promíchání se provede titrace odměrným roztokem NaOH. Metoda se užívá např. při stanovení bílkovin v mléce.

### 2.3.5 Hanušova metoda

Jako titrační činidlo se používá roztok bromidu jodného. Na roztok tuku v chloroformu se působí roztokem bromidu jodného v kyselině octové. Nezareagovaný bromid jodný se přidavkem jodidu draselného převede na jod a ten se titruje odměrným roztokem thiosíranu sodného na škrobový maz. viz rce. (2),(3)<sup>8</sup>



### 2.3.6 Dumasova metoda

Metoda může být použita pro stanovení dusíku vázaného v aminoskupině, nitroskupině, azoskupině, hydrazoskupině i jako heteroatom. Při uvedeném stanovení se organická látka smísí s práškovým oxidem měďnatým a na platinové lodičce se vpraví do spalovací trubice, která je naplněna drátkovým CuO a Cu. Trubice se zahřívá v proudu oxidu uhličitého. Studovaná organická látka se rozkládá za vzniku elementárního uhlíku, oxidu uhličitého, vody, elementárního dusíku a oxidů dusíku. Oxidy dusíku se redukuje na vrstvě rozžhavené mědi na elementární dusík. Elementární dusík se společně s ostatními plynnými produkty vede do plynoměrné byrety

(azotometru) naplněné 40 % roztokem KOH. Oxid uhličitý i voda se v plynoměrné byretě absorbují, změří se objem vzniklého elementárního dusíku.<sup>9</sup>

### 2.3.7 Přímá spektrofotometrická stanovení (UV oblast)

Proteiny, obsahující vedlejší řetězce tyrosinu a tryptofanu, absorbují světlo v UV oblasti spektra při 275 až 280 nm. Při vhodném naředění vzorku je možné takto stanovit celkový obsah proteiny z hodnoty absorbance v této oblasti spektra. Fenylyalanin absorbuje slabě a jeho absorbanci je možné v řadě případů zanedbat. Specifický absorpční koeficient (absorbance jednocentimetrového roztoku bílkoviny v jednocentimetrové kyvetě) se pohybuje v rozmezí 3 – 30 u většiny proteinů. Metoda je citlivá pro stanovení čistých proteinů nebo jejich směsí v koncentračním rozsahu 0,1 - 1 mg.ml<sup>-1</sup>. Velkou výhodou je, že jde o nedestruktivní metodu. Pracuje se s křemennými kyvetami, nikoli sklo ani plast.<sup>10</sup>

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 VZORKY SVĚTLÝCH SUŠENEK

*Vzorek č.1* : Dětské piškoty OPAVIA-LU a.s., Praha, ČR

(obsah bílkovin uvedený na obale 11,1 %)

*Vzorek č.2* : Tesco plain biscuit TESTO STORES ČESKÁ REPUBLIKA a.s.,  
Praha, ČR

(obsah bílkovin uvedený na obale 6 %)

*Vzorek č. 3* : *Bebe*, OPAVIA-LU a.s., Praha, ČR

(obsah bílkovin uvedený na obale 8,4 %)

*Vzorek č. 4* : *Bebe* – Dobré ráno kulaté, OPAVIA-LU a.s., Praha, ČR

(obsah bílkovin uvedený na obale 7,3 %)

#### 3.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

Selenový katalyzátor

Kyselina sírova p. a., LACH-NER a.s., Neratovice, ČR

NaOH p. a., LACH-NER a.s., Neratovice, ČR

Destilovaná voda (UPce)

Indikátor Tashiro

CuSO<sub>4</sub> p. a., LACH-NER a.s., Neratovice, ČR

Kyselina šťavelová p. a., LACH-NER a.s., Neratovice, ČR

CaCl<sub>2</sub> p. a., LACH-NER a.s., Neratovice, ČR

### 3.3 PRACOVNÍ POSTUPY

#### 3.3.1 MINERALIZACE CELKOVÝCH BÍLKOVIN

S přesností na 4 desetinná místa bylo naváženo cca 1,0 g rozmělněného a dokonale homogenizovaného vzorku sušenek a kvalitativně vpraveno do 100 ml Kjeldahlovy spalovací baňky.

Poté byly přidány cca 3 g selenového katalyzátoru, 25 ml koncentrované kyseliny sírové a baňka byla uzavřena malou nálevkou. Kjeldahlova baňka byla umístěna nad kahan pod úhlem cca 45° a opatrně bylo započato s mineralizací. Reakční směs se nechala vařit do vyjasnění a odbarvení (slabě nazelenalé zbarvení v přítomnosti měďnaté soli) a poté ještě 30 minut. Po skončení mineralizace se baňka nechala zchladnout, její obsah byl převeden do 100 ml odměrné baňky, po vytemperování na teplotu laboratoře byla baňka doplněna destilovanou vodou po rysku a celý její obsah byl důkladně promíchán.

Do destilační baňky bylo odpipetováno 10 ml roztoku vzorku a po začátku destilace bylo opatrně přidáváno 25 ml 30 % NaOH. Bylo destilováno do předlohy s přesně 10 ml 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (standardizované) a s přidavkem indikátoru Tashiro. Veškerý amoniak byl uvolněn asi do 10 minut. Po této době byl konec aparatury opláchnut destilovanou vodou. Přebytek kyseliny sírové byl titrován již standardizovaným 0,1 M NaOH do barevného přechodu indikátoru. Obsah veškerých bílkovin  $x$  (v % m/m) byl počítán dle vztahu (4):

$$x(\%) = \frac{V \cdot c \cdot f_{zř} \cdot M \cdot f_{em}}{m_{vz}} \cdot 100 \quad (4)$$

kde  $V$  je spotřeba 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pro neutralizaci uvolněného amoniaku v ml,  $c$  je přesná koncentrace H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  $f_{zř}$  je zředovací faktor,  $M$  je molární hmotnost dusíku N<sub>2</sub>,  $f_{em}$  je empirický faktor pro přepočet obsahu dusíku na obsah veškerých bílkovin.

### 3.3.2 MINERALIZACE ČISTÝCH BÍLKOVIN

Do kádinky 250 ml bylo naváženo cca 1,5 g vzorku sušenek (s přesností na čtyři desetinná místa), přidáno 50 ml destilované vody, suspenze byla povařena. Následně bylo přidáno 25 ml roztoku  $\text{CuSO}_4$  a za stálého míchání ještě 25 ml 1,25 %  $\text{NaOH}$ . Sraženina byla odfiltrována a promívána do vymizení alkalické reakce (kontrola pH papírkem).

Sedlina byla převedena do Kjeldahlovy baňky 250 ml, přidáno cca 4 g selenového katalyzátoru, 40 ml koncentrované kyseliny sírové a baňka byla uzavřena malou nálevkou. Dále mineralizace probíhá jako u stanovení celkových bílkovin. Obsah čistých bílkovin  $x$  (v % m/m) lze vypočítat podle vztahu (5):

$$x(\%) = \frac{V \cdot c \cdot f_{zř} \cdot M \cdot f_{em}}{m_{vz}} \cdot 100 \quad (5)$$

kde je  $f_{em}$  empirický faktor pro přepočet obsahu dusíku na obsah čistých bílkovin (6,25).

### 3.3.3 STANDARDIZACE 0,1 M ROZTOKU $\text{NaOH}$

S přesností na čtyři desetinná místa bylo naváženo diferenčně cca 537 mg dihydrátu kyseliny šťavelové, navážka byla vpravena do titrační baňky a zředěna přiměřeným množstvím destilované vody. Následně bylo přidáno několik kapek indikátoru Tashiro. Titrováno bylo odměrným roztokem 0,1M  $\text{NaOH}$  do šedého nádechu roztoku, poté bylo přidáno 10 ml 20 %  $\text{CaCl}_2$  a roztok byl opatrně dotitrován do zeleného zbarvení. Standardizace byla prováděna třikrát.

### 3.3.4 STANDARDIZACE 0,05 M ROZTOKU $\text{H}_2\text{SO}_4$

Do titrační baňky bylo odpipetováno 10 ml 0,05 M roztoku kyseliny sírové, přidáno několik kapek indikátoru Tashiro a titrováno již standardizovaným roztokem 0,1 M  $\text{NaOH}$  z fialového do zeleného zbarvení.

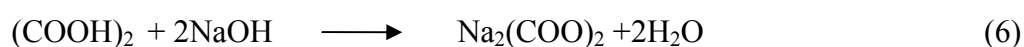
## 4. VÝSLEDKY A DISKUSE

V této bakalářské práci bylo sledováno množství čistých a celkových bílkovin v různých vzorcích světlých sušenek. Každý vzorek byl proměřen 3x.

### 4.1 STANDARDIZACE ODMĚRNÝCH ROZTOKŮ

#### a) 0,1 M NaOH

Standardizace byla prováděna pro přesné výsledky 3x dle postupu 3.3.3. a rovnice (6). Výsledky byly shrnuty v tabulce 1.<sup>11</sup>



Tabulka 1.: Tabulka navážených a spotřebovaných hodnot ke standardizaci

Navážka[g]	Spotřeba[ml]	Koncentrace[mol. <sup>-1</sup> ]
0,0625	10,0	0,0992
0,0545	9,5	0,0910
0,0633	10,5	0,0956

Výsledná koncentrace vypočtena ze 3 standardizací byla 0,0953 M NaOH.

#### b) 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Standardizace byla prováděna třikrát dle postupu 3.3.4 a rovnice (7). Výsledky byly shrnuty do tabulky 2.<sup>11</sup>



Tabulka 2.: Spotřeba odměrného roztoku ke standardizaci.

spotřeba [ml]	koncentrace[mol. <sup>-1</sup> ]
11,5	0,0559
11,2	0,0607
10,4	0,0506

Průměrná spotřeba odměrného roztoku činila 11,2 ml, výsledná koncentrace činila 0,05573 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

## 4.2 STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÝCH BÍLKOVIN VE VZORKU SVĚTLÝCH SUŠENEK

Vzorek se mineralizuje varem v kyselině sírové za přítomnosti selenového katalyzátoru. Dusíkaté látky se převedou na síran amonný, z něhož se alkalickém prostředí uvolní amoniak, který se předestiluje do předlohy se standardizovanou  $H_2SO_4$  a její přebytek se stanoví alkalimetricky.

Byly analyzovány čtyři vzorky světlých sušenek, jejichž hmotnosti a spotřeby odměrných roztoků jsou uvedeny v tabulce 3. Pro výpočet bílkovin byl užit vztah (4). Obsah celkových bílkovin v jednotlivých vzorcích byl shrnut v tabulce (4).

Tabulka 3: Spotřeby odměrného roztoku NaOH na navážené množství vzorku světlých sušenek

Vzorek č.	hmotnost vzorku [g]			spotřeba NaOH [ml]		
	$m_1$	$m_2$	$m_3$	$V_1$	$V_2$	$V_3$
1	1,1075	1,0035	1,0080	15,45	14,85	15,30
2	1,1365	1,1118	1,1581	10,45	10,95	11,10
3	1,1320	1,0320	1,1348	10,40	10,60	10,80
4	1,0419	1,0220	1,0325	10,80	10,60	10,20

Tabulka 4: Obsah celkových bílkovin ve vzorcích

vzorek	obsah veškerých bílkovin (%)			Ø
	1	2	3	
1	6,3	6,0	6,1	$6,1 \pm 0,15$
2	4,1	4,8	4,6	$4,4 \pm 0,36$
3	4,0	4,3	4,6	$4,3 \pm 0,30$
4	4,6	4,0	4,3	$4,3 \pm 0,04$

Obsah celkových bílkovin ve vzorcích zjištěný experimentálně je ve všech případech nižší než uváděný obsah na obalu vzorku.

### 4.3 STANOVENÍ OBSAHU ČISTÝCH BÍLKOVIN VE VZORKU SVĚTLÝCH SUŠENEK

Působením některých látek se čisté rozpustné bílkoviny vysrážejí a oddělí filtrací. Sedlina spolu s filtrem se zmineralizuje a obsah dusíkatých látek se určí způsobem popsaným při stanovení veškerých bílkovin.

Byly analyzovány čtyři vzorky světlých sušenek, jejichž hmotnosti a spotřeby odměrných roztoků jsou uvedeny v tabulce 5. Pro výpočet obsahu bílkovin byl použit vztah (5). Obsah čistých bílkovin je shrnut v tabulce 6.<sup>12</sup>

Tabulka 5: Spotřeby odměrného roztoku H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na navážené množství vzorku světlých sušenek

Vzorek č.	hmotnost vzorku [g]			*spotřeba H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [ml]		
	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>
1	1,5308	1,5018	1,5514	10,90	11,10	11,05
2	1,5061	1,5550	1,5106	10,60	11,10	11,00
3	1,5877	1,4818	1,5888	10,20	10,20	10,80
4	1,5300	1,5360	1,5532	10,80	10,60	10,20

\*Počítáno ze 3 stanovení

Tabulka 6: Obsah čistých bílkovin ve vzorcích

vzorek	obsah čistých bílkovin (%)			Ø
	1	2	3	
1	4,2	4,4	4,0	4,2 ± 0,20
2	3,7	4,4	4,0	4,0 ± 0,35
3	3,2	3,2	3,9	3,4 ± 0,40
4	3,9	3,7	3,2	3,6 ± 0,36

Experimentálně zjištěné hodnoty čistých bílkovin uvedené v tabulce byly použity pro výpočet hrubých bílkovin.

## 4.4 OBSAH HRUBÝCH BÍLKOVIN

Obsah hrubých bílkovin vyplývá z rozdílu experimentálně zjištěných hodnot obsahu celkových a čistých bílkovin. Obsah hrubých bílkovin je shrnut v tabulce 7.

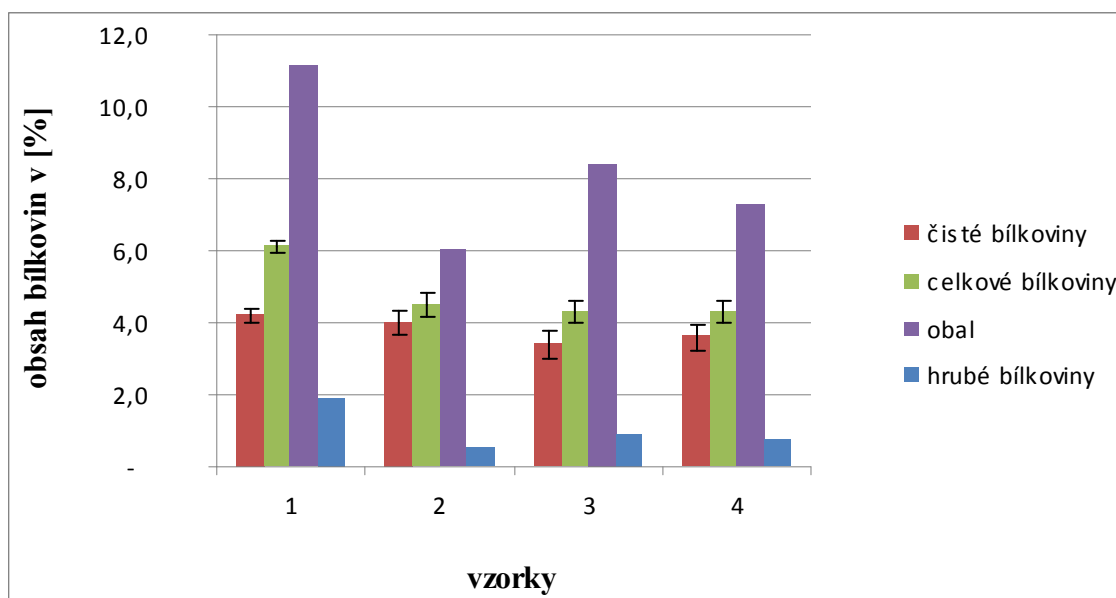
Tabulka 7. Hodnoty hrubých bílkovin

vzorek	veškeré bílkoviny	čisté bílkoviny	hrubé bílkoviny
1	6,1	4,2	1,9
2	4,5	4,0	0,5
3	4,3	3,4	0,9
4	4,3	3,6	0,7

## 4.5 GRAFICKÉ SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky stanovení jsou pro lepší znázornění uvedeny v grafické podobě v obrázku 1. Stanovené hodnoty obsahu bílkovin u jednotlivých vzorků světlých sušenek se neshodují s údaji na obalech světlých sušenek.

Obrázek 1. Přehled bílkovin ve světlých sušenkách.



Z obrázku 1 vyplývá, že experimentální hodnoty obsahu veškerých bílkovin jsou ve všech případech nižší než hodnoty uvedené na obalech jednotlivých světlých sušenek. Nejvíc bílkovin, a to jak veškerých tak čistých, bylo nalezeno ve vzorku č. 1, naopak nejméně u vzorku č. 3.

## 5. Závěr

Bakalářská práce se zabývala stanovením obsahu veškerých a čistých bílkovin v různých vzorcích světlých sušenek.

V teoretické části byl obecně popsán vliv bílkovin na lidské zdraví, metabolismus bílkovin a důkazy bílkovin. Poslední kapitola teoretické části byla zaměřena na prověření metod pro jejich stanovení.

V experimentální části byl popsán souhrn použitých chemikálií a stručně charakterizovány použité vzorky. Dále byl popsán konkrétní pracovní postup mineralizace vzorků dle Kjeldahlova s následným alkalimetrickým stanovením vzniklých amonných solí. Pomocí Kjeldahlovy mineralizace byl stanoven obsah celkových a čistých bílkovin. Celkem byly analyzovány čtyři vzorky světlých sušenek. U jednotlivých vzorků bylo stanovení provedeno třikrát. Výsledné hodnoty byly zprůměrnovány.

Naměřené hodnoty obsahu veškerých bílkovin v analyzovaných vzorcích byly srovnány s údaji od výrobce, experimentálně získané hodnoty byly nižší než hodnoty uvedeny na obalu.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. *Fórum životní energie*. 2007 [cit. 2008-06-18]. Dostupný z WWW: <http://zivotni-energie.cz/bilkoviny-a-jejich-zakladni-rozdeleni.html>
2. *Fórum bílkoviny* 2007 [cit. 2008-06-18]. Dostupný z WWW: <http://www.bilkoviny.cz>
3. HÁLKOVÁ, J. a RUMÍŠKOVÁ, M. *Analýza potravin*. 2. vyd. RNDr. Ivan Straka, Újezd u Brna 2001. 101 s.
4. *Peptidická vazba*. c2007 [cit. 2008-06-18]. Dostupný z WWW: <http://peptidicka-vazba.navajo.cz/>
5. KOTLÍK, B. a RŮŽIČKOVÁ, K. *Chemie v kostce II*. 1. vyd. FRAGMENT Praha, 2002.
6. KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2002. 0 s.
7. *Univerzita Pardubice: Fakulta chemicko-technologická* [online]. [cit. 2008-06-18]. Dostupný z WWW: <http://www.upce.cz/priloha/kalch-anal2lab-uloha8>.
8. SOMMER, L. *Základy analytické chemie II* 1. vy. Brko-VUTIUM 2000. 347 s.
9. VALENTOVÁ. *Laboratorní návody Biochemie I*. 1. vy. Praha: VŠCHT Praha, 2002.
10. ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. 246 s.
11. *Návody pro laboratorní cvičení I*, Katedra analytické chemie, Univerzita Pardubice 2007.
12. DAVÍDEK, Jiří, a kolektiv. *Analýza potravin* 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1988. 122 s.

## ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	Poměr celkových a čistých bílkovin ve vzorcích světlých sušenek
Autor práce	Jana Lancůchová
Obor	Hodnocení a analýza potravin
Rok obhajoby	2008
Vedoucí práce	Ing. Martin Adam, Ph.D.
Anotace	Tato bakalářská práce se zabývá možnostmi stanovení celkových a čistých bílkovin v potravinářském průmyslu. Cílem experimentální části bylo stanovení obsahu bílkovin ve vzorcích světlých sušenek. Pro stanovení byla použita metoda dle Kjeldahla a následně alkalimetrická titrace amonných iontů.
Klíčová slova	bílkoviny metoda dle Kjeldahla sušenky

# Obsah

1.	ÚVOD.....	10
2.	TEORETICKÁ ČÁST .....	11
2.1	BÍLKOVINY .....	11
2.1.1	BÍLKOVINY A VLIV NA LIDSKÝ ORGANISMUS.....	11
2.1.2	METABOLISMUS BÍLKOVIN .....	12
2.1.3	ZDROJ BÍLKOVIN .....	12
2.1.4	STAVBA BÍLKOVIN.....	13
2.1.5	DĚLENÍ BÍLKOVIN .....	13
2.2	DŮKAZ BÍLKOVIN.....	14
2.2.1	SRÁŽECÍ CYSTEINOVÁ REAKCE.....	14
2.2.2	BAREVNÉ REAKCE .....	14
2.3	STANOVENÍ BÍLKOVIN.....	15
2.3.1	METODA DLE KJELDAHLA .....	15
2.3.2	METODA DLE CONWAYE .....	15
2.3.3	Spektrofotometrické stanovení Nesslerovým činidlem .....	15
2.3.4	Steineggerova metoda .....	16
2.3.5	Hanušova metoda .....	16
2.3.6	Dumasova metoda .....	16
2.3.7	Přímá spektrofotometrická stanovení (UV oblast).....	17
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	18
3.1	VZORKY SVĚTLÝCH SUŠENEK .....	18
3.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	18
3.3	PRACOVNÍ POSTUPY .....	19
3.3.1	Mineralizace celkových bílkovin.....	19
3.3.2	Mineralizace čistých bílkovin.....	20
3.3.3	Standardizace 0,1 M roztoku NaOH .....	20
3.3.4	Standardizace 0,05 M roztoku H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20
4.	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	21
4.1	Standardizace odměrných roztoků.....	21
4.2	Stanovení obsahu celkových bílkovin ve vzorku světlých sušenek.....	22
4.3	Stanovení obsahu čistých bílkovin ve vzorku světlých sušenek .....	23
4.4	Obsah hrubých bílkovin .....	24
4.5	Grafické srovnání výsledků.....	24

5. Závěr.....	26
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	27