

Zemědělská fakulta
Studijní program: B4131 Zemědělství
Studijní obor: Zemědělská biotechnologie
Katedra: Rostlinné výroby a agroekologie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Téma:
**Současné možnosti produkce bílkovinných
koncentrátů z rostlinných zdrojů**

Vypracovala: **Helena Kristinová**
Vedoucí bakalářské práce: Ing. Veronika Bártová, Ph.D.
Konzultant bakalářské práce: doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.

České Budějovice 2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Helena KRISTINOVÁ**
Osobní číslo: **Z08439**
Studijní program: **B4131 Zemědělství**
Studijní obor: **Zemědělské biotechnologie**
Název tématu: **Současné možnosti produkce bílkovinných koncentrátů z rostlinných zdrojů**
Zadávací katedra: **Katedra rostlinné výroby a agroekologie**

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

Cílem práce je zhodnocení současných postupů produkce bílkovinných koncentrátů z rostlinných zdrojů a možností jejich potravinářského, krmivářského a biotechnologického využití. Práce bude vypracovaná formou literárního přehledu vytvořeného na základě kritického zpracování domácích i zahraničních literárních zdrojů.

Práce bude probíhat podle následujícího schématu:

- 1) Vypracování osnovy bakalářské práce; rozvržení jednotlivých kapitol a tematických okruhů.
- 2) Vyhledání relevantních publikací v domácích i zahraničních informačních databázích.
- 3) Zpracování získaných informací a vytvoření literární rešerše na dané téma.
- 4) Shrnutí dosažených poznatků a vlastní kritické zhodnocení potenciálu současného a budoucího využití rostlinných bílkovinných koncentrátů, způsobů jejich produkce a dalšího zpracování.

Rozsah grafických prací: **3 strany**
Rozsah pracovní zprávy: **20 - 30 stran**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

SINGH J., KAUR L.(EDS.) (2009): Advance in potato chemistry and technology. Elsevier Inc. 508 p.

BÁRTA J., BÁRTOVÁ V. (2007): Bílkovin hlíz bramboru (Solanum tuberosum L.). Vědecká monografie., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České budějovice, 116 p.

GLADSTONES J.S., ATKINS C., HAMBLIN J. (EDS.) (2007): Lupins as crop plants: biology, production and utilization. CAB International, 465 p.

Publikace získané na základě vlastní práce s databázovými systémy a informačními zdroji (např. Web of Knowledge; Scopus, Wiley-Blackwell InterScience, ScienceDirect apod.)

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Veronika Bártová, Ph.D.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Konzultant bakalářské práce:

doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie


Datum zadání bakalářské práce: **15. ledna 2010**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. dubna 2011**


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.

děkan

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13 ④
370 05 České Budějovice
L.S.**


prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 15. ledna 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci na téma „Současné možnosti produkce bílkovinných koncentrátů z rostlinných zdrojů“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 2011

.....
Helena Kristinová

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce, Ing. Veronice Bártové, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, velkou podporu a pomoc při vypracování bakalářské práce. Zároveň bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za velkou podporu při průběhu celého studia.

Helena Kristinová

ANOTACE:

Cílem bakalářské práce bylo shromáždění informací o současné produkci bílkovinných koncentrátů z rostlinných zdrojů. Zaměřovala jsem se na hrách setý (*Pisum sativum* L.), sóju luštinatou (*Glycine soja*) a brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.).

Bílkovinné koncentráty z luštěnin se vyrábějí třemi základními procesy, tj. kyselou extrakcí (při pH 4,3), extrakcí roztokem alkoholu (60 – 90 %) a denaturací bílkoviny před vlastní extrakcí vody. Hrachové bílkoviny se získávají suchou nebo mokrou cestou po rozemletí lusků nebo vyluštěného hrachu. Získaná bílkovina se využívá v potravinářství a krmivářství. Sójové bílkovinné koncentráty jsou připraveny z loupaných a odtučněných sójových bobů odstraněním většiny ve vodě rozpustných složek, které nejsou bílkovinného původu. V potravinářském průmyslu se sójové bílkoviny nejvíce používají v pekařství, při výrobě masných a mléčných výrobků a produktů zdravé výživy. Bílkoviny se používají do mnoha potravinářských výrobků jako emulgátory.

Většina brambor se pěstuje pro přímý konzum, dále pro zpracování na potravinářské výrobky a pro zpracování na škrob se vzhledem k přiděleným, omezujícím kvótám pěstuje jen menší podíl brambor. Při výrobě škrobu vzniká vedlejší produkt PFJ (hlízová voda brambor). Pro izolaci bílkovin z hlízové vody se nejefektivněji jeví tepelná koagulace injekční páry, následuje separace vysrážením bílkovin a jejich konzervace sušením. Tím se získá konečný produkt, který se nabízí jako bílkovinné krmivo pro domácí a hospodářská zvířata. Emulgační vlastnosti nedenaturovaných bramborových bílkovin jsou studovány poměrně intenzivně, jen průmyslová produkce nedenaturovaných bílkovin je v EU omezena na jednoho výrobce.

Klíčová slova: bílkovina, bílkovinný koncentrát, hrách setý (*Pisum sativum* L.), sója luštinatá (*Glycine soja*), brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.)

ANOTATION:

The aim of the bachelor thesis was gather information about present possibilities of proteins concentrates production from plant sources. I focused on dried pea (*Pisum sativum* L.), soybean (*Glycine soja*) and potato tuber (*Solanum tuberosum* L.).

The protein concentrates from leguminous plants are produced by three basic processes, i.e. acid leaching (at ~pH 4.5), extracting with aqueous alcohol (60–90%), and denaturing the protein with moist heat before extraction with water. Pea protein is prepared from pulverized beans or shelled peas by dry or wet treatment. The acquired protein is used in food and feed industry. Soy protein concentrates are prepared from dehulled and defatted soybeans by removing most of the water-soluble, nonprotein constituents. Soy proteins are mostly used in the bakery, in the meat processing industry, in the production of dairy products and healthy food products. Proteins are used in many food products as emulsifiers.

The most potatoes are grown for direct consumption, for processing into the food products and for processing of starch is due to the allocated and restrictive quotas, a smaller proportion of cultivated potatoes. In the production of the starch arise a side product PFJ (potato fruit juice). In order to isolate proteins from potato fruit juice appears to be most efficient heat coagulation of steam injection, followed by separation and precipitation of proteins and their preservation by drying. This provides a final product which is offered as a protein feed for domestic and farm animals. Emulsifying properties of undenatured potato proteins have been studied quite intensively, only industrial production of denatured proteins is limited for the one producer in the EU.

Key words: protein, protein concentrate, dried pea (*Pisum sativum* L.), soybean (*Glycine soja*), potato tuber (*Solanum tuberosum* L.)

OBSAH:

1 ÚVOD	9
2 LUSKOVINY	10
2.1 Bílkoviny obsažené v luštěninách	12
2.1.1 <i>Bílkovinné koncentráty z luštěnin</i>	13
2.2 Hrách setý (<i>Pisum sativum</i> L.)	15
2.2.1 <i>Význam hrachu a složení zrna</i>	16
2.2.2 <i>Získávání bílkovin z hrachu</i>	18
2.2.3 <i>Izolát hrachové bílkoviny</i>	19
2.3 Sója luštinatá (<i>Glycine soja</i>)	19
2.3.1 <i>Význam sóji a složení zrna</i>	20
2.3.2 <i>Sójové bílkovinné koncentráty</i>	22
2.3.3 <i>Přidávání sójových koncentrátů do masných výrobků a jejich detekce</i>	24
3 BRAMBOR HLÍZNATÝ (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L.)	26
3.1 Složení bramborové hlízy	27
3.2 Produkce a složení hlízové vody	29
3.2.1 <i>Izolace bílkovin z hlízové vody brambor</i>	30
4 ZÁVĚR	33
5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	34

1 ÚVOD

Bílkoviny jsou polymery aminokyselin, které vznikly procesem proteosyntézy. Obsahují v molekule běžně více než 100 aminokyselin vzájemně vázaných peptidovou vazbou do nerozvětvených (lineárních) řetězců. Jejich relativní molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí asi od 10 000 do milionů daltonů. Bílkoviny tvoří (vedle vody) většinu hmoty živých organismů. Podle biologické funkce, kterou vykonávají, se v biochemii často rozlišují proteiny strukturní (vyskytují se převážně jako stavební složky buněk, tkání živočichů a rostlinných pletiv), katalytické (enzymy, hormony), transportní (umožňující přenos různých sloučenin, např. hemoglobinu), pohybové (např. svalové proteiny aktin, myosin, aktomyosin), sensorické (např. rhodopsin), regulační (histony, hormony apod.) a konečně též výživové funkce (jsou zdrojem esenciálních aminokyselin pro živočichy, hlavním zdrojem dusíku v potravě a hmoty potřebné k výstavbě a obnově živočišných tkání).

Hlavní zdroj rostlinných bílkovin představují semena rostlin. Jako omezené zdroje mohou sloužit rovněž plody, listy, hlízy, bulvy a jiné části rostlin zahrnované pod termíny ovoce, zelenina, okopaniny apod. Důležitým zdrojem bílkovin ve výživě jsou luštěniny. V našich podmínkách jsou nejvýznamnějšími luštěninami hrách, fazole, čočka a sója. Luštěniny mají vysoký obsah bílkovin (20 - 45 %). Nedostatkové bývají většinou sирné aminokyseliny. Bílkoviny hrachu, fazolí a dalších luštěnin reprezentují většinou globuliny - např. hrách obsahuje 50 % přítomných bílkovin globulinu nazývané legumin a violin. Bílkoviny sójových bobů jsou tvořeny globuliny až z 80 %. Minoritními složkami jsou nízkomolekulární albuminy (Velíšek, 2002). Klasifikace hlízových bílkovin brambor je podle molekulové hmotnosti na patatin, bramborové inhibitory proteas a ostatní bílkoviny (Bárta & Čurn, 2004). Schopnost tvorby emulzí a stabilních pěn jsou dvě z nejdůležitějších funkcí, kdy bílkoviny a jiné amfoterní molekuly přispívají k rozvoji výroby tradičních či nových potravin (Rangel *et al.*, 2003). Emulgační vlastnosti nedenaturovaných bramborových bílkovin jsou taktéž studovány, a to zejména u patatinové frakce těchto bílkovin (Jackman *et al.*, 1988; Ratel *et al.*, 2000).

2 LUSKOVINY

Luskoviny jsou jednoleté druhy rostlin čeledi *Fabaceae* (syn. *Leguminosae*, *Papilionaceae*, *Viciaceae*) – bobovité, které jsou třetí největší čeledí mezi rostlinami, a patří k ní 16 000-19 000 druhů zařazených v cca 750 rodech. Můžeme se setkat i se staršími českými názvy této botanické čeledi jako luštinaté nebo luštěninaté, motýlokvěté a vikvovité. Pro potravinářské účely se používá téměř 60 domestikovaných druhů, ale pouze malá část z nich došla většího rozšíření. Terminologie luskovin i jejich třídění jsou složité: existuje mnoho synonym (jak u botanických, tak anglických a samozřejmě i českých pojmenování), a tak často dochází k volbě nesprávných názvů (viz tabulka č. 2). Vyluštěná zralá semena luskovin nazýváme luštěniny (Dostálová, 1997). Průměrné složení nejběžnějších druhů luštěnin je uvedené v tabulce č. 1 (Pokorný *et al.*, 1996).

Semena rostlin představují ve výživě hlavní zdroj bílkovin. Semena luštěnin jako je sója, fazole, čočka nebo hrách jsou důležitým zdrojem bílkovin pro výživu lidskou i živočišnou. Dovoz sóji způsobuje ekonomickou závislost Evropy na produkci jiných zemí (např. Čína, Brazílie), z tohoto důvodu se Evropská unie pokouší vyvinout domácí pěstované plodiny bohaté na bílkoviny (Gall *et al.*, 2005).

Tabulka č. 1 Průměrné složení semen luštěnin (%) (Pokorný *et al.*, 1996)

	Hrách	Čočka	Fazole	Boby	Cizrna	Mungo
Voda	10,4	10,5	11,4	10,6	10,7	9,7
Energie*	346	346	345	350	368	345
Bílkoviny	24,5	24,7	21,5	24,8	19,5	23,6
Tuk	1,0	1,0	1,3	14	5,7	1,4
Sacharidy	62,1	61,2	62,7	60,4	61,7	61,6
Vláknina**	6,3	10,4	10,6	14,9	6,1	9,2
Popel	2,5	2,6	3,5	3,3	2,7	3,3

* kcal/100g, 1 kcal = 4,185 kJ

** vláknina stanovená metodou s detergentem

Tabulka č. 2 Nejběžnější luštěniny konzumované v evropských zemích (Dostálová, 1997)

Luštěniny	Latinský botanický název	Anglický název
Luštěniny s nízkým obsahem tuku		
Bob obecný	<i>Faba vulgaris</i> MOENCH <i>Vicia faba</i> L.	Broad bean, fava (faba) bean, horse bean, windsor bean
Cizrna beraní (římský hrách)	<i>Cicer arietinum</i> L.	Chin-pea, gram, bengal gram, garbanzo *, gram pea, Egyptian pea
Čočka jedlá	<i>Lens culinaris</i> MEDIK	lentil*
Fazol obecný	<i>Phaseolus vulgaris</i> L. <i>Phaseolus esculentus</i> SALIBS	Common bean, kidney bean*, dry bean, navy bean, black, pink or red bean, pinto bean, roman bean, great northern bean, French kidney
Fazol měsíční (lima boby)	<i>Phaseolus lunatus</i> L.	Large lima bean
Hrachor setý	<i>Lathyrus sativus</i> L.	Grass pea, vetchling, chickling pea
Hrách setý	<i>Pisum sativum</i> L.	Dried pea
Lupiny	<i>Lupinus spp.</i> L.	Lupine, pearl lupin, sweet lupine
Vigna čínská (dlouhatec čínský)	<i>Vigna sinensis</i> ENDL.	cowpea*, black-eyed pea*, black-eyed bean, dried cowpea
Vigna zlatá (fazole mungo, mungo)	<i>Vigna radiata</i> (L.) WILZEK <i>Phaseolus aureus</i> L. <i>Phaseolus radiatus</i> L.	Green gram*, mung bean* golden gram
Vigna mungo	<i>Vigna mungo</i> L.HEPPER <i>Phaseolus mungo</i> L.HEPPER	Black gram*, mung bean, mungo bean
Luštěniny s vysokým obsahem tuku (olejniny)		
Podzemnice olejná	<i>Arachis hypogaea</i>	Peanut, grand nut
Sója luštinatá	<i>Glycine hispida</i> MAXIM <i>Glycine max</i> (L.) MERRIL <i>Glycine soja</i> SIEB. Et ZUCC	Soybean, soya bean, soja

*tentýž název se vyskytuje u více druhů luštěnin

V semenech se vyskytují některé antinutriční látky (tj. inhibitory proteas, lektiny, fytáty, třísloviny, saponiny), které omezují nutriční potenciál bílkovinných luštěnin tím, že manipulují s příjmem, dostupností nebo metabolismem živin. Sírné aminokyseliny představují limitující aminokyselinovou složkou bílkovinných luštěnin. Antinutriční látky a sírné aminokyseliny snižují stravitelnost bílkovin, které luštěniny obsahují (Liener, 1994).

2.1 Bílkoviny obsažené v luštěninách

Obsah bílkovin se v luštěninách pohybuje mezi 15 až 32 % v sušině zrna. Hlavními bílkovinami charakterizovanými sedimentačním koeficientem jsou 11S legumin a 7S vicilin. Poměr mezi globuliny a albuminy a poměr mezi leguminem a vicilinem určují fyziologické vlastnosti semen. Nejvyšší obsah globulinu má hrách (65 – 85 % z celkového obsahu bílkovin), což znamená dobrou surovinu pro výrobu koncentrátů a izolátů. Vicilin má vliv na vyšší stabilitu pěn a emulzí, legumin zase příznivě ovlivňuje objem pěny a emulgační a želírovací schopnost. Míra absorpce vody se zvyšuje s obsahem bílkovin. Bílkovina hrachu absorbuje 1 až 3,3násobek své hmotnosti. Luštěninové mouky mají menší emulgační vlastnosti než bílkovinné koncentráty a izoláty. V porovnání se sójovými bílkovinnými izoláty mají izoláty z hrachu dobrou emulgační schopnost, mírnější pěnotvornou schopnost a mírně nižší schopnost stabilizovat emulze a vázat vodu a olej (tyto vlastnosti lze zlepšit chemickou modifikací nebo hydrolyzou). Bílkovinné složky z luštěnin lze přidávat do emulzních nápojů, nutričních tyčinek, masných produktů, přípravků pro hlídání váhy zajišťujících pocit sytosti a náhradu tuku (Pettersen *et al.*, 2010).

Rostlinné bílkoviny ze širokého spektra rostlinných zdrojů jsou vhodné v lidské potravě, a to z důvodu jejich nutričních a funkčních vlastností. Rostlinné bílkoviny se používají ve formě bílkovin a koncentrátů jako mléčné výrobky a maso, které se staly náhražkami v řadě potravinářských výrobků (Bacon *et al.* 1990).

Absorpce bílkovin na rozhraní kapalin je velmi významná pro produkci potravinářských výrobků jako jsou mléčné výrobky, pečená jídla, zmrzliny, majonézy aj. Struktura bílkoviny je ovlivněna mnoha faktory okolního prostředí

(např. pH, iontová síla, teplota, přítomnost jiných látek), což ztěžuje možnost předvídat funkčnost bílkoviny (Toro-Vazquez *et al.*, 1989). Proměnné prostředí jako je pH nebo ošetření teplem může být považováno za významný faktor, který ovlivňuje účinnost procesu emulgace a následné stability a fyzikální vlastnosti (Franco *et al.*, 2000).

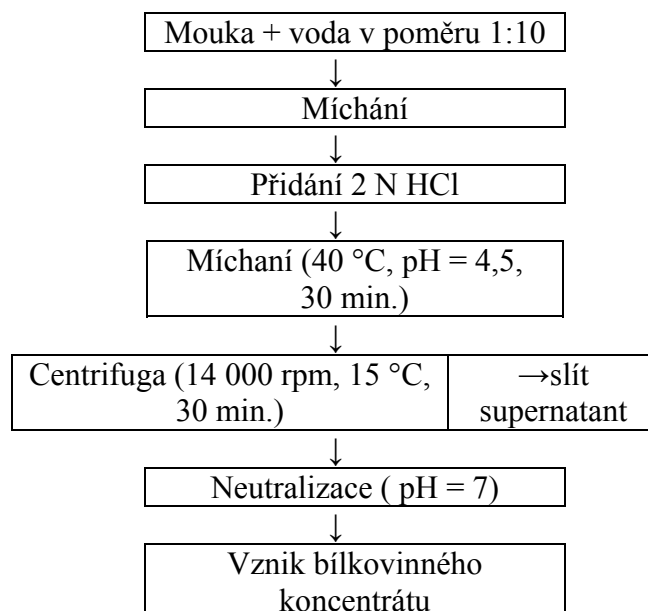
2.1.1 Bílkovinné koncentráty z luštěnin

Bílkovinné koncentráty z luštěnin se vyrábějí třemi základními procesy, tj. kyselou extrakcí (při pH 4,3), extrakcí roztokem alkoholu (60 – 90 %) a tepelnou denaturací bílkoviny před vlastní extrakcí vodou. Bílkovinný koncentrát (extrahovaný roztokem alkoholu), který je málo rozpustný ve vodě, je dále vystaven působení tepla (injekce či vstřikováním vodní páry) a mechanickému působení (homogenizaci) pro zvýšení rozpustnosti a funkčnosti. Neutralizovaný koncentrát získaný kyselou extrakcí má vyšší obsah ve vodě rozpustných bílkovin porovnání s bílkovinnými koncentráty připravenými extrakcí roztokem alkoholu nebo tepelnou denaturací. Méně ve vodě bílkovinný koncentrát připravený extrakcí roztokem alkoholu je známý jako tradiční koncentrát. U tohoto typu bílkovinného koncentrátu je možno tepelným zpracováním (injekcí či vstřikováním vodní páry) zvýšit rozpustnost a funkčnost. Rozpustnost a funkčnost se zvyšuje mechanickým působením v homogenizátoru. Tyto koncentráty jsou známé jako funkční koncentráty (Enders *et al.*, 2001).

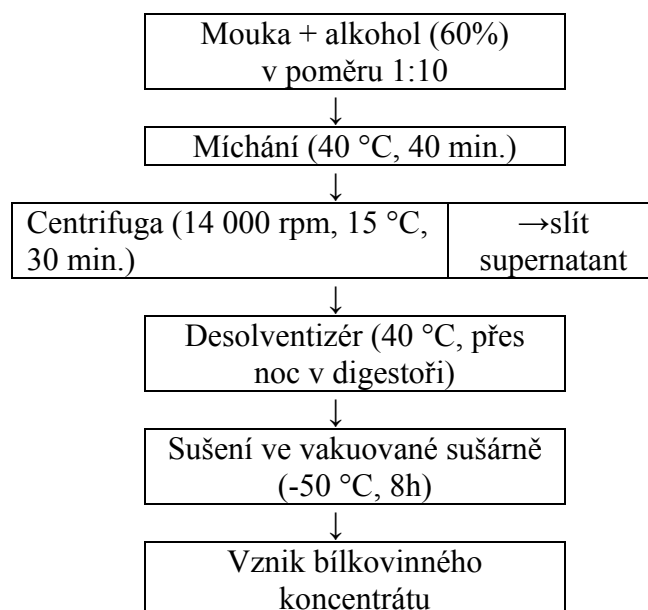
Koncentráty vyrobené prostřednictvím roztoku alkoholu a denaturací, pokud nebyly následně ošetřeny injekcí, vstřikováním vodní páry nebo vysokostřížnou homogenizací, mají nízkou rozpustnost dusíku z důvodu denaturace bílkovin. Produkty vyrobené kyselou extrakcí mají vysokou rozpustnost, pokud je neutralizujeme před sušením. Tyto koncentráty se liší ve velikosti částic, absorpčními vlastnostmi vody a tuku a chutí. V porovnání s komerčně dostupnými sójovými moukami mají lepší vlastnosti chuti. Poskytují také více funkčních vlastností při vytváření tukové emulze v potravinářském průmyslu, jako je kontrola stabilizace tuku, vody a vstřebávání tuku, kontrola viskozity a kontrola struktury bílkovinných koncentrátů. Mnohé z těchto vlastností souvisejí se stabilitou

potravinářského průmyslu (Campbell *et al.*, 1985). Tabulka č. 3 a č. 4 znázorňuje schéma získávání bílkovinného koncentrátu.

Tabulka č. 3 Vznik bílkovinného koncentrátu použitím kyselé extrakce (Wang *et al.*, 2004)



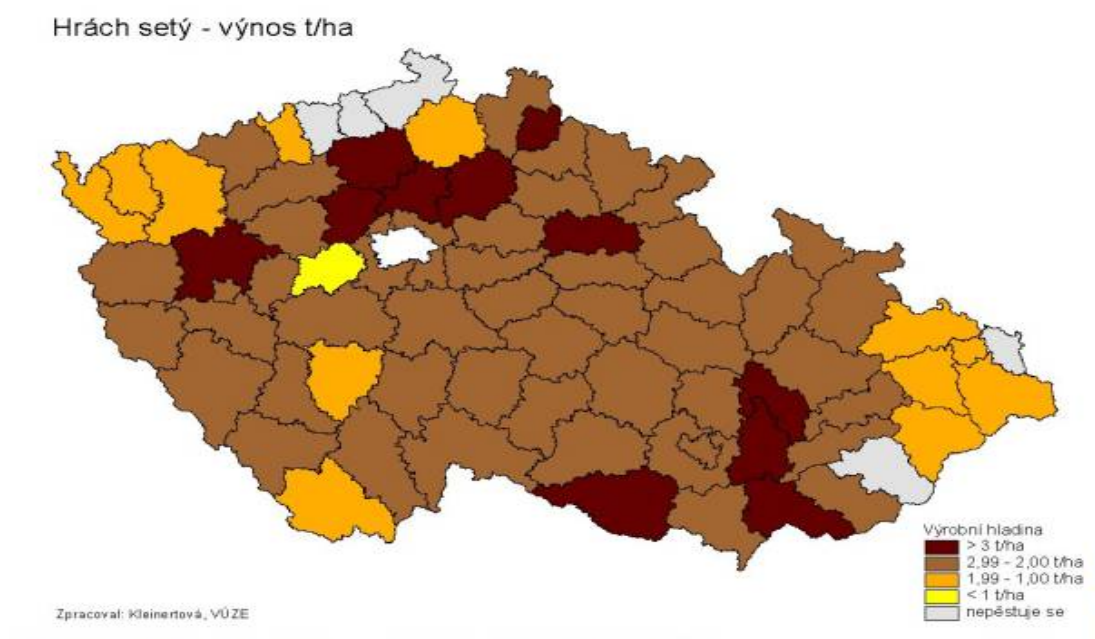
Tabulka č. 4 Vznik bílkovinného koncentrátu použitím extrakcí roztokem alkoholu (Wang *et al.*, 2004)



2.2 Hrách setý (*Pisum sativum* L.)

Dominantní luskovinou v České republice zůstává hrách. Ve srovnání s rokem 2005 se rozsah osevních ploch v roce 2006 snížil o 7 %. Celková produkce semene hrachu se meziročně snížila o téměř 9 %. Pokles ploch hrachu a jeho relativně malá výměra jsou zapříčiněny řadou faktorů, především však nízkou ekonomickou konkurenceschopností vůči obilovinám a olejninám. Potřebný nárůst výměry hrachu v České republice je podmíněn zvyšováním průměrných výnosů alespoň na úroveň 3,35 t/ha, dosaženou v roce 2004, což by přineslo kladnou míru rentability pěstování. Průměrný výnos (obrázek č. 1) se v České republice pohybuje na úrovni 60 % výnosů dosahovaných ve významných pěstitelských zemích EU (MZe, 2007).

Obrázek č. 1 Výnos semen hrachu (Moudrý, 2011).



Světová produkce (viz tabulka č. 5) semene hrachu kolísá v rozmezí zhruba 10 – 12 milionů tun. V marketingovém roce 2005/06 dosáhla světová produkce hrachu z výměry 6,6 milionů ha celkem 11,4 milionů tun při průměrném výnosu 1,73 t/ha. Hlavní produkce se přesunula z Francie do Severní Ameriky. Zatímco v roce 2002 činila produkce hrachu v Kanadě a USA dohromady 1,6 milionů tun, pro rok 2006 byla odhadována již na 4 miliony tun. Celková globální spotřeba semene

hrachu by měla činit 11,7 milionů tun, světový obchod se semenem hrachu kolísal v posledních deseti letech mezi 2,2 – 3,6 miliony tun (MZe, 2007).

Tabulka č. 5 Dovoz a vývoz semene hrachu setého – podle marketingových roků v tunách (MZe, 2007).

Marketing. Rok	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07*
Dovoz	1240,5	921,2	1414,2	1460,8	1954,9	921,8
Vývoz	23690,1	23351,6	21575,3	16634,7	24713,9	15682,7

Pramen: ČSÚ, statistika zahraničního obchodu

Poznámka: * údaje marketingového roku 2006/07 jsou za období od 01.07.2006 do 31.03.2007.

2.2.1 Význam hrachu a složení zrna

Pro výživu lidí se používají jak zralá suchá semena, tak nezralá semena (zelený hrách), která se konzervují nebo mrazí. Jako krmivo je hrách vhodný pro všechny druhy hospodářských zvířat. Při zařazení do krmných dávek dojníc působí na zvyšování dojivosti i na zvyšování obsahu bílkovin a tuku v mléce. Nešrotovaná celá zrna se zařazují do směsí pro ptactvo (Anonym, 2011). V potravinářském průmyslu se hrách využívá hlavně k výrobě preparované mouky nebo předvařeného hrachu. V zelené hmotě sklizené na počátku květu je kolem 19 % dusíkatých látek (Lahola *et al.*, 1900).

Hrách obsahuje asi 20 - 25 % dusíkatých látek, hrubá vláknina tvoří 5 - 7 %, tuk asi 1 % a minerální látky 2 - 3 % (Anonym₁, 2011). Obsah aminokyselin je uveden v tabulce č. 6. Hrách obsahuje dvě hlavní skupiny bílkovin, albuminy (20 - 25 %) a globuliny (55 - 65 %), druhá z uvedených bílkovinných složek se skládá ze dvou hlavních frakcí, vicilinu a leguminu (Guéguen, 1991).

Globuliny představují slabě kyselé bílkoviny nerozpustné ve vodě, ale rozpustné ve zředěných roztocích solí, např. v 5 % roztoku chloridu sodného, kyselin a zásad, vysolují se síranem amonným při nasycení > 40 %, za tepla koagulují. K tomuto typu bílkovinné frakce se řadí např. legumin hrachu a jiné bílkoviny (Velíšek, 2002).

Globuliny hrachu byly rozděleny do dvou hlavních skupin na základě jejich sedimentačního koeficientu - 11S, které nazýváme legumin, a 7S, které nazýváme vicilin a convicilin. Tyto dvě skupiny se výrazně liší v molekulové hmotnosti a struktuře (Emmanouil *et al.*, 2006). Leguminy charakterizujeme jako bílkoviny o velikosti 60 - 80 kDa. Jsou to oligomery, ale obvykle tvoří hexametry (Tzitzikas *et al.*, 2006). Vicilin je bílkovina o velikosti 47 - 50 kDa, který tvoří trimery o molekulové hmotnosti 150 kDa (Gatehouse *et al.*, 1981). Convicilin je bílkovina o velikosti 70 kDa, který je tvořen trimery o molekulové hmotnosti 210 kDa (Tzitzikas *et al.*, 2006). Různé koncentrace leguminu a vicilinu (samostatně nebo ve směsi) mohou tvořit dobré gely. Naopak convicilin brání tvorbě gelu v hrachovém izolátu (O’Kane *et al.*, 2004). Hrách s konkrétním globulinovým složením je žádoucí surovinou pro potravinářský průmysl (Casey *et al.*, 1999).

Albuminy představují neutrální bílkoviny dobře rozpustné ve vodě, vysolující se ze svých vodných roztoků síranem amonným při nasycení > 60 %, při teplotě 75 °C nevratně koagulují. K tomuto typu bílkovinné frakce se řadí např. legumin hrachu a jiné bílkoviny (Velíšek, 2002).

Tabulka č. 6 Obsah aminokyselin v semenech hrachu (v g vztaženo na 16 g N) (Velíšek, 2002)

AMINOKYSELINA	HRÁCH
Alanin	4,1
Arginin	9,5
Cystein	1,1
Glycin	4,0
Histidin	2,3
Isoleucin	4,3
Leucin	6,8
Lysin	7,5
Methionin	0,9
Prolin	3,9
Serin	4,3
Treonin	4,1
Tryptofan	1,4
Tyrosin	2,7
Valin	4,7
Fenylalanin	4,6

2.2.2 Získávání bílkovin z hrachu

Bílkoviny s rozdílnými vlastnostmi (obsah bílkovin, škrobů aj.) lze získat, pomocí suché nebo mokré cesty, a to po rozemletí lusků nebo vyluštěného hrachu. Nejvíce nerozpustné vlákniny je ve slupkách (lusky), nejvíce rozpustné vlákniny je v kotyledonu (děložní lístky). Získané frakce lze využít do potravin a krmiv. Vyrábějí se bílkovinné koncentráty a izoláty se speciálními vlastnostmi podle požadavků (např. izoláty s různým poměrem nutričních složek - leguminu a vicilinu). Hrachová mouka obsahuje 25,5 – 26,8 % bílkovin. Je vhodná do pekařských výrobků, těstovin, ale i masných výrobků (Pettersen *et al.*, 2010).

Žlutá semena hrachu (*Pisum sativum* L.) jsou hlavním výchozím materiálem v komerční výrobě různých potravin – frakce mouky, ve které jsou převážně bílkoviny, škrob, vláknina nebo kombinace škrobu a vlákniny. Zvyšující zájem spotřebitelů o hrachové výrobky je způsoben nízkým obsahem tuku. Produkty ze žlutého hrachu mají podobné nutriční a funkční vlastnosti jako sójové produkty, za vhodných laboratorních podmínek lze například připravit dobrou gelovou bílkovinu z hrachového bílkovinného izolátu, ačkoliv pevnost gelu je nižší ve srovnání s podobným sójovým bílkovinným produktem (Soral-Smietana *et al.*, 1998; O’Kane *et al.*, 2005; Shandel *et al.*, 2007).

Semena hrachu mohou být oddělena od slupek, používají se k výrobě mouky s vysokým obsahem vlákniny. Loupaná semena mohou být zpracována suchým mletím. Bílkovinná frakce je obohacena o škrob (Sosulski *et al.*, 1987). Loupaná semena hrachu mohou být také zpracována mokřím mletím, kterým se získá čistá frakce vlákniny, škrobu a bílkoviny (Aluko *et al.*, 2009). Vyčištěná mouka má pro některé druhy potravin lepší využití než mouka získaná suchým mletím (Sosulski *et al.*, 1987).

Různé produkty z hrachové mouky se v současné době vyrábí v omezeném množství, a to z nedostatku informací o jejich funkčních vlastnostech. V zájmu je posílení možnosti získávání mouky ze semene hrachu a její využití pro více potravin,

je tedy nutné šířit základní informace o jejich možnosti fungování jako emulgátorů a pěn (Aluko *et al.*, 2009).

2.2.3 Izolát hrachové bílkoviny

Hodnotnou složkou hrachu je bílkovinná frakce, která se extrahuje a dále čistí. Vzniká bílkovinný izolát. Stejně jako jiné luštěniny i hrách však obsahuje řadu antinutričních a antifyziologických faktorů, které negativně ovlivňují kvalitu bílkovin. Hledají se proto ty postupy výroby, pomocí kterých by se získaly bílkovinné izoláty bez těchto nežádoucích faktorů. Izoláty kvalitní hrachové bílkoviny se zlepšenými výživovými a fyziologickými vlastnostmi mohou nahradit v řadě aplikací jiné zdroje bílkovin, např. sójové bílkoviny. Aby se hrachová bílkovina mohla používat pro výrobu kojenecké výživy, je nezbytné snížit v izolátu obsah oligosacharidů a fytátů (Fredrikson *et al.*, 2001). Oligosacharidy způsobují plynatost u člověka i zvířat (Rackis *et al.* 1975; Reddy *et al.* 1980; Olson *et al.* 1982), fytáty inhibují absorpci železa a zinku u člověka a snižují biologickou využitelnost bílkoviny hrachu (Carnovale *et al.*, 1988). Snížit obsah fytátů v bílkovinných izolátech je možné pomocí endogenních fytáz obsažených v hrachu nebo přidavkem komerční exogenní fytázy. Oligosacharidy se odstraňují ultrafiltrací hrachové bílkoviny (Fredrikson *et al.*, 2001). Paralelně se sleduje také možnost snížení obsahu proteinázových inhibitorů hrachu, lektinů a saponinů (Sorensen *et al.*, 1998).

2.3 Sója luštinatá (*Glycine soja*)

Pěstování sóji si doposud v České republice nenašlo zastoupení odpovídající jejímu významu. Je totiž výborným krmivem s vysokým obsahem bílkovinných látek a zároveň plodinou urychlující rekultivaci půdy. V České republice nachází hlavní uplatnění v krmivářském průmyslu. Zlepšující se technické vybavení pro zpracování sóji u producentů krmných směsí umožňuje zpracování sójových bobů z domácí produkce. Díky tomu dochází také ke zlevnění výroby (MZe, 2009).

Produkční plochy sóji luštinaté v České republice kolísají. Vrcholu dosáhly v marketingovém roce 2006/07, kdy bylo sklizeno 9 641 ha, a při hektarovém výnosu 1,85 tuny dosáhla celková produkce sójových bobů 17 847 tun. V roce 2008/09 však plochy sóji klesly až na 4 339 ha a při hektarovém výnosu 2,17 tuny dosáhla celková produkce bobů 9 419 tun. Pro marketingový rok 2009/10 bylo oseto sójou luštinatou 6 046 ha a očekává se produkce vyšší než 12 000 tun (MZe, 2009).

Nejvýznamnějšími obchodními partnery České republiky při dovozu sójových bobů ke zpracování bylo v marketingovém roce 2006/07 Německo s 20 391 tunami, dále Nizozemsko s 6 245 tunami a Slovensko s 2 251 tunami. Osiva bylo nejvíce dovezeno z Rakouska (112 tun), Kanady (20 tun) a Německa (19 tun). V marketingovém roce 2007/08 byly nejvýznamnějšími zeměmi při dovozu Německo s 21 771 tunami, Polsko s 6 169 tunami, Belgie s 2 270 tunami a nakonec Slovensko s 2 088 tunami (MZe, 2008).

Sója se jeví jako plodina teplomilná, lze ji celkem úspěšně pěstovat i v řadě regionů České republiky. Kromě vhodnosti pro danou oblast je při výběru odrůdy také třeba prověřit, zda se nejedná o odrůdu vzniklou pomocí genových manipulací, které jsou v ekologickém zemědělství zakázány (MZe, 2007). Pro pěstování sóji jsou optimální kukuřičné a teplé řepařské oblasti. V České republice se oblast pěstování nachází především na jižní Moravě a v Polabské nížině. Vybíráme proto odrůdy s délkou vegetační doby 120 - 130 dní, aby v našich podmínkách bezpečně dozrály. Za příznivých teplotních a vláhových podmínek vzchází za 10 - 12 dnů. Při 14 °C se růst zastavuje. Jarovizace trvá 10 - 14 dní a nastává při teplotě 20 - 25 °C. Náročnější na teplo je rostlina od období květu a vytvoření semen. Dochází k aborci květů, lusků i semen (Moudrý², 2011).

2.3.1 Význam sóji a složení zrna

Sója se využívá v potravinářství i pro výrobu krmiv. Význam sójové bílkoviny je v tom, že má vysoký obsah esenciálních bílkovin s příznivým poměrem vhodným pro lidskou výživu (Lahola *et al.*, 1990). Sójové boby poskytují celou řadu

možností potravinářského zpracování na různé výrobky: sójový olej, sójový lecitin, sójové mouky, krupice a vločky, koncentráty a izoláty sójových bílkovin. Ty se používají pro přípravu dalších sójových produktů nebo jako přídavek do potravinářských výrobků (masných, mléčných, pekařských aj.), texturované sójové bílkoviny (slouží většinou jako náhrady masa), tofu (sójový „tvaroh“), sojonézy (napodobenina majonézy), sójových oříšků, sójových výhonků, fermentovaných výrobků ze sóji, t.j. například sójová omáčka, tempeh a natto (v Japonsku), sufu (v Číně), různé produkty připomínající jogurty, sýry aj. Sójové boby a potraviny z nich vyrobené jsou cenným zdrojem mnoha živin a ochranných látek a obohacují jídelníček o pokrmy s neobvyklými chutěmi. Proto je jejich místo v našem jídelníčku zcela oprávněné. Mají také význam v řadě různých diet. Příliš vysokou spotřebu sóji s úplnou náhradou mléka sójovými nápoji a masa analogickými sójovými výrobky nelze však doporučit, a to zejména u některých skupin populace, například dětí, těhotných a kojících žen a starých lidí. Důvodem je riziko nedostatečného příjmu některých živin a poškození antinutričními a přírodními toxickými látkami v sóje obsaženými (Prugar *et al.*, 2008).

V krmivářství se využívají celé sójové boby, ale častěji se uplatňují odpadní suroviny z tukového průmyslu, pokrutiny nebo extrahované šroty. Celé neodtučněné boby se využívají hlavně v krmných dávkách vysokoprodukčních dojnic, kde výrazně zvyšují energetickou hodnotu dávky. Pokrutiny a extrahované šroty se využívají jako zdroj bílkovin v krmných směsích pro všechna hospodářská zvířata a částečně se jimi nahrazují živočišná krmiva i v některých kompletních krmivech pro masožravce (Anonym₂, 2011). Z hlediska výživového jsou nejcennější bílkoviny, které sice nejsou pro nedostatek esenciální aminokyseliny (viz tabulka č. 7) methioninu a cystinu plnohodnotné, ale pro svou celkovou kvalitu se řadí hned za plnohodnotné bílkoviny z živočišných zdrojů. Sója má mezi ostatními luskovinami výjimečné postavení, které je dáno chemickým složením semen (viz tabulka č. 8; Prugar *et al.*, 2008).

Tabulka č. 7 Obsah aminokyselin v semenech sóji (v g vztaženo na 16 g N) (Velíšek, 2002)

AMINOKYSELINA	SÓJA
Alanin	4,3
Arginin	7,2
Cystein	1,3
Glycin	4,2
Histidin	2,5
Isoleucin	4,5
Leucin	7,8
Lysin	6,4
Methionin	1,3
Prolin	5,5
Serin	5,1
Treonin	3,9
Tryptofan	1,3
Tyrosin	3,1
Valin	4,8
Fenylalanin	4,9

Tabulka č. 8 Průměrné chemické složení zralých sójových bobů (dle databáze Amerického ministerstva zemědělství USDA, 2006)

Složka	Obsah (%)
Voda	8,5
Bílkoviny	36,5
Lipidy	19,9
Sacharidy	30,2
z toho vláknina potravy	9,3
Popel	4,9
Energie	1742 kJ (416 kcal)

2.3.2 Sójové bílkovinné koncentráty

Sójové bílkovinné koncentráty jsou připraveny z loupaných a odtučněných sójových bobů odstraněním většiny ve vodě rozpustných složek, které nejsou bílkovinného původu.

PH a teploty ovlivňují emulgační vlastnosti sójových koncentrátů. Sójové koncentráty obsahují polysacharidy, které vstřebávají velké množství vody. Podmínky produkce sójových bílkovinných koncentrátů mohou způsobovat

odlišnosti v množství vody, které tyto koncentráty mohou ve výsledku absorbovat. Ve skutečnosti se tyto produkční podmínky ovlivňují, jak pevně je voda vázána na bílkovinu ve finálním potravinářském výrobku. Kyselá extrakce, injekce vodní páry, vstříkování vodní páry může mít za následky, že produkt bude mít vyšší disperzní schopnost. Tyto koncentráty jsou více žádány pro jejich funkční vlastnosti jako emulze. Všechny sójové bílkovinné koncentráty, bez ohledu na použité metody přípravy, zadržují tuk a vodu (Enders *et al.*, 2001).

Největší využití sojových bílkovin nalézáme v pekárenském a potravinářském průmyslu v kombinaci s jinými látkami, jako je mléčná syrovátka, která má nahradit NFDM (odtučněné sušené mléko). Tato zvláštní směs je dána funkčními nebo nutričními požadavky na konkrétní výrobek. Odtučněná sójová mouka je primární produkt sóji používaný u těchto směsí, ale koncentráty a izoláty jsou také použity v kombinaci se syrovátkou a kaseinátem sodným či vápenatým, a to pro speciální aplikace včetně dortových směsí. Pekaři používají tyto směsi z ekonomického důvodu, protože mléčné výrobky jsou obvykle dražší než sójová mouka (Enders *et al.*, 2001).

Texturované sójové bílkovinné koncentráty jsou zpracovány na základě tradičního koncentrátu nebo kyselou extrakcí koncentrátu. Zpracování se provádí v jedno- nebo dvoušroubovém extruderu. Účelem extrakčního procesu je, aby struktury, jako jsou vlákna a kusy, mohly být použity jako potravinářská složka. Texturovaná sójová mouka a koncentráty této složky jsou široce používány v kombinaci s masem. Mohou být zahrnuty do suché, částečně nebo plně hydratované formy. Bílkovinné texturované výrobky jsou vyráběny v různých tvarech, velikostech a barvách. Nejoblíbenější tvary jsou granule, kousky a vločky. Tyto produkty mohou mít aroma podobné masu nebo drůbeže, produkty můžeme nahradit. Výroba může také zahrnovat několik procesů, které v kombinaci simulují konkrétní produkty, například simulované plátky slaniny vyráběné laminováním náhodných vláken nebo těst s jedlými pojivy. Některé vrstvy barevně simulují maso, jiné jako bezbarvé zastupují tuk (Enders *et al.*, 2001).

2.3.3 Přidávání sójových koncentrátů do masných výrobků a jejich detekce

K dosažení vysokého standardu kvality konečného masného výrobku je do zpracovávané suroviny přidáván koncentrát, který obsahuje sójovou bílkovinu. Tato vysoce účinná složka zajišťuje stabilitu masných výrobků a udržuje přítomnost vody a tukové emulze, což pomáhá udržovat optimální výsledky hodnocení těchto potravin. Stabilita emulze závisí na poměru sójového koncentráту, vody a živočišného tuku. Do přidávané emulze může být použito množství různých druhů tuků. V Evropě bývá velice často vepřový tuk nahrazován ostatními druhy tuků. Podle provedených průzkumů byl zjišťován způsob, jak se chová vepřové maso v tukových emulzích. Zatím je poměrně málo známo, jaké vlastnosti mají vliv na záměny vepřového tuku tukem hovězím nebo skopovým. Nedávná studie prováděná na univerzitě v Bristolu ve Spojeném království Velké Británie a Severního Irsku odhalila zajímavé výsledky, které se vztahují k této otázce. Cílem sledování bylo stanovit optimální poměry sójového koncentráту spolu s množstvím použité vody a hovězího nebo skopového masa, které společně tvoří emulzi. Byl nalezen správný poměr jednotlivých složek masných výrobků. Na přípravu masných výrobků se používal bílkovinný sójový koncentrát v různých poměrech množství a byla stanovena závislost koncentráту ze sójové bílkoviny na různých druzích tuků. Bylo také provedeno zkoumání dvou různých druhů hovězího a skopového tuku, mezi nimiž byly zjištěny významné rozdíly. Jeden z druhů použitého skopového tuku vykazoval tvorbu stabilní emulze v poměru 1:4:8 (jeden díl sóji ke čtyřem dílům vody a osmi dílům tuku). Hovězí tuk z okolí ledvin se prokázal jako nejstabilnější tuk vytvářející stálé emulze až do poměru 1:4:3. V ostatních případech vytvářel další druh tuku emulze v poměru 1:4:5. Vysokou stabilitu vykazovalo použití skopového tuku, který se uplatňuje při přípravě masných výrobků v některých zemích. Používá se místo vepřového tuku tam, kde je jeho přítomnost nežádoucí, nepovolena. Jedná se o Austrálii a země Středního východu. Rozdíly lze zaznamenat při různých poměrech použitých složek, ve kterých jsou pozorovatelné výrazné změny. Nejzajímavější jsou změny teplot, pro které dochází k rozdílným výsledkům (Hvízďalová, 2008).

Přidávání rostlinných složek do masných výrobků je dnes běžná praxe. Je potřeba citlivé metody na detekci rostlinných bílkovin a bílkoviny spojovat nejen s ekonomickým aspektem (falšování produktu), nýbrž i s novým významným aspektem, kterým je ochrana zdraví spotřebitelů, kteří mohou být ohroženi z důvodu, že tyto látky jsou podle českých právních předpisů klasifikovány jako alergeny (změna č. 1 k vyhlášce č. 113/2005 sb.). Evropská legislativa (směrnice 2003/89/EC evropského parlamentu a rady) má nárok na označení alergenních složek nacházejících se v balených potravinách.

Je nezbytné mít k dispozici metody, které umožní detekci těchto složek. Nízká koncentrace a podmínky výroby potravin mohou způsobit změnu struktury sójových bílkovin. V současné době se běžně používají pro detekci sóji v potravinách imunochemické metody a molekulárně biologické metody byly rovněž popsány (Meyer *et al.*, 1996). Z imunochemických metod se nejčastěji používá ELISA (enzymová imunosorpční analýza). ELISA je vhodná pro kvalitativní i kvantitativní hodnocení sójových bílkovin z různých potravinářských výrobků (Strahle & Roth, 1996). Pro detekci sójových bílkovin se používá kapalná chromatografie a spektrofotometrie (Leitner *et al.*, 2006). O mikroskopických metodách je třeba říci, že se jedná o nejstarší metody pro detekci složek přítomných v potravinách. Techniky analýzy mohou dnes být také použity pro tento účel, a to z důvodu jejich jednoduchosti. Umožňují totiž diferenciaci a identifikaci základních složek v potravinách, a to podle hodnocení jejich mikrostruktur a ultrastruktur (Lucker *et al.*, 2000). Tyto metody jsou obvykle histochemické a vysoce specifické pro množství potravin.

Pro detekci sójových koncentrátů v masných výrobcích se používají různé techniky barvení. Je to barvení podle Bauer-Calleja, dále barvení podle Grocotta nebo trichom barvení podle Charváta (Heckmenn *et al.*, 1992). I tak je rozeznat přítomnost doplňkových rostlinných bílkovin od živočišných bílkovin těžké (Pospiech *et al.*, 2009).

3 BRAMBOR HLÍZNATÝ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Společná zemědělská politika EU týkající se výroby konzumních brambor (raných i ostatních) včetně sadby a následnému obchodování s nimi nebyla v minulém období upravována, a proto produkce konzumních brambor není ani nadále regulována či subvencována. Do společné organizace trhu jsou zařazeny pouze brambory určené k výrobě bramborového škrobu. Celková produkce brambor v celé EU 27 postupně klesá. Příčinou je snižování produkčních ploch brambor, a to hlavně v zemích přistoupivších do EU v roce 2004 a 2006. Obdobně jako po roce 1990 v České republice dochází v těchto zemích k poklesu spotřeby brambor pro lidskou výživu změnou domácích stravovacích zvyklostí, náhradou brambor za rýži, těstoviny, luštěniny a zvýšenou spotřebou bramborových výrobků a polotovarů. Mění se i krmné dávky monogastrů a brambory jsou nahrazovány obilninami.

V roce 2009 bylo v České republice podle údajů ČSU sklizeno celkem 36 722 ha brambor, z toho v zemědělském sektoru 28 734 ha a v rámci samozásobení domácností 7 988 ha. Celková produkce brambor dosáhla 928 800 tun. V zemědělském sektoru bylo sklizeno 752 500 tun a v sektoru domácností 176 300 tun brambor. Proti sklizni v roce 2008 se jednalo o meziroční pokles o 1,7 %, konkrétně o 16 500 tun. Celkově nižší sklizeň brambor ovlivnilo především snížení osazených ploch brambor, a to proti roku 2008 o 1 094 ha, to znamená pokles o 2,9 %. Průměrný hektarový výnos v roce 2009 byl 25,29 t/ha, v roce 2008 to bylo 25,00 t/ha (MZe, 2009).

Brambory jsou důležitou a v našich podmínkách i těžko nahraditelnou plodinou a potravinou, u níž je význam odrůdy jako nositele kvality nesporný. Brambory se stávají potravinou v okamžiku, kdy jsou uváděny do oběhu k přímému prodeji spotřebiteli a vztahuje se na ně ustanovení Zákona o potravinách (Zákon č. 110/97 Sb.; Sýkorová *et al.* 2005).

3.1 Složení bramborové hlízy

Druh *Solanum tuberosum* L. (brambor hlíznatý) náleží do rodu lilek (*Solanum* Tourn.) a čeledě lilkovitých (*Solanaceae* Pers.) Brambor je u nás běžné označení nejen pro kulturní, polokulturní, ale i příbuzenské plané druhy rodu *Solanum* (Rybáček *et al.*, 1988).

Bramborová hlíza obsahuje 76,3 % vody (Rybáček *et al.*, 1988). Další látky obsažené v hlíze podléhají významné variabilitě, která závisí na odrůdě a prostředí růstu (Anonym₃, 2011). Brambory průměrně obsahují 23,7 % sušiny. Obsah škrobu je 17,5 % (Rybáček *et al.*, 1988). Kromě škrobu bramborové hlízy obsahují další polysacharidy – vlákninu, hemicelulózy, pektiny, hexózy a pentózy. Ve zdravých a vyzrálých hlízách je obsah mono- a oligosacharidů malý: sacharóza 0,10 – 0,40 %, glukóza 0,05 – 0,20 % a fruktóza 0,10 – 0,40 % v původní hmotě (Anonym₃, 2011). Dusíkaté látky tvoří bílkoviny, aminokyseliny, amidy a anorganické sloučeniny. Bílkoviny tvoří 1/3 – 1/2. Významnou složku dusíkatého komplexu tvoří dusičnany. V hlízách brambor se vyskytuje směs steroidních glykoalkaloidů, označovaných jako solanin (Rybáček *et al.*, 1988).

Nutriční hodnota bílkovin je určována zejména aminokyselinovou skladbou. Pozornost je věnována hlavně obsahu esenciálních aminokyselin (tabulka č. 9) v hodnocené bílkovině, jejichž případný nedostatek limituje průběh proteosyntézy u konzumenta – člověka. Značný význam má u bramborových bílkovin, na rostlinné bílkoviny poměrně vysoký, obsah lysinu (Bárta & Čurn, 2004).

Tabulka č. 9 Složení esenciálních aminokyselin bramborových bílkovin (v g vztaženo na 16 g N) (dle Ralet, Gueguen, 1999, Velíšek et al., 1999).

AMINOKYSELINY	HLÍZOVÁ BÍLKOVINA
Isoleucin	5,1
Leucin	8,1
Lysin	6,6
Methionin + Cystein	2,8
Fenylalanin + Tyrosin	10,8
Treonin	4,7
Tryptofan	1,5
Valin	5,5
Histidin	1,9

V minulosti byla více preferována klasifikace hlízových bílkovin podle rozpustnosti rozdělení na albuminovou, globulinovou, prolaminovou a glutelinovou frakci. V současné době převažuje klasifikace bílkovin podle molekulové hmotnosti:

- 1) patatin neboli patatinový komplex či rodina patatinových bílkovin
- 2) bramborové inhibitory proteas
- 3) ostatní bílkoviny, hlavně bílkoviny s enzymovou účastí na syntéze škrobu

První dvě skupiny představují přes dvě třetiny obsahu bílkovin v bramborových hlízách. Patatin je hlavní bílkovina v hlízách bramboru, to odpovídá 40 % obsahu bílkovin. Ačkoliv jeho fyziologická role není úplně známá, jeho lipid acyl hydrolasová aktivita naznačuje úlohu v systému rostlinné obrany (Dennis *et al.*, 1974). Přestože jsou jednotlivé isoformy patatinu imunologicky identické, byla mezi nimi na úrovni odrůd zjištěna rozdílná nábojová heterogenita. Existuje až 15 imunologicky identických glykoproteinových isoform s podobnou hodnotou pI (Bárta & Čurn, 2004).

3.2 Produkce a složení hlízové vody

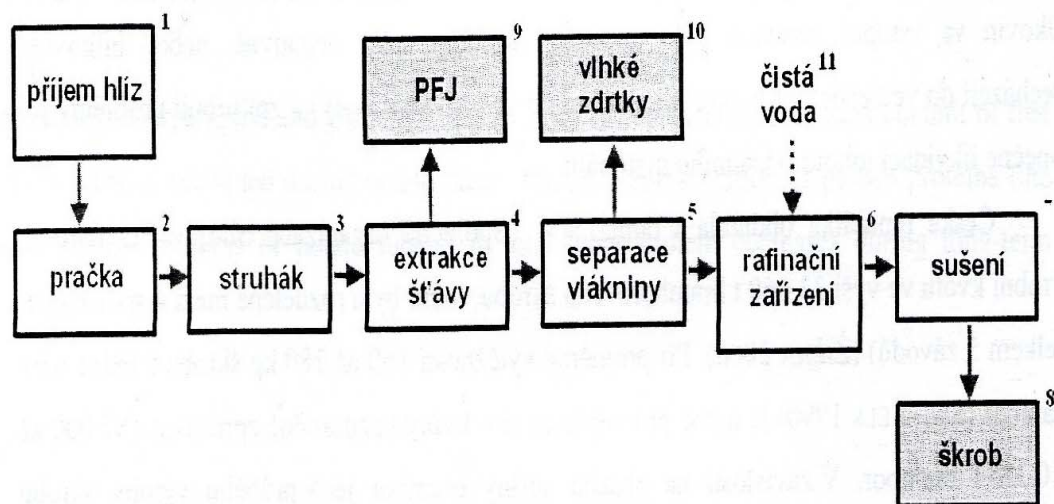
Povědomí o vysoké nutriční hodnotě hlízových bílkovin brambor představuje z pohledu konzumenta zvýšení hodnoty této suroviny. Hlízy brambor však nejsou považovány za rostlinný produkt mající význam pouze v lidské výživě, ale jsou také nenahraditelnou surovinou pro zpracovatelský, zvláště pak škrobárenský průmysl. Ve zpracovatelském průmyslu jsou hlízy brambor ceněny především s ohledem na obsah škrobu. Zastoupení bílkovin ve vstupní surovině bylo doposud vnímáno spíše negativně, neboť bílkoviny přecházejí do vedlejších produktů (především do tzv. hlízové vody) a způsobují problémy při konečné likvidaci tohoto odpadního materiálu (Bárta *et al.*, 2007).

V České republice je v současné době produkce hlízové vody používána pouze jako dusíkato-draselné organické hnojivo aplikované na pole v blízkosti škrobárenských provozů. To může být často problematické – zatěžování těchto pozemků, závislost na počasí, obtěžování okolního prostředí zápachem aj. Cenný nutriční a biochemický potenciál uvedených bramborových bílkovin rozpuštěných v hlízové vodě tak zůstává nevyužitý (Bárta *et al.*, 2006). Pohled českého škrobárenského průmyslu na využití hlízové vody se však postupně mění a hlízová voda již začíná být chápána jako surovina s potenciálem produkce nutričně kvalitních a obchodovatelných bílkovin (Bárta *et al.*, 2007).

Izolace škrobu z brambor je v podstatě založena na rozstrouhání brambor, vypírání a odloučení škrobu, jeho zahuštění a sušení. Z uvedeného schématu (obrázek č. 2) je patrný výrobní krok, ve kterém vzniká hlízová voda jako vedlejší produkt výroby bramborového škrobu (Bárta *et al.*, 2007). Prostředí hlízové vody je značně heterogenní a sušina hlízové vody obsahuje celou řadu organických i anorganických látek. Nejvýznamnější postavení v sušině hlízové vody mají dusíkaté látky (bílkoviny, peptidy a volné aminokyseliny), jež dohromady tvoří přibližně 40 % sušiny. Volné aminokyseliny přítomné v hlízové vodě jsou tvořeny zejména glutaminem, glutamovou kyselinou, asparaginem a γ -amino butanovou kyselinou. K významným dusíkatým látkám hlízové vody patří taky glykoalkaloidy, z nichž jsou nejvíce zastoupeny α -solanin a α -chaconin. Cukry obsažené v hlízové vodě jsou

zastoupeny redukujícími cukry D-glukosou a D-fruktosou a neredukujícím disacharidem sacharosou. Zastoupení lipidů v hlízové vodě je téměř zanedbatelné; tato složka je tvořena volnými mastnými kyselinami (30 %), tuky (30 %) a fosfolipidy (40 %) (Lisinska & Leszczynski, 1989).

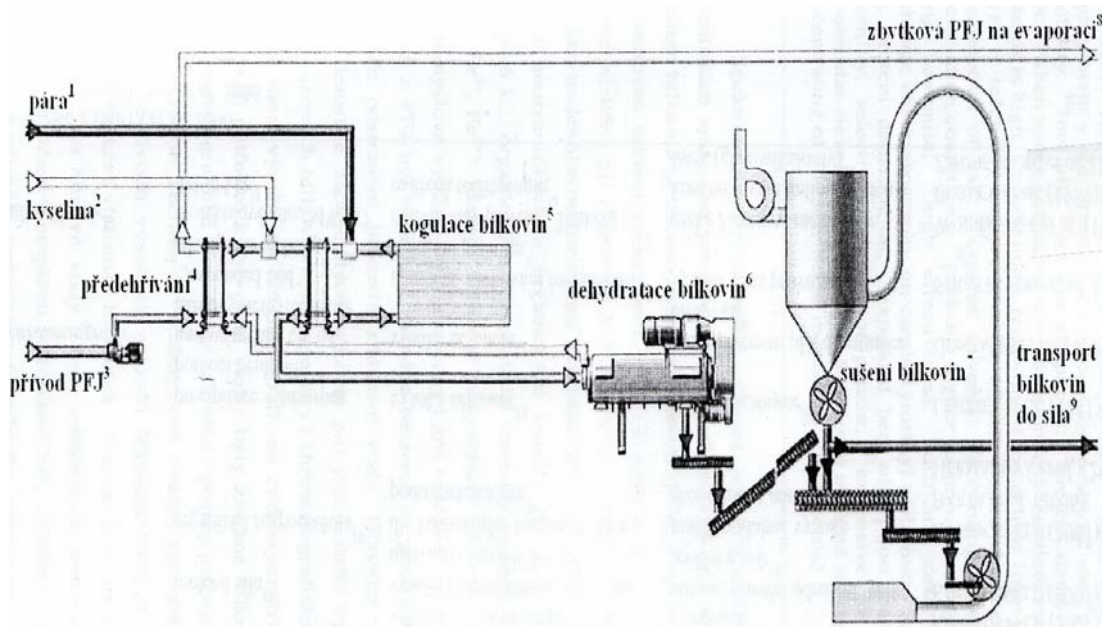
Obrázek č. 2 Diagram znázorňující produkci bramborového škrobu a hlízové vody (Koningsveld, 2001).



3.2.1 Izolace bílkovin z hlízové vody brambor

Do popředí se dostala snaha využítí organické látky (zejména bílkoviny obsažené v hlízové vodě) a zefektivnění celého výrobního procesu. Jako nejefektivnější se pro izolaci bílkovin z hlízové vody jevila tepelná koagulace injekční páry (obrázek č. 3), používaná ve větších škrobárnách v Německu a Nizozemsku (Zwijnenberg *et al.*, 2002). Postup spočívá v předřazení zkoncentrování hlízové vody pomocí rezervní osmózy (Wijnholds *et al.*, 1998) a následné úpravě reakce PFJ (hlízová voda brambor) na hodnotu kolem pH 5. Poté následuje injekce páry a koagulace bílkoviny, separace vysrážených bílkovin a jejich konzervace sušením. Získaný produkt je dále finálně upravován a nabízen jako bílkovinné krmivo pro domácí a hospodářská zvířata (Koningsveld, 2001; Zwijnenberg *et al.*, 2002; Avebe, 2006).

Obrázek č. 3 Schéma zařízení na izolaci bílkovin z PFJ injekcí firmy Westfalia Separator AG (převzato a upraveno dle Westfalia Separator AG, 2002; Bárta et al., 2007).



Z hlediska možné izolace bílkovin z PFJ jsou nejvýznamnější bílkoviny patatinového komplexu a inhibitory proteáz, které dohromady představují přibližně 85 % veškerých bílkovin přítomných v PFJ. Vlastnosti těchto dvou skupin výrazně ovlivňují proces izolace bílkovin, výtěžnost izolačního postupu, možnost stabilizace bílkovinného izobátu, ale i jeho kvalitativní a nutriční vlastnosti a konkrétní možnosti využití v krmivářství, potravinářství a v biotechnologiích. Jedná se především o vlastnosti týkající se hodnoty isoelektrického bodu, termolability, schopnosti tvorby vazeb s některými látkami, zastoupení aminokyselin či enzymových aktivit (Bárta et al., 2007).

Využití kombinace tepla a snížení pH hlízové vody k vysrážení hlízových bílkovin je doposud jediná průmyslově využívaná metoda izolace hlízových bílkovin. Tato metoda a její nejrůznější modifikace vycházejí ze základních biochemických vlastností hlízových bílkovin – většina hlízových bílkovin je termolabilní a hodnota jejich isoelektrického bodu je v oblasti kyselého pH (Seibles, 1979). V rozsahu hodnoty pH vykazují bílkoviny nejvyšší citlivost k vysrážení.

Srážení bílkovin z hlízové vody bez předchozí úpravy pH je možné pozorovat již při překročení 40 °C. Při zahřátí hlízové vody nad 60 °C je vysráženo přibližně 50 % původně přítomných bílkovin a teplota 70 °C způsobuje kompletní vysrážení bílkovin přítomných v hlízové vodě, které však jsou z více jak 90 % nerozpustné. Snížení pH na úroveň hodnoty, při které jsou hlízové bílkoviny nejvíce náchylné na vysrážení, by mělo umožnit použití nižších teplot než je uvedená teplota 70 °C pro vysrážení většiny hlízových bílkovin. Ta je z hlediska stability hlízových bílkovin příliš vysoká a způsobuje denaturaci a s tím související nerozpustnost (Koningsveld, 2001).

Izolace hlízových bílkovin pomocí srážecích činidel - izolace bílkovin z hlízové vody brambor pomocí jejich vysrážení je z hlediska průmyslového využití perspektivní způsob, neboť v závislosti na typu použitého srážecího činidla lze tímto způsobem získat dostatečné množství nedenaturovaných bílkovin. Pro tento typ izolace hlízových bílkovin byly testovány organické i anorganické kyseliny (Knorr *et al.* 1977; Koningsveld *et al.*, 2001), jejichž účinnost z hlediska výtěžnosti izolovaných bílkovin byla nejvyšší při dosažení pH 3. Úspěšnost využití organických rozpouštědel (etanol, metanol, aceton, 2-propanol) je velmi silně závislá na režimu teplot, za kterých izolační postup probíhá. Během srážení pomocí organických rozpouštědel dochází k uvolnění tepla, což je pravděpodobně hlavním důvodem nízké výtěžnosti i zpětné rozpustnosti vysrážených bílkovin. Případné průmyslové využití těchto činidel tedy musí ve svém technologickém řešení bezpodmínečně počítat s nutností snížit teplotu reakční směsi minimálně pod 10 °C. Vysoká výtěžnost izolovaných bílkovin se zachováním zpětné rozpustnosti byla zaznamenána také při použití solí kovů (FeCl₃, ZnCl₂, FeSO₄). Při použití těchto srážecích činidel nebyla pozorována tak vysoká citlivost vůči teplotě. Výtěžnost izolačního postupu a rozpustnosti izolovaných bílkovin je velmi vysoká, zvláště pak při použití trojmocných kovů, jako to je například u FeCl₃ (Koningsveld 2001; Bárta *et al.*, 2008). Technologicky nevyřešeným problémem izolace hlízových bílkovin pomocí dvojmocných a trojmocných kovů je odstranění těchto iontů z výsledného bílkovinného koncentráту, což znehodnocuje jeho další využití (Bárta *et al.*, 2007).

4 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo shromáždění informací o současné produkci bílkovinných koncentrátů z rostlinných zdrojů.

Bílkovinné koncentráty z luštěnin se vyrábějí třemi základními procesy, tj. kyselou extrakcí (při pH 4,3), extrakcí roztokem alkoholu (60 – 90 %) a denaturací bílkoviny před vlastní extrakcí vodou. Bílkoviny z hrachu lze získat pomocí suché a mokré cesty, a to rozemletím lusků nebo vyluštěného hrachu. Snížení obsahu fytátů v bílkovinných izolátech je možné pomocí endogenních fytáz nebo přidávkem komerčních exogenních fytáz. Oligosacharidy obsažené v izolátech se odstraňují ultrafiltrací hrachové bílkoviny. Sójové bílkovinné koncentráty jsou připravovány z loupaných a odtučněných sojových bobů odstraněním většiny ve vodě rozpustných složek, které nejsou bílkovinného původu. Texturovaná sójová mouka a koncentráty této složky jsou široce používány v kombinaci s masem. Detekcí získáme hodnocení kvantitativní a kvalitativní sójové bílkoviny, které se používají při výrobě potravin, aby tím nedocházelo k výrobě nekvalitních produktu (například alergenů).

Většina brambor se pěstuje pro přímý konzum, dále pro zpracování na potravinářské výrobky a pro zpracování na škrob se vzhledem k přiděleným, omezujícím kvótám pěstuje jen menší podíl brambor. Při výrobě škrobu vzniká vedlejší produkt PFJ (hlízová voda brambor). Pro izolaci bílkovin z hlízové vody se nejefektivnější jeví tepelná koagulace injekční páry, následuje separace vysrážením bílkovin a jejich konzervace sušením. Tím se získá konečný produkt, který se nabízí jako bílkovinné krmivo pro domácí a hospodářská zvířata.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Aluko, E. R.; Mofolasay, A. O.; Watts, M. B. (2009): Emulsifying and Foaming Properties of Commercial Yellow Pea (*Pisum sativum* L.) Seed Flours, *J. Agric. Food chem.*, 57: 9793-9800.
2. Bacon, J. R.; Noel, T. R., and Lambert, N.(1990): Preparation of Transparent Pea Proteins Gel: A Comparison of Isolation Procedures, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 25: 527–537.
3. Bárta, J.; Čurn, V.(2004): Bílkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.) – klasifikace, charakteristika, význam, *Chemické listy* 98: 373-378.
4. Bárta, J.; Heřmanová, V.; Diviš, J.; Kotlářová, L.; Švajner, J. (2006): Potato tuber proteins – a waste in starch product or valuable material? Biotechnology 2006 symposium, Scientific Pedagogical Publishing (ISBN 8085645-53-X), University of South Bohemia in České Budějovice, pp 526-528.
5. Campbell, M. F.; Kraut, C. W.; Yackel, W. C., and Yang, H. S.(1985): Soy Protein Concentrate, in *New Protein Foods: Seed Storage Proteins*, Vol. 5, Altschul, A. A., and Wilcke, H. L., Academic Press, Orlando.
6. Casey, R.; Domoney, C. (1999):Pea globulins. In *Seed Proteins*; Shewry, R. P., Casey, R., Eds, Kluwer Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands, pp. 171-208.
7. Carnovale, E.; Lugaro, E.; Lombardi-Boccia, G. (1988): Phytic acid in faba bean and pea: Effect on protein availability, *Cereal Chem.*, 65: 114-117.
8. Dennis, S.; Galliard, T.(1974): Wax ester formation catalysed by isoenzymes of lipolytic acyl hydrolase, *Phytochemistry*, 13: 2469-2473.
9. Dostálová, J.(1997): Classification of Legumes and Legume Product. *Potrav. Vědy* 15 (3): 261-270.
10. Endres, J. G; Group, E.; Wayne, F.(2001): Soy Protein Product, Characteristics, Nutritional Aspects and Utilization, AOCS, p. 51.
11. Franco, J. M; Partal, P.; Ruiz-M Suez, D; B. Conde, B., and Gallegos, C.(2000): Influence of pH and Protein Thermal Treatment on the Rheology of Pea Protein-Stabilized Oil-in-Water Emulsions, *JAOCS*, Vol. 77, no. 9: 975-984.
12. Fredrikson, M.; Biot, P.; Alminger, L. M.; Carlsson, N.-G.; Sandberg, A.-S. (2001): Production Process for High-Quality Pea-Protein Isolate with Low Content of Oligosaccharides and Phytate, *J. Agric. Food Chem.*, 49: 1208-1212.
13. Gall, L. M.; Guéguen, J.; Séve, B.; Quillien, L.(2005): Effects of Grinding and Thermal Treatments on Hydrolysis Susceptibility of Pea Proteins (*Pisum sativum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 53: 3057-3064.

14. Gatehouse, J. A.; Croy, R. R. D.; Morton, H.; Tyler, M.; Boulter, D. (1981) Characterisation and subunit structures of the vicilin storage proteins of pea (*Pisum sativum* L.). *Eur. J. Biochem.*, 118, 627-633.
15. Guéguen, J.(1991): Pea and fababean proteins. In *Developments in Food Proteins. Vol 7*; Hudson, B. J. F., Ed., *Elsevier Applied Science*: London, pp. 35-78.
16. Heckman, T.; Neuman, B.; Tschirdewah, B.; Bentle, W. (1992): Soya protein. Detection in raw salami and frankfurter-type sausages. *Fleischwirtschaft*, 72: 1423–1427.
17. Hvizdalová, I. (2008): Masné výrobky s přídavkem sóji, *Agronavigátor*, č. článku 74741.
18. Jackman, R. L.; Yada, R. Y. (1988): Functional properties of wheypotato protein composite blends in a model system. *J. Food Sci.*, 53: 1427-1432.
19. Koningsveld van G. A. (2001): Psycho-chemical and functional protein of potato proteins. Ph.D. thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, p. 147.
20. Koningsveld van G. A.; Gruppen, H.; Jongh de H. H. J.; Wijngaards, G.; Boekel van M. A. J. S; Walstra, P.; Voragen, A. G. J.(2001): Effects of pH and Heat Treatments on the Structure and Solubility of Potato Proteins in Different Preparations, *J. Agric. Food Chem.*, 49: 4889-4897.
21. Koningsveld van G. A.; Gruppen, H.; Jongh de H. H. J.; Boekel van M. A. J. S; Walstra, P.; Voragen, A. G. J. (2001): The solubility of potato proteins from industrial potato fruit juice as influenced by pH and various additives. *J Sci Food Agric* 82: 134-142.
22. Koningsveld van G. A.; Gruppen, H.; Jongh de H. H. J.; Kuijpers, I. J.; Boekel van M. A. J. S; Walstra, P.; Voragen, A. G. J.(2006): Effects of Protein Composition and Enzymatic Activity on Formation and Properties of Potato Stabilized Emulsions, *J. Agric. Food Chem.*, 54: 6419-6427.
23. Lahola, J., a kol.(1990): Luskoviny, Pěstování a využití, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, s. 224.
24. Liener, I. (1994): Implications of antinutritional components in soybean foods, *Crit Rev Food Sci Nutr* 34: 31–67.
25. Lisinka, G.; Leszczynski, W. (1989): Potato tubers as a raw material for processing and nutrition. In *Potato science and technology*; Elsevier Applied Science, London.
26. Lucker, E.; Hildebrandt, G.; Horn, D. (25. – 28.09.2000): Quality assurance by histological analysis of food. In: 41. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“, Garmisch-Partenkirchen, Germany, pp. 588–592.
27. Meyer, R.; Chardonnes, F.; Hübner, P.; Lüthy, J. (1996): Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: detection of soya in processed meat products; *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 203: 339–344.

28. Odbor rostlinných komodit MZe ČR(2009): Situační a výhledová zpráva brambor.
29. Odbor rostlinných komodit MZe ČR(2007): Situační a výhledová zpráva luskoviny.
30. Odbor rostlinných komodit MZe ČR(2008): Situační a výhledová zpráva olejniny.
31. Odbor rostlinných komodit MZe ČR(2009): Situační a výhledová zpráva olejniny.
32. O’Kane, F. E.; Happe, R. P.; Vereijken, J. M.; Gruppen, H.; Van Boekel, M. A. J. S. (2004): Characterisation of pea vicilin 2, Consequences of compositional heterogeneity on heat-induced gelation behavior, *J. Agric. Food Chem.*, 52:3149-3154.
33. O’Kane, F. E., Vereijken, J. M., Gruppen, H. van Boekel,(2005): M.A. J. S. Gelation behaviour of protein isolates extracted from 5 cultivars of *Pisum sativum* L., *J. Food Sci.*, 70: 132–137.
34. Olson, A. C.; Gray, G. M.; Gumbmann, M. R.; Wagner, J. R. (1982): Nutrient Composition of and Digestive Response to Whole and Extracted Dry Beans. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 26-32.
35. Petterson, C. A.; Maskus, H.; Bassett, C. M. C. (mar/apr 2010): Fortifying Foods with Pulses, *Cereal Foods World*, vol. 55, no. 2: 56-62.
36. Pokorný, J.; Dostálová, J.(1996): Luštěniny - jejich složení a výživová hodnota, *Výživa a potraviny* 51 (5): 133-135.
37. Pospiech, M.; Tremlová, B.; Renčová, E.; Randulová, Z. (2009): Immunohistochemical Detection of Soya Protein– Optimisation and Verification of the Method, *Czech J. Food Sci.* Vol. 27, no. 1: 11–19.
38. Rackis, J. J.(1985): Oligosaccharides of Food Legumes; Alpha- Galactosidase Activity and the Flatus Problem. In *Physiological Effects of Food Carbohydrates*; Jeanes, A., Hodge, J., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, 207-222.
39. Rangel, A.; Domont, G. B., Pedrosa, C.; Ferreira, S. T. (2003): Functional properties of purified vicilins from cowpea (*Vigna unguiculata*) and pea (*Pisum sativum*) and cowpea protein isolate, *J. Agric. Food Chem.*, 51: 5792-5797.
40. Ratel, M. C.; Gueguen, J. (2000): Fractionation of potato proteins: solubility, thermal coagulation and emulsifying properties. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 33, 380-387.
41. Reddy N. R.; Salunkhe, D. K.; Sharma, R. P. (1980): Flatulence in rats following ingestion of cooked and germinated black gram and a fermented product of black gram and rice blend. *J. Food Sci.*, 45: 1161-1164.
42. Rybáček *et al.* (1988): *Brambory*, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 360 s.
43. Shand, P. J., Ya, H., Pietrasik, Z.; Wanasundara (2007)... P. K. J. P. D. Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels, *Food Chem.*, 102: 1119–1130.
44. Soral-Smietana, M.; Swigon, A.; Amarowicz, R.; Sijtsma, L. (1998): Chemical composition, microstructure and physicochemical characteristics of two commercial pea protein isolates. *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 7/48: 193–200.

45. Sorensen, A.-S.; Hansen, A. B.; Sorensen, S.; Barkholt, V.; Frøkiær, H. (1998): Influence of industrial processing of peas on the content of antinutritional factors and the in-vitro digestibility. In Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes, Valladolid, Spain; AEP: Paris, pp. 348-349.
46. Sosulski, F. W.; McCurdy, A. R.(1987): Functionality of flours, protein fractions and isolates from field peas and bean, *J. Food Sci.*, 52: 1010–1014
47. Strahle, J.; Roth, M. (1996): Determination of soya-protein by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 92: 247–250.
48. Sýkorová, S.; Bradová, J.; Matějová, E.; Berová, M. (2005): Možnosti využití elektroforézy hlízových proteinů a esteráz k charakterizaci registrovaných odrůd, Osivo a sadba, VÚRV Praha.
49. Toro-Vazquez, J. F., and Regenstein, J. M. (1989): Physicochemical Parameters of Protein Additives and Their Emulsifying Properties, *J. Food Sci.*, 54: 1177–1201.
50. Tzitzikas, E. N.; Vincken, J-P.; Groot de J.; Gruppen, H.; Visser, R. G. F. (2006) : Genetic Variation in Pea Seed Globulin Composition, *J. Agric. Food Chem.*, 54: 425-433.
51. USDA (2006): Nutrient Database for Standard Reference, Release 19
52. Velíšek, J.(2002): Chemie Potravin (1.díl), OSSIS, Tábor, s. 344.
53. Velíšek, J., *et al.*(1999): Chemie potravin (1.díl), OSSIS, Tábor, s. 352.
54. Wang, H., Johnson, L. A., Wang, T. (2004): Preparation of Soy Protein Concentrate and Isolate from Extruded-Expelled Soybean Meals, pp. 713-717.
55. Westfalia Separation AG (2002): Recovery of starch and protein from potatoes (brochure). Westfalia Separator Industry, GmbH, Oelde. (<http://www.westfalia-separator-industry.com/downloads/brochures/9997-1054-00.pdf>).

Internetová literatura

1. Anonym₁ (2011): <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/hrach.htm>, staženo dne 10.02.2011.
2. Anonym₂ (2011): <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/soja.htm>, staženo dne 10.02.2011.
3. Anonym₂ (2011): <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/brambory.htm>, staženo dne 24.02.2011
4. ISVAV (2006): http://www.isvav.cz/resultDetail.do?rowId=RIV%2F00027031%3A_____%2F05%3A01%3A_3715%21RIV06-MZE-00027031, staženo dne 26.02.2011.
5. Moudrý (2011): <http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/index.php?n1=2&n2=2&n3=1&n4=1&poloha=1>, staženo dne 23.03.2011.
6. Moudrý₂ (2011): http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/Soja_lustinata.htm, staženo dne 23.03.2011.