

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra chemie



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Význam rostlinných nápojů z hlediska složení aminokyselin
Diplomová práce

Autor práce: Bc. Lucie Linhartová
Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Vlastimil Mikšík, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci na téma „Význam rostlinných nápojů z hlediska složení aminokyselin“ vypracovala samostatně a použila pouze literaturu a další informační zdroje, které jsou zde citovány a uvedeny v seznamu literatury na posledních stránkách této práce.

V Praze dne

.....

podpis autora práce

Poděkování

Velké poděkování patří především Ing. Vlastimilu Mikšíkovi, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, jeho trpělivost, cenné rady a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování věnoval. Ráda bych také poděkovala Ing. Matyášovi Orsákovi, Ph.D. a Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. za čas, který mi věnovali a za jejich pomoc při stanovení aminokyselin ve vybraných rostlinných nápojích.

Význam rostlinných nápojů z hlediska složení aminokyselin

Souhrn:

Tato diplomová práce, nesoucí název Význam rostlinných nápojů z hlediska složení aminokyselin, je rozčleněna na dvě části – teoretickou a praktickou.

V teoretické části jsou stručně popsány plodiny, ze kterých byly vyrobeny v domácích podmínkách rostlinné nápoje. Konkrétně se jednalo o hrách setý, merlík čilský, konopí seté a brukev řepku. Součástí teoretické části je také obecná charakteristika aminokyselin, jejich rozčlenění do 3 skupin a popis každé aminokyseliny.

Praktická část se nejprve zabývá stanovením výtěžnosti a obsahu sušiny rostlinných nápojích. Na začátku bylo nutné rozmixovat rostlinný materiál v daném poměru s vodou a následně získané vylisky a nápoje zlyofilozovat. Ještě před samotnou lyofilizací však byla zjištěna výtěžnost. U hrachu a řepky činil samotný nápoj 74 %, u quinoi 81 % a u konopí dokonce 84 %.

Cílem tohoto výzkumu bylo stanovit nejen výtěžnost, ale také obsah esenciálních a neesenciálních aminokyselin ve vyliscích a nápojích vybraných vzorků. Zlyofilozované vzorky byly proto naváženy na analytických vahách do zkumavek se zábrusem, kam byla, v případě kyselých hydrolyz, přidána ještě 6M kyselina chlorovodíková a následně byly uzavřené zkumavky vloženy do sušárny vyhřáté na 110 °C na 24 hodin. Do navážených vzorků, u kterých následovala alkalická hydrolyza, bylo místo kyseliny chlorovodíkové přidáno 4,2M hydroxidu sodného a zkumavky byly v sušárně nechány o 4 hodiny méně při teplotě 105 °C. Po uplynutí této doby se nechaly zkumavky vychladnout a jejich obsah byl kvantitativně převeden do odměrných baněk, které byly doplněny destilovanou vodou po rysku. U vzorků, u nichž se prováděla alkalická hydrolyza, bylo navíc přidáno 10 ml kyseliny chlorovodíkové. Obsah v odměrných baňkách byl promíchán a zfiltrován přes filtrační papír a následně přes mikrofiltr do skleněných vialek, kde došlo ještě k naředění filtrátu destilovanou vodou. Takto připravené vzorky byly zanalyzovány metodou LC-ESI-MS/MS.

Bylo zjištěno, že ve všech vzorcích, v nápoji i vylisku, tvoří z celkového množství esenciální aminokyseliny okolo 30 %. Dalším cílem bylo potvrdit, či vyvrátit hypotézu, že do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, než do vylisku. Tato hypotéza byla vyvrácena. Do nápoje z quinoi se vyloužilo 98,97 mg/g aminokyselin a do vylisku 201,17 mg/g aminokyselin. Ze získaných výsledků vyplývá, že nejvyšší obsah aminokyselin je v hrachovém nápoji (582,16 mg/g) a naopak nejméně v hrachovém vylisku (89,27 mg/g). Co se esenciálních aminokyselin týče, nejvíce jich bylo zjištěno opět v nápoji z hrachu (205,25 mg/g) a nejméně ve vylisku z hrachu (30,98 mg/g).

Klíčová slova: aminokyseliny, esenciální, rostlinný nápoj, laktózová intolerance

The importance of plant beverages in terms of amino acid composition

Summary:

This Master's thesis, titled Significance of Plant-Based Beverages in Terms of Amino Acid Composition, is divided into two parts - theoretical and practical.

The theoretical part briefly describes the crops from which plant-based beverages were produced under home conditions. Specifically, these included peas, Chilean tarweed, hemp, and rapeseed. Also included in the theoretical part is a general characterization of amino acids, their classification into 3 groups, and a description of each amino acid. The practical part first deals with determining the yield and dry matter content of plant-based beverages. Initially, it was necessary to blend the plant material in the given ratio with water, and subsequently, the obtained extracts and beverages were lyophilized. However, before the lyophilization itself, the yield was determined. For peas and rapeseed, the beverage itself accounted for 74%, for quinoa 81%, and for hemp as much as 84%.

The aim of this research was not only to determine the yield but also the content of essential and non-essential amino acids in the extracts and beverages of selected samples. Therefore, lyophilized samples were weighed on analytical balances into flasks with ground glass stoppers, to which, in the case of acidic hydrolysis, 6M hydrochloric acid was added, and then the sealed flasks were placed in a drying oven heated to 110°C for 24 hours. In the case of samples subjected to alkaline hydrolysis, 4.2M sodium hydroxide was added instead of hydrochloric acid, and the flasks were left in the oven for 4 hours less at a temperature of 105°C. After this time, the flasks were allowed to cool, and their contents were quantitatively transferred to volumetric flasks, which were filled with distilled water up to the mark. For samples subjected to alkaline hydrolysis, an additional 10 ml of hydrochloric acid was added. The contents in the volumetric flasks were mixed and filtered through filter paper and subsequently through a microfilter into glass vials, where the filtrate was further diluted with distilled water. The prepared samples were analyzed by the LC-ESI-MS/MS method.

It was found that in all samples, both in the beverage and in the extract, essential amino acids accounted for approximately 30% of the total amount. Another goal was to confirm or refute the hypothesis that fewer amino acids are leached into the beverage from the seeds than into the extract. This hypothesis was refuted. For quinoa beverage, 98.97 mg/g of amino acids were leached, and for the extract, 201.17 mg/g of amino acids. From the obtained results, it follows that the highest content of amino acids is in the pea beverage (582.16 mg/g), and conversely, the lowest in the pea extract (89.27 mg/g). Regarding essential amino acids, the highest amount was again found in the pea beverage (205.25 mg/g) and the lowest in the pea extract (30.98 mg/g).

Keywords: amino acids, essential, herbal drink, lactose intolerance

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce a hypotéza	9
3 Literární rešerše	10
3.1. Rostlinné nápoje	10
3.2. Hrách setý	10
3.2.1. Charakterizace hrachu	10
3.2.2. Využití hrachu	11
3.3. Merlík čilský	11
3.3.1. Charakterizace merlíku	11
3.3.2. Využití merlíku	12
3.4. Konopí seté	12
3.4.1. Charakterizace konopí	12
3.4.2. Využití konopí	13
3.5. Brukev řepka	13
3.5.1. Charakterizace řepky	13
3.5.2. Využití řepky	14
3.6. Aminokyseliny	14
3.6.1. Obecná charakteristika aminokyselin	14
3.6.2. Rozdělení aminokyselin	15
3.6.2.1. Esenciální aminokyseliny	16
3.6.2.1.1. Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem	16
3.6.2.1.2. Lysin	17
3.6.2.1.3. Methionin	17
3.6.2.1.4. Fenylalanin	18
3.6.2.1.5. Threonin	18
3.6.2.1.6. Tryptofan	19
3.6.2.1.7. Histidin	19
3.6.2.2. Podmíněně esenciální aminokyseliny	20
3.6.2.2.1. Cystein	20
3.6.2.2.2. Tyrosin	21
3.6.2.2.3. Taurin	21
3.6.2.2.4. Arginin	21
3.6.2.2.5. Prolin	22
3.6.2.2.6. Glutamin	22
3.6.2.3. Neesenciální aminokyseliny	23
3.6.2.3.1. Alanin	23
3.6.2.3.2. Asparagin a kyselina asparagová	23

3.6.2.3.3. Glycin	24
3.6.2.3.4. Serin.....	25
3.6.2.3.5. Kyselina glutamová.....	25
4 Metodika	26
4.1. Použité vzorky rostlinných nápojů	26
4.2. Příprava vzorků pro lyofilizaci	26
4.3. Příprava vzorků pro LC-ESI-MS/MS	27
4.3.1 Kyselá hydrolyza	27
4.3.2 Alkalická hydrolyza	28
4.4 Analýza aminokyselin ve vzorcích	28
5 Výsledky	31
5.1. Stanovení výtěžnosti a obsahu sušiny v rostlinných nápojích a výliscích	31
5.2. Stanovení celkového obsahu aminokyselin v rostlinných nápojích a výliscích.....	33
5.3. Ověření hypotézy „Do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, většina zůstává ve výlisku“	35
5.4. Ověření hypotézy „Největší množství esenciálních aminokyselin se nachází v quinoi“	38
5.5. Ověření hypotézy „Největší množství aminokyselin je v hrachu“	39
5.6. Ekonomické zhodnocení domácí výroby rostlinného nápoje ve srovnání s běžně dostupnými produkty na trhu.....	43
6 Diskuze	45
7 Závěr.....	48
8 Literatura.....	50

1 Úvod

Rostlinné nápoje jsou v dnešní době velmi oblíbené nejen u lidí trpících laktózovou intolerancí, sportovců či osob, které se stravují alternativním způsobem stravování, ale také u těch, kteří mléčné výrobky konzumují a rostlinnými nápoji si chtějí pouze zpestřit svůj jídelníček či se zajímají o zdravou výživu. Nicméně důvodem ke koupi rostlinného nápoje může být také chuť zkoušet nové potraviny.

Nabídka na trhu je opravdu široká. V obchodních řetězcích nalezneme nápoje vyrobené například ze sóji, mandlí, máku, ovesných vloček, kokosu, konopí, špaldy, pohanky, rýže. Problémem pro některé spotřebitele však může být vyšší cena. Průměrně 1 litr rostlinného nápoje koupeného v obchodě vyjde na 60,-, zatímco 1 litr polotučného kravského mléka stojí okolo 20,-. Avšak v případě, kdy se člověk rozhodne vyrobit si rostlinný nápoj v domácích podmínkách, je cena za 1 litr podobná ceně za 1 litr polotučného kravského mléka.

Aminokyseliny, které se mimo jiné vyskytují i v rostlinných nápojích, jsou základní stavební jednotkou bílkovin. Bílkoviny spolu s tuky a sacharidy řadíme mezi tzv. makroživiny, tedy živiny, které člověk potřebuje přijímat ve větším množství. Všechny tyto makroživiny představují důležitý zdroj energie, ale bílkoviny obsahují pouze 4 kcal na 1 gram hmotnosti potraviny.

Lidské tělo je tvořeno přibližně 20 druhy aminokyselin. Rozdělujeme je na esenciálními, podmíněně esenciální a neesenciálními. Esenciální aminokyseliny si organismus neumí vytvořit sám a musíme je proto přijímat v potravě nebo z doplňků stravy. Naopak neesenciální aminokyseliny si tělo dokáže vyrobit samo a není tedy nutné doplňovat je navíc potravou. Dostatečný příjem podmíněně esenciálních aminokyselin je potřeba zajistit především v dětském věku, v období růstu totiž není jejich syntéza dostatečná.

2 Cíl práce a hypotéza

Cílem teoretické části této diplomové práce je přehledné vypracování literární rešerše zaměřené na rostliny, z jejichž semen byly rostlinné nápoje, u nichž byl stanoven obsah aminokyselin v této diplomové práci, připraveny a zároveň jsou také v literární rešerši popsány všechny aminokyseliny.

V praktické části se tato práce zabývá výrobou nápojů ze semen ručním lisováním. Cílem je zjistit výtěžnost, obsah sušiny, obsah a zastoupení esenciálních aminokyselin v nápoji a ve vylisku z hrachu setého, merlíku čilského, konopí setého a řepky. Bude zjištěna výtěžnost nápoje a lyofilizací sušina v nápoji i vylisku. Cílem je také ekonomicky vyhodnotit domácí výrobu rostlinného nápoje a porovnat cenu s běžně dostupnými produkty na trhu.

Hypotézy:

- ❖ do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, většina zůstává ve vylisku
- ❖ největší počet esenciálních aminokyselin se nachází v quinoi
- ❖ nejvyšší množství aminokyselin se nachází v hrachu

3 Literární rešerše

3.1. Rostlinné nápoje

Rostlinné nápoje se v dnešní době stávají stále oblíbenějšími jako náhražky mléka či mléčných výrobků. Od roku 1999 se každý rok jejich spotřeba zvýší asi o 11 % (Horáčková et al. 2017). Preferovány mohou být z různých důvodů: laktózová intolerance, alergie na mléčné bílkoviny, veganství, zajištění welfare zvířat či snížení uhlíkové stopy. Existují ale i jedinci, kteří si rostlinné nápoje kupují pouze za účelem zpestření svého jídelníčku (Popova et al. 2023).

Rostlinné nápoje se od těch živočišných liší složením. Velké rozdíly byly pozorovány v obsahu bílkovin, vápníku, vitaminu B12, vlákniny a tuku (Singhal et al. 2017). Avšak co se vápníku a vitaminů týče, některé nápoje mohou být fortifikovány (Xie et al. 2023), to znamená, že dojde k obohacení o výživovou složku, kterou v důsledku technologického procesu ztratily (Dary et al. 2006). V případě porovnání rostlinných nápojů s kravským mlékem je důležité si uvědomit, že rostlinné nápoje se vyrábí pouze vylouhováním rostliny, a proto se do nápoje dostane oproti kravskému mléku jen velmi malé množství cenných látek (Horáčková et al. 2017).

Na trhu se nachází rostlinné nápoje z různých druhů rostlin. Na základě použitých surovin je můžeme rozřadit do pěti základních skupin: cereální (oves, rýže), luštěninové (sója, hrách), pseudoobilné (quinoa), semenné (slunečnice, sezam) a ořechové (mandle, kešu) (Xie et al. 2023). V této diplomové práci se věnuji rostlinným nápojům vyrobených v domácích podmínkách z hrachu, quinoi, konopí a řepky.

3.2. Hrách setý

3.2.1. Charakterizace hrachu

Hrách setý (*Pisum sativum*) patří mezi nejkonzumovanější luštěniny (Devi et al. 2019). Ve světové produkci obsadil čtvrté místo vedle sóji, fazolí a cizrny. Dnes se pěstuje ve více než 90 zemích a odhadovaná celosvětová roční produkce hrachu činí 13,5 milionů tun (Ge et al. 2020). Mezi největší producenty se řadí Kanada, Čína, Rusko a Indie (Raghunathan et al. 2017).

Jedná se o jednoletou rostlinu z čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Plodem je lusk a lodyha hrachu se vyznačuje svou poléhavostí a délkou 2 – 3 metry (Rungruangmaitree et al. 2017). Povrch hrachu může být buď drsný, nebo hladký a jeho barevnost se pohybuje od světle žluté po oranžově hnědou. Tvar může být nepravidelný, válcovitý, kosočtverečný či eliptický, jak je znázorněno na obrázku 1. Barva hrachu záleží na obsahu flavonoidů v semeni, čím tmavší hrách, tím více flavonoidů je v něm obsaženo (Devi et al. 2019).



Obrázek 1: Kategorie semen hrachu dle barvy, drsnosti a tvaru (Santos et al. 2019)

3.2.2. Využití hrachu

Hrách je velmi cenný pro výživu lidí i zvířat zejména svým obsahem bílkovin, který může činit až 31 % (Hara et al. 2023). Na 100 g suchého hrachu tedy připadá 20 – 25 g bílkovin (Thavarajah et al. 2022). Záleží však na genetických faktorech, na prostředí, kde je hrách pěstován (Hood-Nieffer et al. 2012) a především na zralosti semen (Roy et al. 2010).

Využití hrachu v potravinářství je mnohostranné. Suchá semena hrachu se využívají k přípravě hrachové kaše, polévek, pomazánek nebo hummusu. Zelený hrášek slouží k přímé konzumaci a je velice oblíbený díky své nasládlosti (Countrylife 2019).

Hrách setý může také ale najít své využití jako zdroj biomasy. Brant et al. (2017) prováděli pokusy, při nichž byla sledována produkce porostů vybraných odrůd hrachu setého a hrachu rolního a produkce biomasy jednotlivými částmi rostliny. Z výsledku vyplynulo, že nejvíce se na celkové produkci biomasy podílela lodyha a listy. Bylo by však potřeba provést ještě další výzkum, protože tento pokus trval pouze 1 rok a tudíž není možné vyvozovat z něho obecné závěry.

3.3. Merlík čilský

3.3.1. Charakterizace merlíku

Merlík čilský neboli quinoa (*Chenopodium quinoa*) je rostlina, která se řadí společně s amarantem (*Amaranthus spp.*) a pohankou (*Fagopyrum spp.*) mezi pseudoereálie (Alvarez-Jubete et al. 2009), které jsou na rozdíl od obilovin dvouděložné a liší se také strukturou a funkcí. Důvod, proč se používá právě název „pseudoobiloviny, je ten, že svými vlastnostmi (obsah škrobu, chuť, textura, způsob vaření) jsou blízké obilovinám (Morales et al. 2021). Pseudoobiloviny jsou bohaté na bílkoviny, vitaminy, minerální látky, vlákninu a neobsahují lepek (Kaur et al. 2023). Díky svým nutričním vlastnostem je quinoa považována za plodinu 21. století. (Vilcacundo et al. 2017).

Quinoa se konzumuje již přes 5000 let. Semena jsou malá, kulatá, plochá a jejich barva může být bílá, šedá, černá, ale i červená nebo žlutá (Nowak et al. 2016). Na obrázku 2 je znázorněna

quinoa bílá, červená a černá. Mezi místa, kde se merlík čilský pěstuje nejvíce, patří Argentina, Bolívie, Chile, Ekvádor, Kolumbie a Peru (Vilcacundo et al. 2017).



Obrázek 2: Druhy quinoi (Derakhshan 2018)

3.3.2. Využití merlíku

Semena quinoi je možno rozemlít na mouku a přidávat ji do výrobků jako je chléb, sušenky, palačinky, těstoviny nebo nudle. Další využití najde quinoa při výrobě piva nebo alkoholického nápoje „chicha“ pocházejícího z Jižní Ameriky (Vilcacundo et al. 2017). Ke konzumaci slouží i listy quinoi, které se v kuchyni používají podobně jako například listy špenátu. Klíčky quinoi se přidávají do zeleninových salátů. Merlík čilský se využívá rovněž ke krmení hospodářských zvířat (Hernández-Ledesma 2019).

3.4. Konopí seté

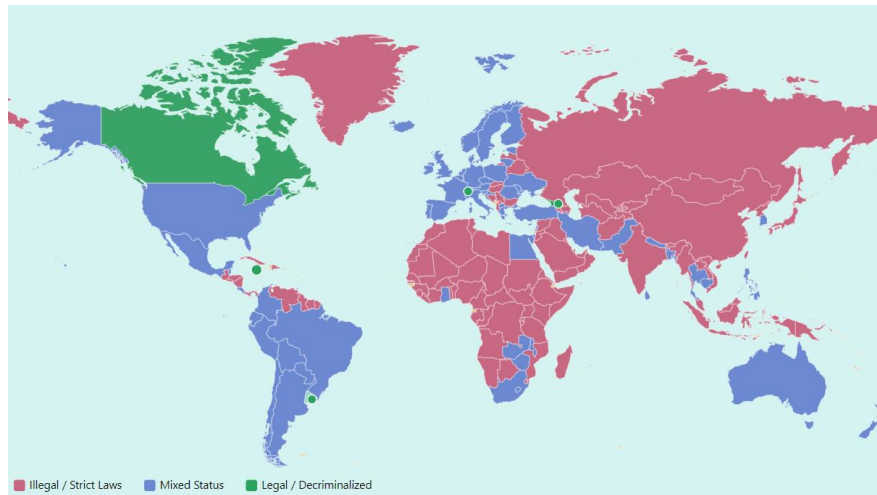
3.4.1. Charakterizace konopí

Konopí seté (*Cannabis sativa*) je jednoletá, krytosemenná rostlina z čeledi konopovitých (*Cannabaceae*) (Kaczorová et al. 2020). Pěstuje se již 5000 až 6000 let. Je proto těžké určit jeho původ, ale předpokládá se, že pochází z alpského předhůří Himalájí (EISOhly et al. 2017).

V současnosti je v konopí identifikováno přes 1400 různých látek, z nichž 144 představují kanabinoidy (Landa et al. 2020). Mezi dva nejznámější patří tetrahydrokanabinol (THC), představující hlavní psychoaktivní složku konopí, a kanabidiol (CBD) tvořící nepsychoaktivní složku (Hajer 2015). Konopí obsahuje také flavonoidy, lignany, terpenoidy a polysacharidy (Peng et al. 2021).

Rostliny konopí se pěstují buď za účelem produkce semen a vláken, pak hovoříme o technickém konopí, které má vyšší obsah kanabidiolu (CBD) a nižší obsah tetrahydrokanabinolu (THC) a je pěstováno na polích (Kaczorová et al. 2020). Naopak léčebné konopí, získávané ze samičích květů, se stále častěji pěstuje v uzavřených prostorech, kde je možnost nastavení teploty, vlhkosti, koncentrace kyslíku a intenzity světla. Zároveň je umožněna vyšší ochrana rostliny před škůdci (Magagnini et al. 2018).

Povolení léčebného konopí se liší na státní úrovni. Lékařské použití je povoleno ve 40 státech, zatímco pěstování pro rekreační účely je legální pouze ve 24 státech (Allen et al. 2024). Obrázek 3 znázorňuje legalizaci konopí ve světě. Červeně vyznačené jsou státy, ve kterých konopí nebylo legalizováno a modře jsou znázorněny státy, jejichž zákony povolují konopí pouze jako součást některých léčiv.



Obrázek 3: Legalizace konopí ve světě - mapa (Allen et al. 2024)

3.4.2. Využití konopí

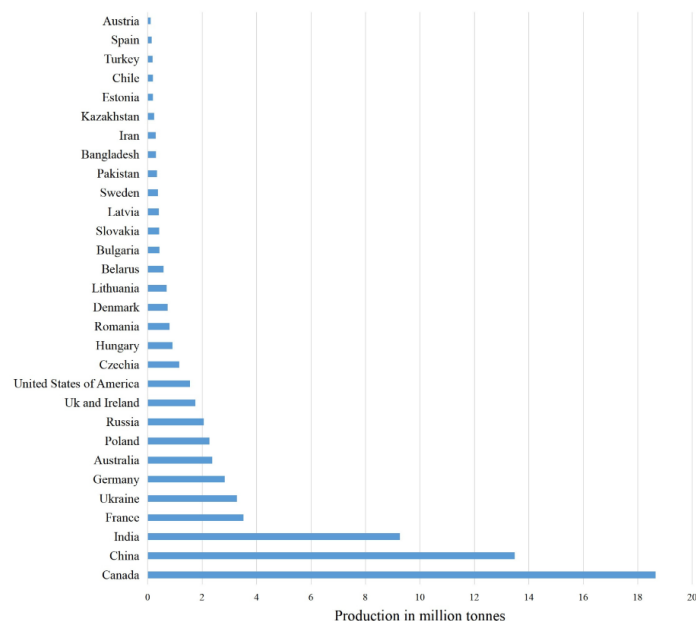
Hajer (2015) uvádí, že v posledních letech zájem o působení *Cannabis* na lidský organismus výrazně roste. Delší dobu je znám pozitivní vliv kanabinoidů na neurologická onemocnění jako je například epilepsie, Parkinsonova choroba nebo amyotrofická laterální skleróza (Hajer 2015). Dále se konopí používá v dermatologii. Má protizánětlivé účinky a používá se proto při léčbě akné, lupénce, dermatitidě či sklerodermii (Shao et al. 2021).

3.5. Brukev řepka

3.5.1. Charakterizace řepky

Brukev řepka (*Brassica napus*) je žlutě kvetoucí olejnína (Calisir et al. 2005), patřící do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*), která pravděpodobně vznikla před 7500 lety spontánní mezidruhovou hybridizací mezi genotypy řepky a kapusty (Iniguez-Luy et al. 2011). Zralá semena řepky jsou kulovitá s červenohnědou až tmavě hnědou nebo černou barvou (Raboanatahiry et al. 2021).

Řepka se pěstuje na celém světě, celkem v 66 zemích, kdy 34 zemí je v Evropě, 15 zemí v Asii, 9 zemí v Americe a 2 země v Oceánii. Celkem celý svět vyprodukuje více než 70 milionů tun řepkového semene a mezi největší producenty patří Kanada, Čína a Indie, jak vyplývá z obrázku 4 (Raboanatahiry et al. 2021).



Obrázek 4: Produkce řepky ve světě (Raboanatahiry 2021)

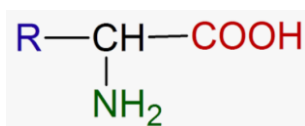
3.5.2. Využití řepky

Využití nachází řepka nejen při výrobě biopaliv, ale také v potravinářském, kosmetickém nebo zdravotnickém průmyslu (Raboanatahiry 2021). V tradiční medicíně byly dříve kořeny řepky používány jako diuretikum, proti kurdějím a zánětům močového měchýře (Saeidnia et al. 2012). Ze semen se vyrábí řepkový olej, který obsahuje až 99 % triacylglycerolů. V kuchyni se tento olej používá pro přípravu salátů, dresinků, majonéz a na smažení či pečení (Beszterda 2019). Zároveň slouží řepkový olej také jako mazivo, palivo a surovina pro výrobu některých chemikálií (Li et al. 2014).

3.6. Aminokyseliny

3.6.1. Obecná charakteristika aminokyselin

Aminokyseliny patří mezi organické sloučeniny, pro které je charakteristické, že obsahují alespoň jednu aminoskupinu (-NH₂) a karboxylovou skupinu (-COOH) a zároveň postranní řetězec (-R), který je pro každou aminokyselinu specifický a rozhoduje o jejím charakteru (Kalidas & Sangaranarayanan 2023). V přírodě se vyskytuje okolo 800 aminokyselin, od nichž je odvozeno velké množství sloučenin (Holeček 2023), ale pouze 20 základních aminokyselin tvoří bílkovinné molekuly (Lopez et al. 2023). Na obrázku 5 je znázorněn obecný vzorec aminokyselin.



Obrázek 5: Obecný vzorec aminokyselin (<https://e-chembook.eu/bilkoviny>)

3.6.2. Rozdělení aminokyselin

Aminokyseliny se rozdělují do několika skupin na základě stanovených kritérií, které jsou uvedeny v tabulce 1 (Holeček 2023). Tato diplomová práce se bude věnovat především klasifikaci aminokyselin dle nezbytnosti v potravě.

Tabulka 1: Klasifikace aminokyselin (Holeček 2023)

Kriterium	Klasifikace
konfigurace na asymetrickém uhlíku	L-aminokyseliny, D-aminokyseliny
poloha NH ₂ skupiny	α, β, γ, ... aminokyseliny
struktura a acidobasické chování	Kyselé, zásadité, neutrální
charakter postranního řetězce	polární, nepolární
výskyt v proteinech	proteinogenní, vzniklé posttranslačně a ostatní
metabolismus	glukogenní, ketogenní, glukogenní i ketogenní
nezbytnost v potravě	Esenciální, podmíněné esenciální, neesenciální

Rozdělení aminokyselin na esenciální (EAA, essential amino acids) a neesenciální (NEAA, non-essential amino acids) bylo poprvé popsáno ve 20. století, kdy William C. Rose díky své studii zjistil, že lidé a zvířata dokáží udržet dusíkovou rovnováhu pouze s dietou, která obsahuje 8 určitých aminokyselin, nazývaných jako esenciální (Lopez et al. 2023). Někdy se můžeme setkat s označením „nezbytné“, neboť organismus není schopen si sám tyto aminokyseliny syntetizovat v dostačujícím množství a je proto nutné dodávat je tělu z potravy (Wuest et al. 2011). Při této studii bylo taktéž zjištěno, že v případě, kdy byly z diety odstraněny právě esenciální aminokyseliny, jednotlivci nebyli schopni růst a rychle se u nich rozvinula negativní dusíková bilance (Lopez et al. 2023).

Mezi esenciální aminokyseliny byl nejprve zařazen isoleucin (Ile), leucin (Leu), lysin (Lys), methionin (Met), fenylalanin (Phe), threonin (Thr), tryptofan (Trp) a valin (Val) (Orgeron et al. 2014), a až později k nim byl přidán ještě histidin. Ostatní aminokyseliny byly označeny za neesenciální.

Pozdější studie však pojmenovaly ještě třetí skupinu podmíněné esenciální aminokyseliny (CEAA, conditionally essential amino acids), do které byl zařazen cystein (Cys), tyrosin (Tyr), taurin (Tau), arginin (Arg), prolin (Pro) a glutamin (Glu). U podmíněně esenciálních aminokyselin bylo dokázáno, že u několika dědičných i získaných onemocnění dochází k nedostatku některých neesenciálních aminokyselin a aby léčba těchto nemocí byla úspěšná, je nezbytné zvýšit příjem CEAA (Holeček 2023).

Za neesenciální aminokyseliny je tedy momentálně považován Alanin (Ala), Asparagin (Asn), kyselina asparagová (Asp), glycin (Gly), serin (Ser) a kyselina glutamová (Glu).

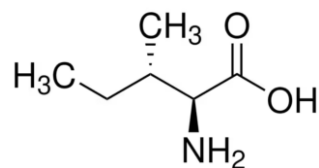
3.6.2.1. Esenciální aminokyseliny

3.6.2.1.1. Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem

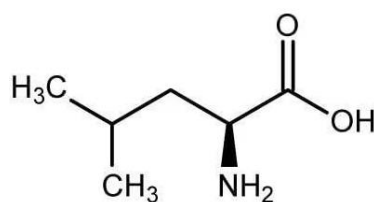
Mezi aminokyseliny s rozvětveným řetězcem, známé také pod názvem BCAA (Branched-Chain Amino Acids), řadíme isoleucin, leucin a valin (Håkansson 2018). Tyto tři aminokyseliny tvoří 20 – 25 % většiny bílkovin ve stravě a u savců představují 35 % esenciálních aminokyselin v potravě (Dimou et al. 2022).

Všechny tři BCAA jsou si velmi podobné, avšak jejich chování není identické. Tvarem, velikostí a hydrofobností se liší jejich postranní řetězce. Liší se taktéž v sekundární struktuře, kdy leucin častěji tvoří α -šroubovice a isoleucin s valinem naopak β -struktury (Brosnan et al. 2006). Další rozdíly se vyskytují u katabolismu těchto aminokyselin. Valin je glukogenní, leucin ketogenní a isoleucin je glukogenní i ketogenní (Holeček 2023).

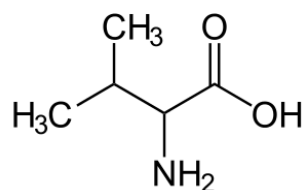
BCAA zlepšují sportovní výkon a snižují únavu, což je primární důvod, proč tyto aminokyseliny užívají zejména sportovci před zátěží (Chen et al. 2023). Kromě toho však aminokyseliny s rozvětveným řetězcem mají příznivé účinky při chronickém onemocnění jater, kdy zejména leucin se vyznačuje svým stimulačním účinkem na syntézu proteinů, sekreci inzulínu a regeneraci jater (Holeček 2010). Siddik (2019) uvádí, že studie prováděné na lidech a na zvířatech naznačují důležitou roli BCAA při obezitě, diabetes mellitus, srdečních chorobách a dokonce při Alzheimerově chorobě.



Obrázek 6: L-isoleucin (www.sigmaaldrich.com)



Obrázek 7: L-leucin (www.sigmaaldrich.com)

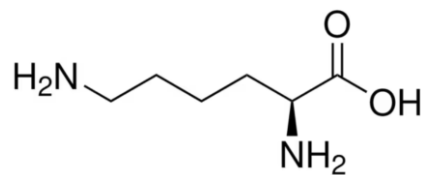


Obrázek 8: L-valin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.1.2. Lysin

Lysin je proteinogenní a ketogenní aminokyselina, která je hojně přítomna zejména v potravinách živočišného původu a v luštěninách. Naopak málo lysinu se vyskytuje v obilovinách, rýži a kukuřici (Holeček 2023). Doporučený denní příjem pro dospělého jedince je 30mg/kg hmotnosti. Hlavní funkcí lysinu je podílet se na syntéze bílkovin. Jeho katabolismus je lokalizován pouze v játrech (Tomé et al. 2007).

Holeček (2023) uvádí, že lysin se využívá jako doplněk stravy při herpetických infekcích, kdy se doporučuje ve formě masti podávat 2-3 g/den. Na druhou stranu Mailoo et al. (2017) tuto skutečnost vyvrací a z jeho studie vyplývá, že lysin se zdá být neúčinný při léčbě oparu.

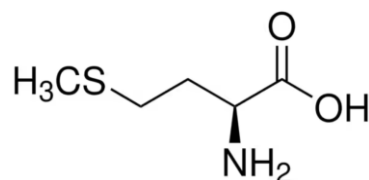


Obrázek 9: L-lysine (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.1.3. Methionin

Methionin patří mezi aminokyseliny, které obsahují síru (Aledo 2019). Vyznačuje se hydrofobností jeho vedlejšího řetězce, což je důvod, proč proteiny s vyšším zastoupením methioninu jsou často ve spojení s lipidy, např. ve struktuře buněčných membrán (Holeček 2023). Zbytky methioninu lze snadno oxidovat na methioninsulfoxid, který může být redukován zpět na methionin za účasti methioninsulfoxidreduktáz (Lim et al. 2019).

Doporučená denní dávka methioninu je 0,5-1,5 g/den (Holeček 2023). Živočišné bílkoviny obsahují 2-4 % methioninu, zatímco rostlinné pouze 1-2 % (Velíšek 2009). Ze živočišných potravin obsahují nejvíce methioninu krůtí prsa (682 mg/100g) a z rostlinných potravin mák (391 mg/100g) (Floriánková et al. 2018). V luštěninách je methionin limitující aminokyselinou (Velíšek 2009), tedy takovou esenciální aminokyselinou, která je v určité bílkovině zastoupena v nejnižším množství, čímž určuje její výživovou hodnotu (Rodwell et al. 2015).



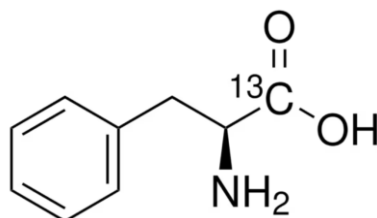
Obrázek 10: L-methionin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.1.4. Fenylalanin

Fenylalanin patří mezi aminokyseliny s aromatickým jádrem, které není lidský organismus schopný syntetizovat, a proto je fenylalanin řazen mezi esenciální aminokyseliny (Holeček 2023). Za účasti enzymu fenylalaninhydroxylázy je fenylalanin metabolizován v játrech na tyrozin (Akram et al. 2020).

Fenylalanin je nepostradatelný pro syntézu proteinů, hormonů štítné žlázy, dopaminu, noradrenalinu, adrenalinu a melaninu (Holeček 2023). Denní potřeba u zdravého člověka, který váží 70 kg, činí 1,8 g fenylalaninu (Koolman et al. 2012).

S fenylalaninem souvisí onemocnění fenylketonurie (PKU). Jedná se o vrozené metabolické onemocnění způsobené nízkou aktivitou či úplnou absencí fenylalaninhydroxylázy (Kuila et al. 2023). Včasná diagnóza je velmi důležitá a z tohoto důvodu se provádí novorozenecký screening (Spronsen et al. 2021). V případě, že se u novorozence potvrdí PKU, je nutné ihned zahájit léčbu, která spočívá v dietním omezení fenylalaninu většinou po celý život jedince (Cleary et al. 2019). Pokud se PKU neléčí, dochází k poškození mozku, mentálnímu postižení, rozvoji epilepsie a poruchám v chování (Spronsen et al. 2021). Holeček (2023) uvádí, že se také zkoumá účinek zvýšeného příjmu tzv. LNAA (Large Neutral Amino Acids), tedy tyrosinu, methioninu, tryptofanu, leucinu, isoleucinu a valinu, které kompetují s fenylalaninem o transport v tenkém střevu a přes hematoencefalickou bariéru.

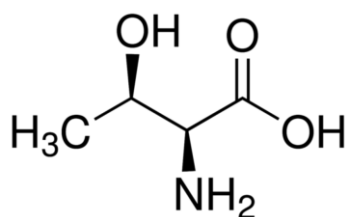


Obrázek 11: L-fenylalanin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.1.5. Threonin

Threonin je polární organická sloučenina, která je velmi důležitá pro lidský organismus (Chetry et al. 2021). Holeček (2023) uvádí, že jeho plasmatická koncentrace se pohybuje okolo 140 $\mu\text{mol/l}$ a denní doporučený příjem je 15 mg/kg hmotnosti. Role threoninu je klíčová při zpomalování procesu stárnutí, posilování imunity a odolnosti těla (Duan et al. 2023). Je přítomen ve vysoké koncentraci v mucinu. Jedná se o glykoprotein přítomný ve slinách a gastrointestinálním traktu, který usnadňuje polykání a ochraňuje žaludeční sliznici před jejím poškozením agresivními látkami (Holeček 2023).

Krom toho je tato esenciální aminokyselina hojně využívána v krmivářském, potravinářském a farmaceutickém průmyslu (Duan et al. 2023). Threonin se spolu s lysinem, methioninem a tryptofapem přidává do krmných směsí hospodářských zvířat.

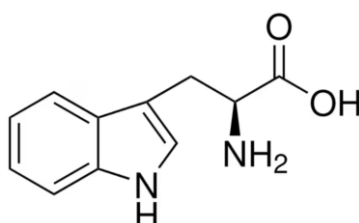


Obrázek 12: L-threonin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.1.6. Tryptofan

Tryptofan byl jako první aminokyselina zařazen mezi esenciální (Comai et al. 2020). Jedná se o aminokyselinu nepostradatelnou pro biosyntézu proteinů (Richard et al. 2009). Po její konzumaci dochází k metabolické přeměně na serotonin, melatonin, tryptamin, niacin, kynurenin a další metabolity, takže má vliv na řadu nemocí u lidí i zvířat (Friedman 2018). Tryptofan je důležitý pro řadu fyziologických procesů jako například fungování neuronů, imunity a homeostázy střev (Comai et al. 2020).

Doporučený denní příjem pro dospělého člověka činí 3,5 – 6 mg/kg tělesné hmotnosti a 12 mg/kg tělesné hmotnosti u novorozenců a dětí (Richard et al. 2009). Mezi hlavní zdroje tryptofanu patří maso, ryby, mléčné výrobky, luštěniny a brambory (Holeček 2023). Průměrný obsah tryptofanu v bílkovinách je 1,1 %. V živočišných výrobcích je obsaženo průměrně 1 – 2 % tryptofanu, ale výjimku představují histony a kolagen, v nichž tryptofan není přítomen vůbec (Velíšek 2009).



Obrázek 13: L-tryptofan (www.sigmaaldrich.com)

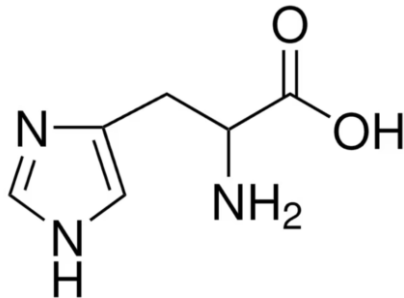
3.6.2.1.7. Histidin

Histidin patří mezi nejméně zastoupené aminokyseliny v bílkovinách v těle u lidí (Brosnan et al. 2020). Avšak vysoký obsah histidinu můžeme pozorovat u hemoproteinů (hemoglobin, myoglobin, cytochromy, hemové peroxidasy, katalasy), histatinů a filaggrinů. Histatiny jsou přítomny ve slinách a jsou významné kvůli svým antibakteriálním a fungicidním vlastnostem. Filaggriny, umožňující agregaci cytokeratinových filament, jsou v kůži (Holeček 2023).

Histidin může být enzymaticky dekarboxylován na histamin za účasti enzymu histidindekarboxylázy (HDC) (Brosnan et al. 2020). Mezi místa, kde dochází k syntéze a ukládání histaminu, patří ECL buňky (enterochromaffin-like cells) v žaludku, histaminergní neurony v mozku a granule žírných buněk a basofilů, z nichž se histamin uvolňuje pomocí

degranulace, která je vyvolána imunitním podnětem, a to především interakcí alergenu s protilátkou typu IgE (Holeček 2023).

Doporučený denní příjem histidinu je 10 mg/kg tělesné hmotnosti (Brosnan et al. 2020). Pro srovnání je možno uvést, že 100 g bílkoviny z hovězího masa obsahuje přibližně 3,7 g histidinu (Wade et al. 1998).



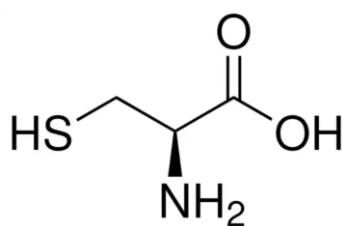
Obrázek 14: L-histidin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2. Podmíněně esenciální aminokyseliny

3.6.2.2.1. Cystein

Cystein je velmi důležitý pro strukturu a funkci proteinů, je významným antioxidantem. Mezi hlavní produkty jeho metabolismu patří cystin, glutathion, taurin, cysteamin a pyruvát. Hlavními kataboly, které jsou vylučovány močí nebo používány pro syntézu látek obsahujících síru, jsou amoniak a sulfáty (Holeček 2023).

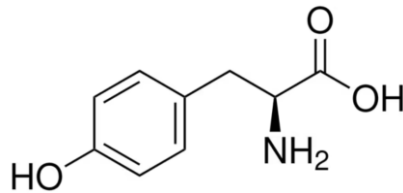
Až 17 % cysteinu je spolu s produktem oxidace cystinem přítomno v keratinech, v menším množství pak v mnoha dalších bílkovinách (1 – 2 %). V organismu mohou z části nahradit esenciální aminokyselinu methionin (Velíšek 2009).



Obrázek 15: L-cystein (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2.2. Tyrosin

Tyrosin je podmíněně esenciální aminokyselina, která je syntetizována z esenciální aminokyseliny fenylalaninu (Holeček 2023). Dle Velíška (2009) doprovází tyrosin ve většině bílkovin fenylalanin.

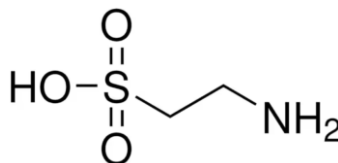


Obrázek 16: L-tyrosin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2.3. Taurin

Taurin je aminokyselina, která obsahuje síru. V plasmě se vyskytuje v koncentraci 55 $\mu\text{mol/l}$ (Holeček 2023). Nachází se ve vysokých koncentracích ve většině buněk, v nichž reguluje základní děje (Schaffer et al. 2018). Taurin představuje v lidském těle asi 0,1 % celkové tělesné hmotnosti. U dospělých jedinců je tato aminokyselina syntetizována v játrech a do určité míry v centrální nervové soustavě (CNS), avšak novorozenci nejsou schopni taurin syntetizovat v dostatečném množství, a proto jsou závislí na příjmu potravy. Z tohoto důvodu je taurin řazen mezi aminokyseliny podmíněně esenciální (Lambert et al. 2014).

Mezi nejznámější funkce taurinu v organismu patří konjugace kyseliny cholové a kyseliny chenodeoxycholové v játrech. Díky negativně nabitě sulfonové skupině taurinu je umožněno solím žlučových kyselin, aby fungovaly jako látky, které snižují povrchové napětí a mohly se tak podílet na tvorbě micel a štěpení lipidů v tenkém střevu. Mezi další významné funkce taurinu patří biotransformace xenobiotik, stabilizace buněčných membrán, transport a intracelulární distribuce vápenatých iontů a ochrana tyčinek a čípků v sítnici oka (Holeček 2023).

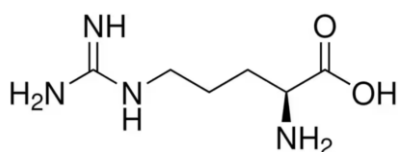


Obrázek 17: L-taurin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2.4. Arginin

Arginin patří mezi podmíněně esenciální aminokyseliny, protože v určitých obdobích, jako je kojenecký věk, těhotenství, snížení imunity či při popáleninách, je nutno zvýšit jeho příjem. Prostřednictvím intestinálně-renální osy je arginin syntetizován z glutaminu, glutamátu a prolinu a hlavní příjem argininu představují aminokyseliny z potravy (Martí I Líndez et al. 2021). Takto přijatý arginin je většinou katabolizován arginázou v enterocytech nebo v játrech (Holeček 2023). V potravinách se vyskytuje ve všech bílkovinách v množství 3-6 %, nejvyšší obsah argininu mají protaminy rybiho mlíčí. Dále také arašídy a jiné olejniny (Velíšek 2009).

V organismu slouží arginin jako prekurzor mnoha biologicky aktivních sloučenin (oxid dusnatý, ornithin, prolin, kreatin, polyamin) (Martí I Líndez et al. 2021) a zároveň jako substrát pro citrullinaci a metylaci (Holeček 2023).

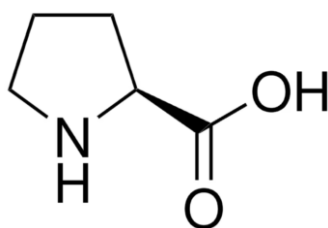


Obrázek 18: L-arginin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2.5. Prolin

Prolin je proteinogenní aminokyselina, která je dostupná jak ze stravy, tak z endogenní syntézy. Má specifickou strukturu, obsahuje pyrrolidinové jádro, ve kterém je postranní řetězec připojen k aminoskupině za vzniku sekundárního aminu (Vettore et al. 2021). Prolin se společně s hydroxyprolinem a glycinem nacházejí v kolagenu. Obsah prolinu v kolagenu je 12 % a jeho koncentrace v krevní plazmě je 170 $\mu\text{mol/l}$ (Holeček 2023).

Prolin je často součástí doplňků stravy, které mají podpořit syntézu kolagenu a jsou proto doporučovány pro podporu pohybového aparátu, zlepšení elasticity kůže a hojení tkáně (Holeček 2023).

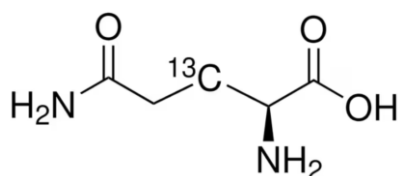


Obrázek 19: L-prolin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.2.6. Glutamin

Glutamin je proteinogenní nejuniverzálnější aminokyselina v těle. Zdravý jedinec, který váží 70 kg má v celém těle distribuováno 70 až 80 gramů glutaminu. Jeho koncentrace v krevní plazmě se pohybuje mezi 500 až 800 $\mu\text{mol/l}$ a v kosterních svalech a v játrech je jeho koncentrace ještě vyšší než v plazmě. V tkáních i plazmě je desetkrát až stokrát vyšší koncentrace glutaminu než koncentrace jakékoliv jiné aminokyseliny, a právě z tohoto důvodu je glutamin považován za nejhojnější aminokyselinu v těle (Cruzat et al. 2018).

Hlavním zdrojem glutaminu pro organismus jsou kosterní svaly, v nichž je syntéza glutaminu aktivována vzestupem hladiny amoniaku (např. u poškození jater), u proteokatabolických stavů (např. sepse, trauma), při fyzické zátěži a při zvýšeném příjmu BCAA. Druhý nejvýznamnější zdroj glutaminu pro organismus je mozek. (Holeček 2023).

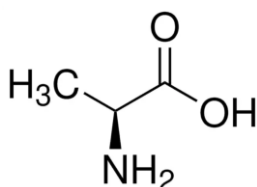


Obrázek 20: L-glutamin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.3. Neesenciální aminokyseliny

3.6.2.3.1. Alanin

Alanin se v organismu vyskytuje ve dvou formách – α -alanin a β -alanin. Četnější výskyt představuje α -alanin, který je běžnou součástí proteinů (4-5 %), je velice významný v udržování hladiny glykemie při lačnění a v prvních dnech hladovění a jeho hlavní zdroje jsou potrava, enterocyty a kosterní svaly. Potrava je taktéž zdrojem β -alaninu, stejně tak degradace uracilu a cytosinu v játrech. Koncentrace α -alanin v krevní plazmě je 330 $\mu\text{mol/l}$, zatímco β -alaninu pouze 4 $\mu\text{mol/l}$.



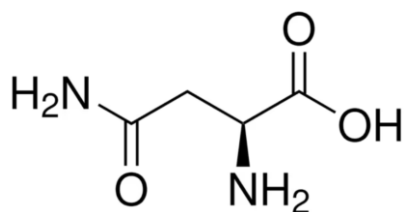
Obrázek 21: L-alanin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.3.2. Asparagin a kyselina asparagová

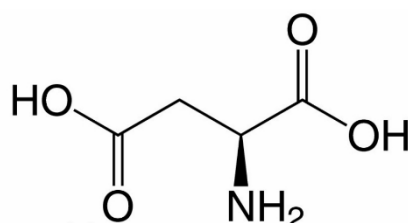
Asparagin a kyselina asparagová jsou glukogenní aminokyseliny, které jsou obsažené v proteinech. Kyselina asparagová se v organismu vyskytuje ve formě své konjugované vazby, nazývané aspartát. Jeho koncentrace v plazmě je 5 $\mu\text{mol/l}$ a koncentrace asparaginu se pohybuje okolo 40 $\mu\text{mol/l}$ (Holeček 2023).

Asparagin, kromě toho, že je přijímán potravou, může být produkován de novo syntézou. Na metabolismu asparaginu se podílejí dva enzymy: asparaginsynthetáza a asparagináza (Yuan et al. 2024). Díky asparaginsynthetáze může asparagin vznikat amidací aspartátu v ATP-dependentní reakci, ve které je zdrojem dusíku amidová skupina glutaminu. Asparagináza zahajuje hydrolýzou katabolismus asparaginu na kyselinu asparagovou (Holeček 2023).

Zdrojem kyseliny asparagové je taktéž potrava, ale zároveň také rozpad endogenních proteinů nebo syntéza transaminací z glutamátu a oxalacetátu a to především v játrech a ve svalech. V organismu má několik důležitých úloh – podílí se na struktuře a syntéze proteinů a urey, společně s glutamátem představuje excitační aminokyselinu v mozku, je prekurzorem purinů a pyrimidinů (Holeček 2023).



Obrázek 22: L-asparagin (www.sigmaaldrich.com)



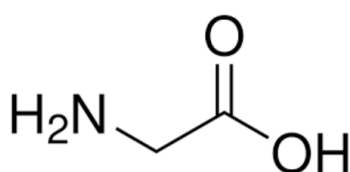
Obrázek 23: Kyselina asparagová (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.3.3. Glycin

Glycin byl v roce 1820 poprvé izolován z kyselých hydrolyzátů bílkovin francouzským chemikem Henrim Braconnotem. Chuť této aminokyseliny je sladká jako glukóza a jeho název byl právě díky jeho sladkosti odvozen z řeckého slova „glykys“. Strukturu glycinu následně stanovil Auguste André Thomas Cahours a to tak, že chemicky syntetizoval glycin z kyseliny monochloroctové a amoniaku (Razak et al. 2017).

Glycin je nejmenší aminokyselina, která jako postranní řetězec obsahuje atom vodíku (Pérez-Torres et al. 2017). Ten glycinu umožňuje integrovat do polypeptidového řetězce jak hydrofilní, tak hydrofobní prostředí. Ačkoliv je glycin obecně řazen mezi neesenciální aminokyseliny, protože může do určité míry být endogenně syntetizován, byl také navržen pro zařazení mezi podmíněně esenciální aminokyseliny. Příjem glycinu v potravě se pohybuje mezi 1,5 a 3 gramy za den. Závisí samozřejmě na tom, jaké množství bílkovin denně přijímáme (Alves et al. 2019).

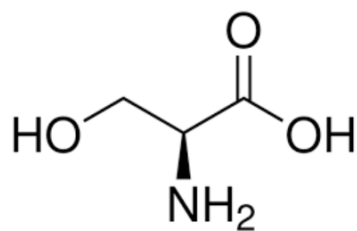
Z celkového obsahu aminokyselin v lidském těle je 11,5 % zastoupeno glycinem a 20 % celkového aminokyselinového dusíku v tělesných bílkovinách je z glycinu (Razak et al. 2017). Zdrojem glycinu je syntéza z threoninu a serinu a z cholinu a hydroxyprolinu. Velmi vysoký obsah glycinu se nachází v kolagenu (30 %) (Holeček 2023), který je nezbytný pro udržení normální struktury a pevnosti pojivových tkání, jako jsou kosti, chrupavky, kůže a krevní cévy (Peng et al. 2018).



Obrázek 24: Glycin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.3.4. Serin

Serin je proteinogenní a glukogenní aminokyselina, která propojuje metabolismus všech živin. Jeho zdrojem je kromě potravy také syntéza z glycinu nebo 3-P-glycerátu, který vzniká při glykolýze a glukoneogenezi. K syntéze serinu z glycinu dochází v ledvinách, které produkují cca. 4 g serinu za den (Holeček 2023). L-serin se u člověka nachází i v mozku, primárně v gliových buňkách a je dodáván do neuronů pro syntézu D-serinu. Jedinci, kteří trpí nedostatkem serinu, vykazují závažné neurologické symptomy jako je psychomotorická retardace, nezvladatelné záchvaty nebo vrozená mikrocefalie, z čehož vyplývá důležitost serinu pro vývoj mozku a morfogenezi (Murtas et al. 2020).

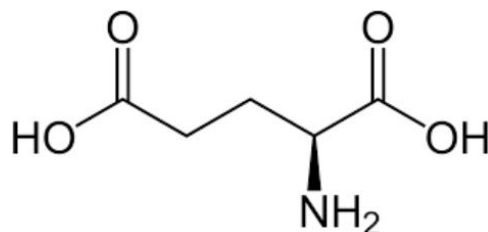


Obrázek 25: L-serin (www.sigmaaldrich.com)

3.6.2.3.5. Kyselina glutamová

Kyselina glutamová, nazývaná také jako glutamát, je neesenciální aminokyselina, která může být syntetizována různými metabolickými cestami. Syntetizuje se z glutaminu, α -ketoglutarátu a 5-oxoprolinu. Kyselina glutamová slouží jako prekurzor pro biosyntézu aminokyselin, jako je prolin a arginin (Yelamanachi et al. 2015).

Průměrný obsah kyseliny glutamové v bílkovinách je 6,2 % (Velíšek 2009). Z potravy lze glutamát získat z hovězího masa, drůbeže, ryb, vajec nebo mléčných výrobků. V podobě glutamanu sodného je kyselina glutamová používána jako dochucovadlo (Kumar et al. 2021). Rostlinné potraviny jsou však také dobrým zdrojem této aminokyseliny. Například v luštěninách a obilovinách je obsažena v množství 18-40 % (Velíšek 2009).



Obrázek 26: Kyselina glutamová (www.sigmaaldrich.com)

4 Metodika

Pro zjišťování zastoupení esenciálních a neesenciálních aminokyselin v rostlinných nápojích byla použita semena ze 4 plodin, a to z čeledi bobovitých, laskavcovitých, konopovitých a brukvovitých. Konkrétně se jednalo o hrách setý (*Pisum sativum*), merlík čilský (*Chenopodium quinoa*), konopí seté (*Canabis sativa*) a brukev řepka olejka (*Brassica napus*). Vzorky se nejprve nechaly nabobtnat, aby šly lépe rozmixovat a došlo tak při ručním lisování k dokonalému oddělení nápoje a výlisku. Následně byly vzorky lyofilizovány za účelem stanovení obsahu aminokyselin.

4.1. Použité vzorky rostlinných nápojů

V následující tabulce jsou uvedeny českým i latinským názvem rostliny, u jejichž semen byla v této diplomové práci zjištěna sušina, výtěžnost a obsah aminokyselin. Zároveň je uveden původ semen, případně obchod, kde byla koupena. A také v jakém roce jejich sběr proběhl.

Tabulka 2: Seznam použitých vzorků

Název česky	Název latinsky	Původ	Rok
Hrách setý	<i>Pisum sativum</i>	ČZU, odrůda ESO	2022
Merlík čilský	<i>Chenopodium quinoa</i>	Obchod Albert (BIO)	2023
Konopí seté	<i>Canabis sativa</i>	Agrotec Šumperk, odrůda Finola	2022
Brukev řepka	<i>Brassica napus</i>	ČZU, odrůda Architect	2022

4.2. Příprava vzorků pro lyofilizaci

Potřeby:

- Mixér NUTRIBULET PRO, typ 900
- Mlynářské plátno (Uhelon 29 S, 100 % polyamin, SILK&PROGRESS s.r.o.)
- Lyofilizátor (Lyovac GT2, Steris, Německo)
- Analytická váha (KERN EW, Kern & Sohn, Německo)

Příprava vzorků:

Bylo naváženo 100 g semen všech zkoumaných plodin, které bylo nutné nejprve propláchnout vodou a tu ihned scedit. Následně byla semena namočena do 300 ml vody, promíchána a ponechána po dobu 3 hodin stát. Po uplynutí této doby bylo do nádoby přidáno dalších 400 ml a semena se nechala přes noc nabobtnat. Druhý den byla semena postupně převedena do mixéru, rozmixována a prolisována přes mlynářské plátno (Uhelon, 100 % polyamid, SILK&PROGRESS s.r.o.). Aby se všechna rozmixovaná hmota dostala z nádoby ven, bylo důležité vypláchnout ji ještě dalšími 400 ml vody. Bylo však zjištěno, že hrách by potřeboval delší dobu na nabobtnání a také více vody při mixování (800 ml). U hrachu navíc po rozmixování zůstal na dně nádoby pevný sediment, který však nebyl do vzorku odebrán. Takto došlo ke získání tekutého nápoje a výlisku.

Z každého vzorku nápoje bylo skleněnou pipetou odebráno 3 x 100 ml do 3 plastových sáčků. Výlisky byly naváženy po 50 g do plastových sáčků, vždy 3 sáčky od jednoho vzorku. Sáčky byly uzavřeny, zamrazeny a poté zlyofilizovány na lyofilizátoru (Lyovac GT2, Steris, Německo). Všechny vzorky byly následně analyzovány ve třech replikátech.

4.3. Příprava vzorků pro LC-ESI-MS/MS

Použité chemikálie:

- Methanol (HPLC grade; Lachner, Česká republika)
- Kyselina chlorovodíková (35% p.a.; Lachner, Česká republika)
- Hydroxid sodný (p.a; Lachner, Česká republika)
- Heptafluoromáselná kyselina (HFBA, $\geq 99,5\%$; Merck, Německo)
- Směsný standard L-aminokyselin pro kyselou hydrolýzu (96%; Merck, Německo)
- Standard L-tryptofanu ($\geq 98,5\%$; Merck, Německo)
- Thiodiglykol ($\geq 99\%$; VWR, Pensylvánie, USA)
- Ultračistá HPLC voda (Merck Millipore, Německo)

Použité přístroje:

- Analytické váhy (KERN EW, Kern & Sohn, Německo)
- Sušárna Venticell BMT (BMT medical technology s.r.o., Česká republika)
- Simplicity UV (Merck Millipore, Německo)
- Kapalinový chromatograf (UltiMate 3000 RS, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) spojený s hmotnostním detektorem typu hybridní trojitý kvadrupól s lineární iontovou pastí (3200 QTRAP, Sciex, Massachusetts, USA)

4.3.1 Kyselá hydrolýza

Kyselá hydrolýza byla použita pro stanovení celkového obsahu aminokyselin. Nejdříve bylo do 15ml uzavíratelných zkumavek z borosilikátového skla na analytických váhách naváženo 0,4 g lyofilizátu, ke kterému bylo přidáno 10 ml 6M kyseliny chlorovodíkové. Zkumavky se uzavřeli víčkem s těsněním a následně byl obsah v nich promíchán.

Po promíchání byly zkumavky hydrolyzovány v sušárně Venticell BMT (BMT medical technology s.r.o., Česká republika) vyhřáté na 110 °C po dobu 24 hodin. Dvě hodiny po vložení zkumavek do sušárny a pět hodin před koncem hydrolýzy bylo potřeba zkumavky opatrně promíchat. Po uplynutí požadované doby byly vzorky ze sušárny vyndány a u zkumavek bylo nutno velmi opatrně povolit víčka a nechat zkumavky vychladnout na pokojovou teplotu.

Vzhledem k zbytečně velkému množství lyofilizátu ve zkumavkách byla změněna hmotnost navážky lyofilizátu, a to z 0,4 g na 0,25 g. U zbylých 27 vzorků bylo tedy naváženo jen 0,25 mg lyofilizátu.

Po vychladnutí byly vzorky kvantitativně pomocí nálevky převedeny do 100ml odměrných baněk se zábrusem a následně byla doplněna destilovaná voda po rysku. Baňky byly uzavřeny víčkem a promíchány.

Následovala filtrace, při které bylo odfiltrováno 40 ml filtrátu do centrifugační zkumavky s víčkem. Nakonec bylo nutné vzorky ještě desetkrát naředit do vialek přes nylonový mikrofiltr tak, že v kádince bylo smícháno 0,5 ml filtrátu s 9 ml destilované vody a poté pomocí stříkačky byl přes nylonový mikrofiltr přefiltrován 1 ml vzorku do skleněné vialky.

4.3.2 Alkalická hydrolýza

Alkalickou hydrolýzu bylo nutno provést pro stanovení tryptofanu, který byl při kyselé hydrolýze zničen. V tomto případě byla ve všech vzorcích navážka lyofilizátu 0,25 g, ke kterým bylo přidáno 10 ml 4,2M hydroxidu sodného. Zkumavky byly zavíčkovány a vloženy na 20 hodin do sušárny vyhřáté na 105 °C. Stejně jako při kyselé hydrolýze bylo nutné zkumavky promíchat dvě hodiny po začátku a pět hodin před koncem hydrolýzy.

Poté byly vzorky ze sušárny vyndány, aby mohla být povolena víčka a aby zkumavky vychladly na pokojovou teplotu. Následně byly vzorky kvantitativně pomocí nálevky převedeny do 100ml odměrných baněk se zábrusem. Bylo přidáno 10 ml 6M kyseliny chlorovodíkové. Po rysku byla doplněna destilovaná voda.

Odměrné baňky se uzavřely víčkem a obsah v nich byl promíchán a poté zfiltrován přes filtrační papír do centrifugačních zkumavek. Z nich byl odebrán do kádinky 1 ml filtrátu, k němuž byl přidán 1 ml destilované vody. Pomocí stříkačky byl z kádinky odebrán 1 ml vzorku a přes nylonový mikrofiltr přefiltrován do skleněných vialek.

4.4 Analýza aminokyselin ve vzorcích

Takto připravené vzorky byly zanalyzovány metodou LC-ESI-MS/MS. K analýze byl použit kapalinový chromatograf (UltiMate 3000 RS, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) spojený s hmotnostním detektorem typu hybridní trojitý kvadrupól s lineární iontovou pastí (3200 QTRAP, Sciex, Massachusetts, USA).

Separace jednotlivých aminokyselin v podmínkách RP-HPLC byla provedena pomocí iontově párové chromatografie. Jako iontově párové činidlo byla do mobilní fáze přidána kyselina heptafluoromáselná (HFBA).

Chromatografie byla provedena na chromatografické koloně: ZORBAX SB-C18, 3.0 × 150 mm, 5 μm (Agilent, Kalifornie, USA) a podmínky separace byly následující: teplota kolony: 25 °C; teplota autosampleru: 10 °C; mobilní fáze: 5 mM HFBA ve vodě (A), 5 mM HFBA v methanolu (B), gradientová eluce: 0-0,5 min 20 % B izokraticky, 0,5-9 min 60 % B lineární gradient,

9-10 min 60 % B izokraticky, 10-11 min 20 % B lineární gradient, 11-15 min 20 % B izokraticky; čas analýzy: 15 min; průtok: 0,3 ml/min; objem nástřiku 3 µl.

Podmínky ve zdroji detektoru byly: ionizace: ESI pozitivní mód; ochranný plyn: 25 psig; napětí zdroje: 5500 V; teplota: 600 °C; zmlžovací plyn: 55 psig; turboplyn: 50 psig.

Všechny detekční parametry jednotlivých aminokyselin včetně retenčních časů a limitů detekce jsou uvedeny v tabulce 3.

Kvantifikace jednotlivých aminokyselin byla provedena metodou externí kalibrace. Ze směsného standardu aminokyselin byla vytvořena kalibrační křivka v rozmezí 0,5-100 nM/ml každé aminokyseliny. Detekční limity (LOD; tabulka 3) byly vypočteny ze vztahu signál/šum = 3.

Tabulka 3: Identifikace a detekce parametrů analyzovaných aminokyselin

Analyt	t _R [min]	[M+H] ⁺ [m/z]	Produktový iont* [m/z]	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	LOD [ng/ml]
L-Serin	3,21	106,2	60,1 (Q)	35,0	8,0	15,0	2,0	13
			88,3 ©	35,0	8,0	13,0	2,5	
Glycin	3,32	76,0	76,0 (Q)	25,0	4,0	5,0	2,0	38
L-asparagová kyselina	3,17	134,1	88,1 (Q)	35,0	7,0	14,9	2,5	11
			74,1 ©	35,0	7,0	19,0	2,5	
L-glutamová kyselina	3,59	148,1	130,1 (Q)	15,0	6,0	15,0	2,0	18
			102,0 ©	15,0	6,0	15,0	2,0	
L-Alanin	3,79	90,0	44,0 (Q)	25,0	4,0	16,0	2,5	12
L-Cystin	3,75	241,2	120,1 (Q)	45,0	5,0	22,0	2,5	20
			152,1 ©	45,0	5,0	17,0	2,5	
L-Prolin	3,52	116,1	70,0 (Q)	25,0	4,3	20,0	2,2	7
L-Valin	6,64	118,1	72,2 (Q)	30,0	9,0	30,0	2,2	10
			55,0 ©	30,0	9,0	30,0	2,0	
L-Tyrosin	7,40	182,1	136,1 (Q)	18,0	4,0	17,0	2,4	22
			165,0 ©	18,0	4,0	17,0	2,4	
L-Methionin	7,01	150,1	133,0 (Q)	15,0	4,0	14,0	2,0	18
			56,0 ©	15,0	4,0	26,0	2,0	
L-Histidin	6,02	156,1	110,2 (Q)	35,0	9,0	19,0	2,0	19
L-Lysin	7,02	147,3	84,3 (Q)	35,0	8,0	23,0	2,5	35
			130,1 ©	35,0	8,0	13,0	2,5	
L-Arginin	7,32	175,2	70,2 (Q)	35,0	9,0	40,0	2,5	23

			116,1 ©	35,0	9,0	20,0	2,5	
L-Isoleucin	8,89	132,0	86,0 (Q)	20,0	4,0	18,0	2,3	20
			91,0 ©	34,0	4,0	25,0	2,3	
L-Leucin	9,27	132,2	86,2 (Q)	30,0	8,0	14,0	2,5	20
L-Threonin	9,71	120,1	103,1 (Q)	35,0	7,0	13,0	2,0	17
			77,1 ©	35,0	7,0	13,0	2,0	
L-Fenylalanin	9,72	166,0	120,0 (Q)	20,0	3,0	20,0	2,2	14
			103,0 ©	20,0	3,0	20,0	2,2	
L-Tryptofan	10,52	205,0	188,0 (Q)	18,0	3,0	14,0	2,8	15
			146,0 ©	19,0	3,0	20,0	2,8	

**Produktové ionty: (Q) přechod použitý pro kvantifikaci; © přechod použitý pro potvrzení identity; DP: deklasterační potenciál; EP: vstupní potenciál do cely; CE: kolizní energie; CXP: výstupní potenciál z cely*

5 Výsledky

5.1. Stanovení výtěžnosti a obsahu sušiny v rostlinných nápojích a výliscích

Výtěžnost nápoje ze semen:

Nápoje byly vyrobeny podle jednotné receptury. Bylo použito stejné množství semen a vody, ale výtěžnost nápoje byla velmi odlišná. Jak je vidět v tabulce 4 nejvyšší podíl nápoje byl získán z konopí (83,5 %), poté z quinoi (80,8 %) a nejméně nápoje bylo z hrachu (73,7 %) a řepky (73,7 %).

Tabulka 4: Množství získaného nápoje a výlisku

Skupina plodin	Semena	Množství nápoje (g)	Množství výlisku (g)	Podíl nápoje (%)
Olejnina	konopí	780	154	83,5
Obilnina	quinoa	617	147	80,8
Luskovina	hrách	676	241	73,7
Olejnina	řepka	649	232	73,7

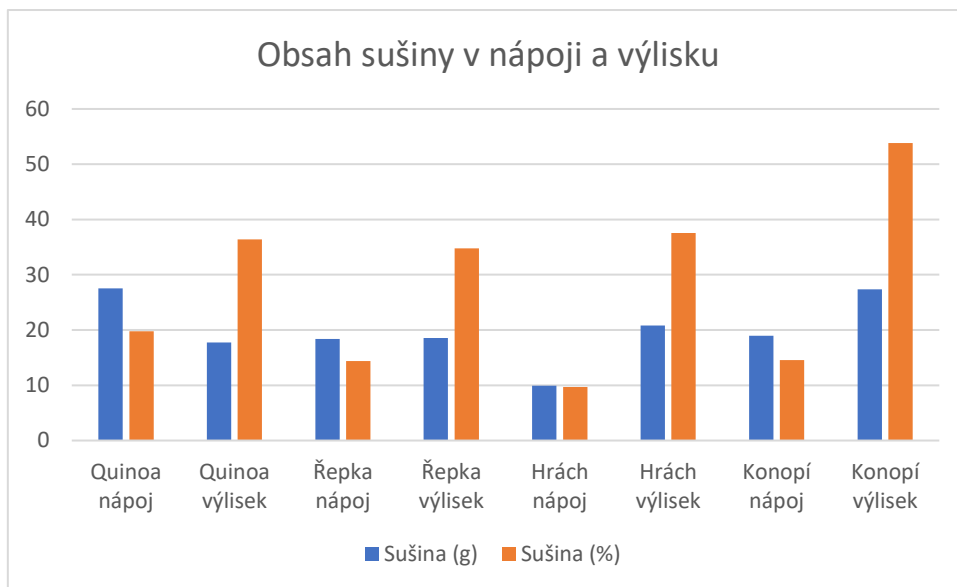
Sušina nápojů a výlisků:

Po lyofilizaci vzorků byl stanoven pomocí gravimetrie obsah sušiny jak u nápojů, tak u výlisků. Stanovení sušiny proběhlo u všech 3 opakováních každého vzorku a následně byl vytvořen vždy průměr z těchto tří hodnot.

V následující tabulce (tabulka 5) jsou uvedeny průměrné hodnoty obsahů sušiny v gramech i v procentech. Pro lepší přehlednost byl vytvořen také graf. Nejvíce sušiny obsahoval konopný výlisek (53,85 %) a naopak nejméně hrachový nápoj (9,69 %).

Tabulka 5: Obsah sušiny

Název	Sušina (g)	Sušina (%)
Quinoa nápoj	27,53	19,8
Quinoa výlisek	17,75	36,42
Řepka nápoj	18,37	14,36
Řepka výlisek	18,58	34,76
Hrách nápoj	9,91	9,69
Hrách výlisek	20,8	37,54
Konopí nápoj	18,94	14,58
Konopí výlisek	27,34	53,85



Graf 1: Obsah sušiny v nápoji a výlisku

5.2. Stanovení celkového obsahu aminokyselin v rostlinných nápojích a výliscích

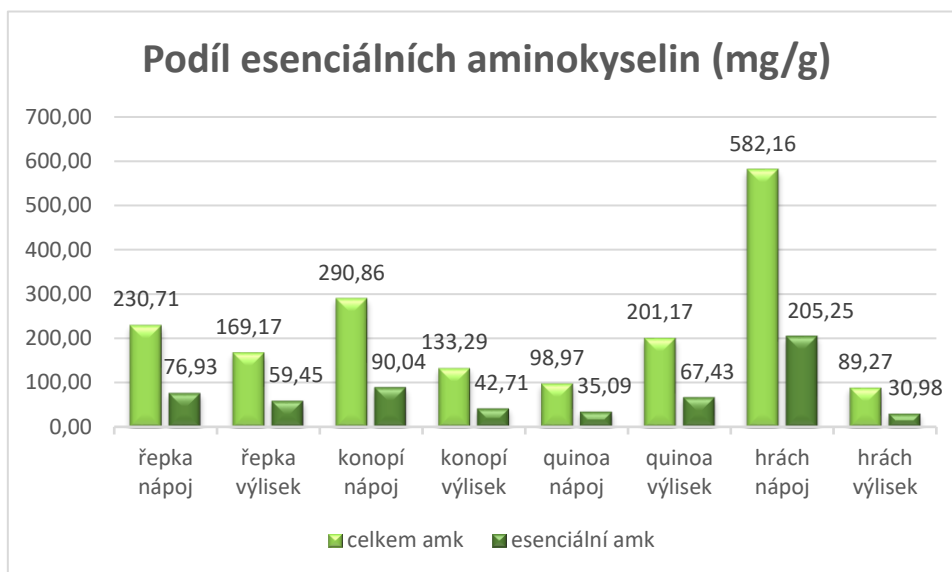
Obsah aminokyselin byl stanoven u následujících vzorků: hrách nápoj, hrách výlisek, quinoa nápoj, quinoa výlisek, konopí nápoj, konopí výlisek, řepka nápoj a řepka výlisek.

Výsledky, kterých bylo dosaženo, jsou uvedeny v tabulce 6, ze které vyplývá, že celkový obsah aminokyselin se pohyboval v rozmezí od 89,27 mg/g sušiny do 582,16 mg/g sušiny, kdy hrachový nápoj byl ze všech vzorků nejvíce bohatý na aminokyseliny. Naopak v hrachovém výlisku bylo zastoupení aminokyselin nejnižší. Celkově nejméně zastoupený ve vzorcích byl methionin a nejvíce se pak ve vzorcích vyskytoval glutamin spolu s kyselinou glutamovou.

Tabulka 6: Stanovený obsah aminokyselin (mg/g sušiny)

Vzorek	Hrách nápoj	Hrách výlisek	Quinoa nápoj	Quinoa výlisek	Konopí nápoj	Konopí výlisek	Řepka nápoj	Řepka výlisek	Průměr
His	16,45	3,46	4,25	8,01	9,89	5,11	9,51	6,87	7,94
Phe	29,99	4,75	4,88	10,02	12,96	7,39	10,24	7,24	10,93
Arg	41,71	5,56	8,51	20,70	34,68	13,18	17,46	12,01	19,23
Tyr	20,97	2,21	2,30	5,51	9,10	2,80	6,93	4,75	6,82
Cystin	27,81	2,96	1,45	3,67	6,05	3,24	6,24	5,38	7,10
Ala	23,91	5,01	4,93	8,87	11,19	5,66	10,48	7,33	9,67
Ser	24,31	4,76	5,02	9,44	15,19	7,55	11,44	8,89	10,83
Pro	21,68	4,12	4,72	9,11	11,15	6,21	14,65	14,25	10,74
Val	31,15	4,64	5,99	10,78	15,52	7,32	13,36	10,59	12,42
Thr	20,53	3,15	2,91	6,63	9,15	4,71	6,77	5,05	7,36
Leu	39,52	7,00	7,26	14,53	19,36	10,16	17,61	13,14	16,07
Asp+Asn	77,11	10,30	9,99	18,69	30,72	15,54	20,11	11,33	24,22
Lys	48,13	6,73	7,16	13,07	13,41	5,97	15,26	13,63	15,42
Gly	29,25	4,27	5,87	13,42	12,19	7,02	12,60	9,07	11,71
Glu+Gln	93,70	15,63	16,83	36,32	60,65	24,27	44,35	29,83	40,20
Ile	27,21	4,03	4,58	8,80	11,55	5,51	9,89	7,32	9,86
Met	5,06	0,04	1,05	1,59	5,06	0,44	1,56	0,59	1,92
Trp	3,66	0,64	1,25	2,00	3,03	1,21	2,26	1,88	1,99
Celkem	582,16	89,27	98,97	201,17	290,86	133,29	230,71	169,17	224,45

Z grafu 2, který znázorňuje obsah aminokyselin ve vzorcích, vyplývá, že u všech zkoumaných vzorků převažují neesenciální aminokyseliny, tedy ty, které si tělo dokáže syntetizovat samo a není tedy nutné je tolik dodávat do těla potravou. Velmi důležité však je přijímat z potravy aminokyseliny esenciální. Jak naznačuje graf 2, hrách se řadí mezi potraviny bohaté na esenciální i neesenciální aminokyseliny. Z tabulky 7 pak vyplývá, že u všech 4 plodin esenciální aminokyseliny tvoří zhruba 1/3. Podíl esenciálních aminokyselin je sice konstantní, nicméně množství jednotlivých aminokyselin je různé a jak je vidět na grafu 2 hrachový nápoj má výrazně vyšší obsah esenciálních aminokyselin.



Graf 2: Podíl esenciálních aminokyselin

Tabulka 7: Zastoupení esenciální aminokyselin (%)

Název	Procentuální zastoupení esenciálních AMK
Řepka nápoj	33 %
Řepka výlisek	35 %
Konopí nápoj	31 %
Konopí výlisek	32 %
Quinoa nápoj	35 %
Quinoa výlisek	34 %
Hrách nápoj	35 %
Hrách výlisek	35 %

5.3. Ověření hypotézy „Do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, většina zůstává ve výlisku“

Hypotéza byla ověřena pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu (**tabulka 8**), kdy závisle proměnnou byl obsah aminokyselin, faktory působící na obsah aminokyselin byly zdroj (nápoj/výlisek) a druh aminokyseliny. Byla použita hladina významnosti 0,05.

Tabulka 8: Dvoufaktorová analýza rozptylu

Efekt	Dvoufaktorová analýza rozptylu				
	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměr čtverců	F	p
Abs. Člen	22389,97	1	22389,97	219,4791	<0,001
AMK	10608,69	17	624,04	6,1172	<0,001
Zdroj	2582,39	1	2582,39	25,3141	<0,001
Chyba	12751,77	125	102,01		

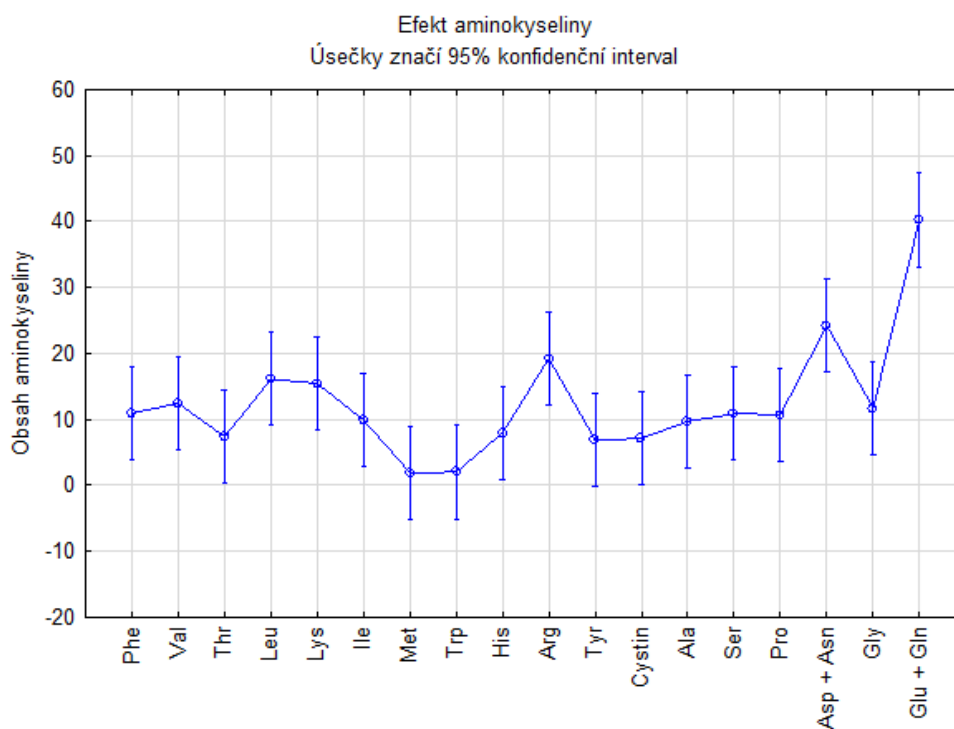
Dle výsledku je vidět, že na obsah aminokyselin má vliv jak druh aminokyseliny ($p < 0,05$), tak zdroj aminokyseliny ($p < 0,01$). Obsah aminokyselin v nápojích a výliscích se tedy staticky významně liší. Stejně tak se významně liší i obsah některých konkrétních aminokyselin ve výliscích a nápojích. Následující tabulka (**tabulka 9**) post-hoc testu znázorňuje, které aminokyseliny se v obsahu významně liší.

Tabulka 9: Post-hoc test

AMK	Phe	Val	Thr	Leu	Lys	Ile	Met	Trp	His	Arg	Tyr	Cystin	Ala	Ser	Pro	Asp + Asn	Gly	Glu + Gln
Phe	-																	
Val		-																
Thr			-															
Leu				-														
Lys					-													
Ile						-												
Met							-											
Trp								-										
His									-									
Arg										-								
Tyr											-							
Cystin												-						
Ala													-					
Ser														-				
Pro															-			
Asp + Asn																-		
Gly																	-	
Glu + Gln	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

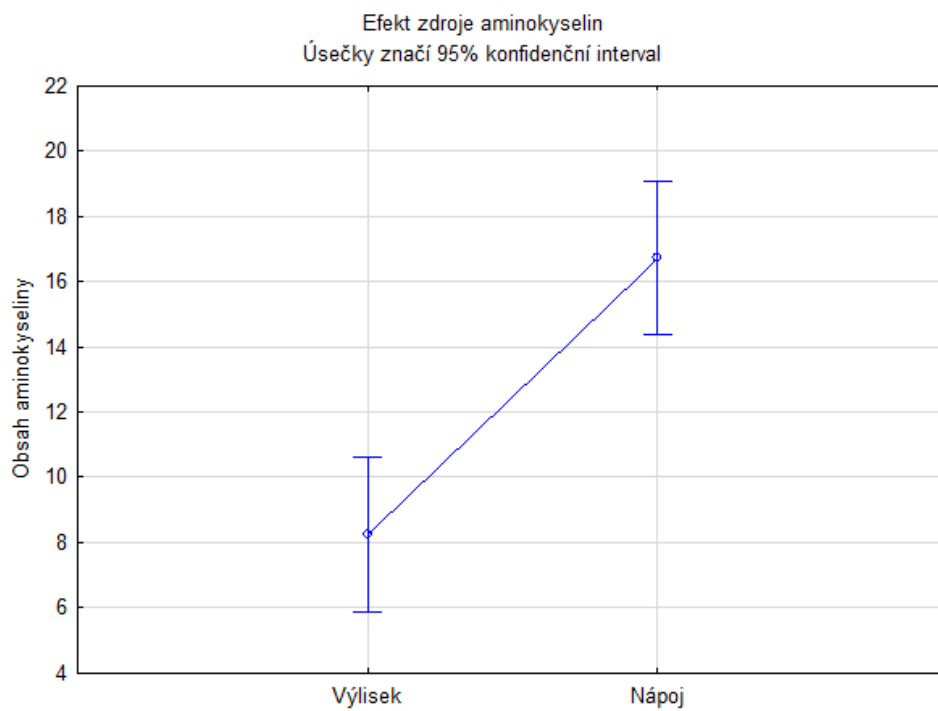
*** významné na 1% hladině významnosti

Z tabulky se dozvídáme, že obsah glutaminu a kyseliny glutamové se statisticky významně liší od obsahu všech ostatních aminokyselin. Na následujícím grafu (**graf 3**) průměrů s konfidenčními intervaly je vidět, že glutamin a kyselina glutamová je jak v nápojích, tak ve výliscích obsažena nejvíce. Obsah asparaginu a kyseliny asparagové je v nápojích i výliscích významně větší, než obsah methioninu a tryptofanu.



Graf 3: Obsah aminokyselin ve výliscích a nápojích

Následující graf (**graf 4**) poukazuje na rozdíl obsahu aminokyselin ve výliscích a nápojích. Je zřejmé, že statisticky významně více aminokyselin obsahují nápoje.



Graf 4: Rozdíl obsahu aminokyselin ve výliscích a nápojích

Tato hypotéza, že do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, většina zůstává ve výlisku, se nepotvrdila.

5.4. Ověření hypotézy „Největší množství esenciálních aminokyselin se nachází v quinoi“

Hypotéza byla ověřena pomocí analýzy rozptylu (**tabulka 10**) a to zvláště pro výlisek a zvláště pro nápoj (**tabulka 11**). Závisle proměnnou byl obsah esenciálních aminokyselin a faktorem byl druh rostliny. Byla použita hladina významnosti 0,05.

Tabulka 10: Analýza rozptylu pro výlisek

Proměnná	Analýza rozptylu							
	Podmínka: Aminokyselina="Esenciální" a Zdroj="Výlisek"							
	SČ efektu	SV efektu	PČ efektu	SČ chyby	SV chyby	PČ chyby	F	p
Obsah kyseliny	100,98	3	33,66	440,81	28	15,74	2,138	0,118

SČ: součet čtverců, SV: stupně volnosti, PČ: průměr čtverců

Tabulka 11: Analýza rozptylu pro nápoj

Proměnná	Analýza rozptylu							
	Podmínka: Aminokyselina="Esenciální" and Tekutina="Nápoj"							
	SČ efektu	SV efektu	PČ efektu	SČ chyby	SV chyby	PČ chyby	F	p
Obsah kyseliny	1988,58	3	662,86	2164,44	28	77,30	8,575	<0,001

SČ: součet čtverců, SV: stupně volnosti, PČ: průměr čtverců

Statisticky významné rozdíly byly potvrzeny u nápojů. Obsah aminokyselin ve výliscích jednotlivých rostlin se statisticky významně neliší ($p > 0,05$). Obsah aminokyselin v nápojích jednotlivých rostlin se statisticky významně liší ($p < 0,05$).

Hypotéza, že největší množství esenciálních aminokyselin se nachází v quinoi, se nepotvrdila.

Pomocí následujících post-hoc testů bylo zjištěno, které rostliny se v obsahu esenciálních aminokyselin statisticky významně liší.

5.5. Ověření hypotézy „Největší množství aminokyselin je v hrachu“

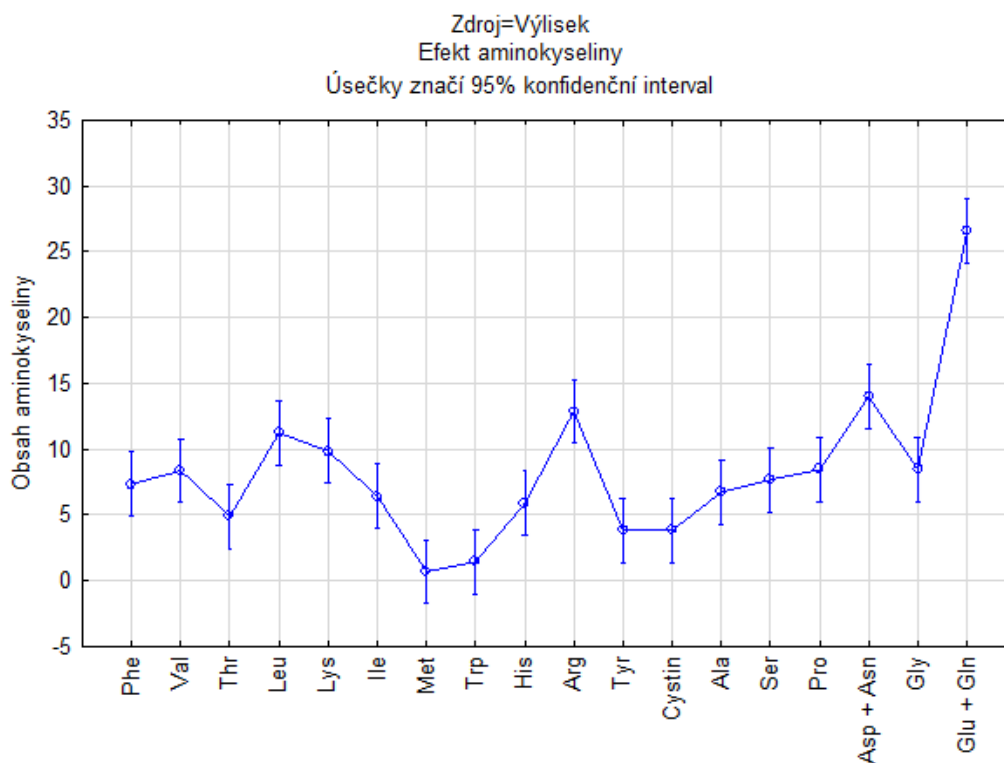
Hypotéza, která porovnává druhy rostlin z hlediska obsahu aminokyselin, byla ověřena pomocí analýzy rozptylu a to zvlášť pro výlisek (**tabulka 12**) a zvlášť pro nápoj (**tabulka 13**). Závisle proměnnou byl obsah aminokyselin a faktorem druh rostliny (zdroj) a druh aminokyseliny. Byla použita hladina významnosti 0,05.

Výsledky pro výlisky:

Tabulka 12: Dvoufaktorová analýza rozptylu pro výlisek

Efekt	Dvoufaktorová analýza rozptylu - Výlisek				
	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměr čtverců	F	p
Abs. člen	4882,25	1	4882,25	837,02	<0,001
AMK	2264,76	17	133,22	22,84	<0,001
Vzorek	385,62	3	128,54	22,04	<0,001
Chyba	297,48	51	5,83		

Obsah aminokyselin koresponduje s výsledky první hypotézy. Výlisky obsahují nejvíce glutaminu a kyseliny glutamové. Toto tvrzení potvrzuje i následující graf (**graf 5**).



Graf 5: Obsah aminokyseliny ve výlisku

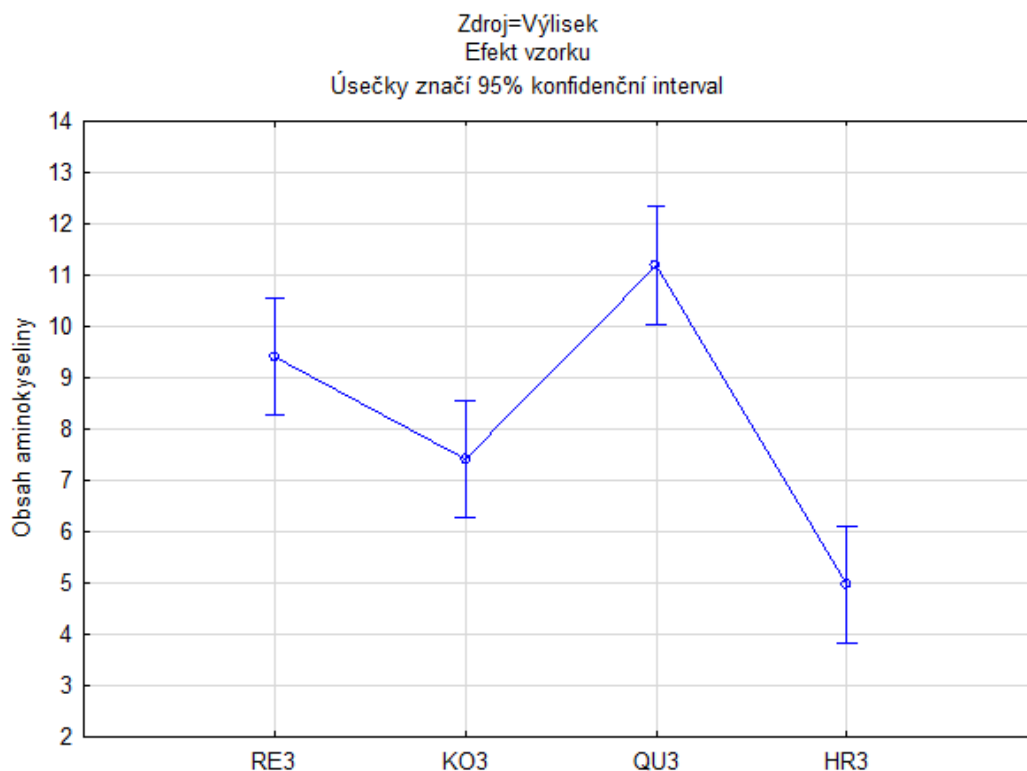
Pomocí post-hoc testů (**tabulka 13**) bylo zjištěno, které výlisky rostlin se v obsahu aminokyselin liší. V hrachovém výlisku je statisticky významně méně aminokyselin než ve výliscích z ostatních rostlin. Quinoa obsahuje statisticky významně více aminokyselin ve výlisku, než konopí a hrách. To potvrzuje také graf (**graf 6**).

Tabulka 13: Tukeyův HSD test

Zdroj=Výlisek				
Tukeyův HSD test; Proměnná Obsah aminokyseliny				
Vzorek	RE3	KO3	QU3	HR3
RE3	-			
KO3		-		
QU3		***	-	
HR3	***	**	***	-

*** významné na 1% hladině významnosti,

** významné na 5% hladině významnosti



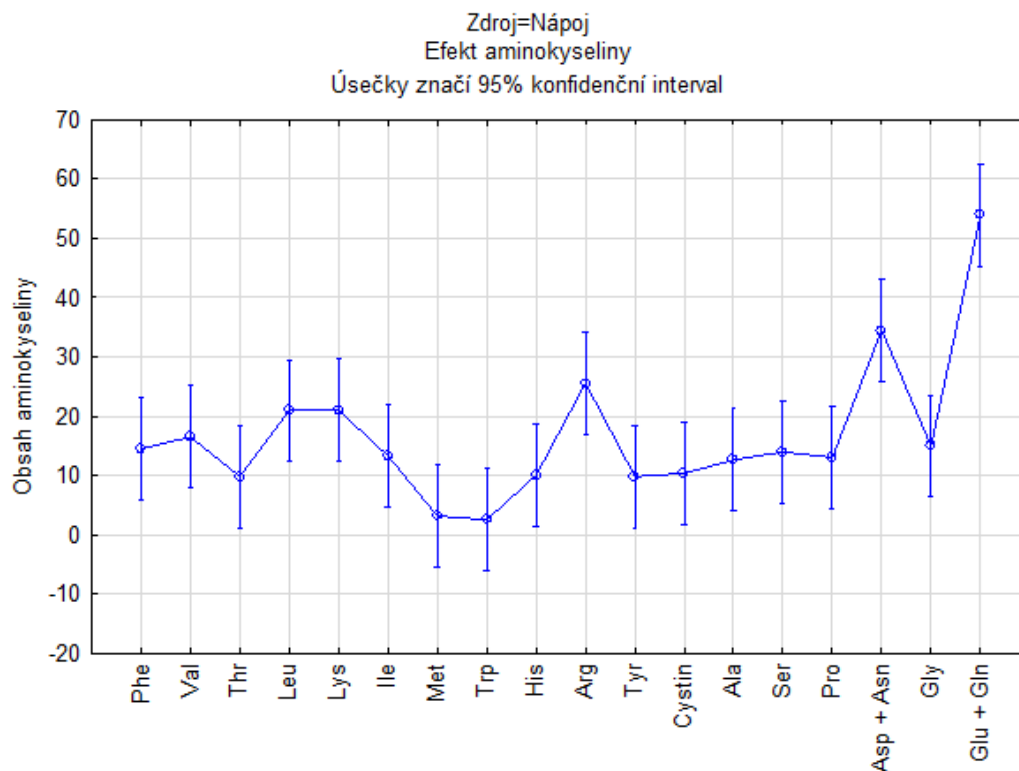
Graf 6: Obsah aminokyselin ve výliscích

Výsledky pro nápoje:

Tabulka 14: Dvoufaktorová analýza rozptylu pro nápoj

Efekt	Dvoufaktorová analýza rozptylu - Nápoj				
	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměr čtverců	F	p
Abs. člen	20090,11	1	20090,11	273,743	<0,001
AMK	9730,25	17	572,37	7,799	<0,001
Vzorek	6939,44	3	2313,15	31,518	<0,001
Chyba	3742,90	51	73,39		

Z tabulky 14 vyplývá, že obsah aminokyselin opět koresponduje s výsledky první hypotézy. Výlisky obsahují nejvíce glutaminu a kyseliny glutamové, což je vidět také na následujícím grafu (graf 7).



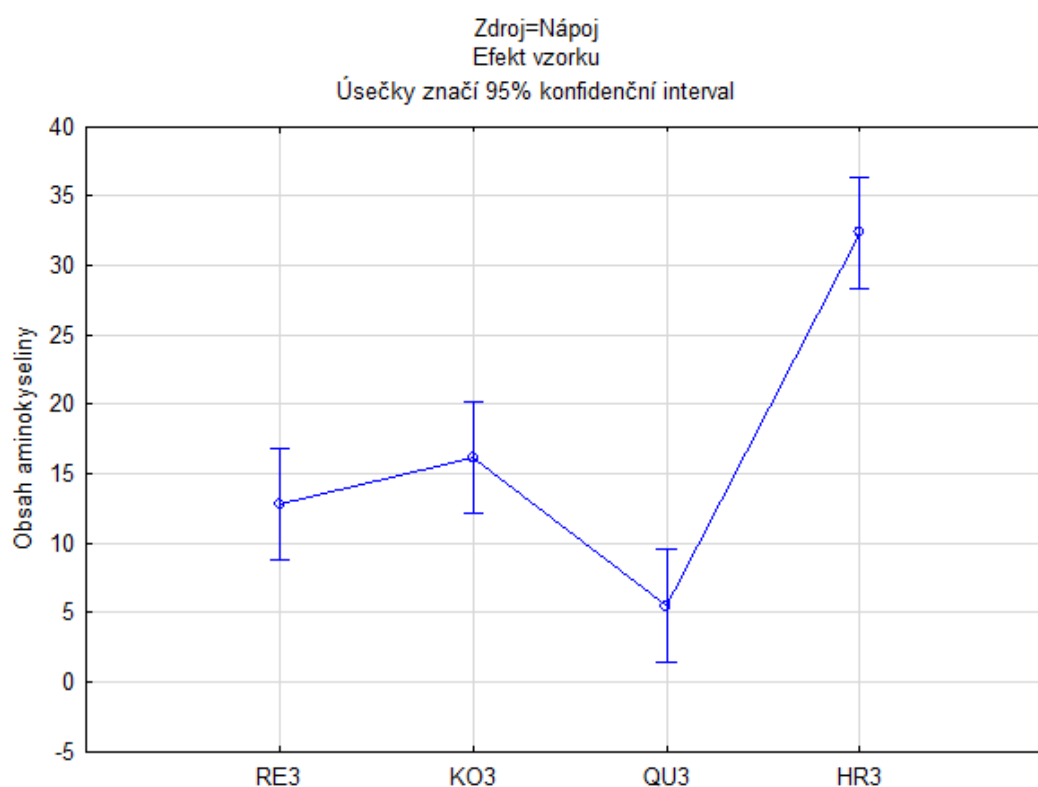
Graf 7: Obsah aminokyseliny v nápojích

Pomocí post-hoc testů (**tabulka 15**) bylo zjištěno, které nápoje rostlin se v obsahu aminokyselin liší.

Tabulka 15: Tukeyův HSD test

Zdroj=Nápoj Tukeyův HSD test; Proměnná Obsah kyseliny				
Vzorek	RE3	KO3	QU3	HR3
RE3	-			
KO3		-		
QU3		***	-	
HR3	***	***	***	-

Hrách obsahuje v nápoji statisticky významně více aminokyselin než nápoje z ostatních rostlin. Quinoa obsahuje v nápoji statisticky významně méně aminokyselin, než nápoj z konopí a hrachu. To lze pozorovat také na následujícím grafu (**graf 8**).



Graf 8: Obsah aminokyselin v nápojích

Hypotéza se tedy potvrdila u nápoje, zatímco u výlisku nikoliv.

5.6. Ekonomické zhodnocení domácí výroby rostlinného nápoje ve srovnání s běžně dostupnými produkty na trhu

Ze všech semen byla jednotným postupem získána 25% koncentrace nápoje. Nákupní cena každé suroviny a výtěžnost nápoje se liší. Následující tabulka udává pořizovací cenu suroviny a výtěžnost nápoje. U quinoi se jedná o cenu pro koncového zákazníka, zatímco u ostatních semen se jedná o výkupní cenu od pěstitele (vč. DPH).

Tabulka 16: Cena 25% nápoje (Kč/kg)

Semena	Zdroj (popř. odrůda)	Cena za kg (Kč)	Množství nápoje (g) z 1 kg semen	Cena 25% nápoje (Kč/kg)
Konopí	Agritec Šumperk (Finola)	100	835	119,76
Quinoa	Arkády Albert (BIO)	250	808	309,40
Hrách	ČZU (Eso)	7	737	9,49
Řepka	ČZU (Architect)	10	737	13,56

O výsledné ceně nápoje při dané koncentraci rozhoduje nákupní cena suroviny a zároveň také výtěžnost. Nejdraž vyšel nápoj získaný z quinoi a to v přepočtu na úrovni 250 Kč za 1 kg nápoje. Je nutné však poznamenat, že semena merlíku čilského byla pořízena v běžného obchodu, kde je jeho cena výrazně vyšší. Naopak nelevněji se dá získat nápoj z hrachu a řepky.

Aby byl nápoj na trhu prodejný, byla stanovena výrobní cena surového nápoje na 20 Kč za 1 litr (resp. za 1 kg). Než se produkt dostane ke konečnému spotřebiteli, dochází ještě k jeho dochucení, úpravě z hlediska trvanlivosti a balení do koncového obalu, čímž vznikají další náklady. V následující tabulce jsou vypočítány koncentrace nápojů tak, aby mohly být na trhu prodávány za 20 Kč/kg.

Tabulka 17: Koncentrace nápoje při ceně 20 Kč

Semena	Zdroj (popř. odrůda)	Cena 25% nápoje (Kč/kg)	Vypočítaná koncentrace tak, aby cena 1 kg nápoje byla 20 Kč
Konopí	Agritec Šumperk (Finola)	119,76	4,2 %
Quinoa	Arkády Albert (BIO)	309,40	1,6 %
Hrách	ČZU (Eso)	9,49	52,7 %
Řepka	ČZU (Architect)	13,56	36,9 %

Obchodní řetězce nabízí velké množství značek i druhů rostlinných nápojů, ale pořizovací cena každé suroviny a výtěžnost je rozdílná. Koncová cena rostlinného nápoje na trhu se však nemůže odvíjet podle ceny suroviny. Zákazníci by za rostlinný nápoj s vyšší koncentrací nezaplatili, protože cena by byla příliš vysoká. Z tohoto důvodu se u dražších surovin setkáváme s nižšími koncentracemi semen v nápoji.

Z tabulky 16 jasně vyplývá, že nápoje vyrobené z dražších surovin musí mít menší podíl semen. Ceny surovin jsou však pouze orientační a můžeme se setkat i s cenami nižšími, vždy záleží na prodejci.

Jako plodina budoucnosti by byla jednoznačně vhodná řepka a nápoj z ní vyrobený. Důvodem je její nízká cena a zároveň také snadný zdroj leucinu a isoleucinu. Vzhledem k tomu, že chuť řepkového nápoje není sama o sobě pro spotřebitele moc atraktivní, bylo by vhodné nápoj ještě upravit a dochutit nebo v něm rozmíchávat fitness práškové směsi.

6 Diskuze

Předmětem praktické části bylo stanovení sušiny a výtěžnosti rostlinných nápojů vyrobených v domácích podmínkách z hrachu setého, merlíku čilského, konopí setého a brukve řepky a zároveň v nich byl stanoven také obsah aminokyselin, který může být v rostlinných zdrojích ovlivněn různými faktory.

Z výsledků této diplomové práce stanovených pomocí LC-ESI-MS/MS vyplývá, že ze všech testovaných rostlinných nápojů obsahoval nejvyšší množství aminokyselin nápoj z hrachu (*Pisum sativum*), konkrétně 58,22 g/100g sušiny. Dle mých výsledků byla nejvíce zastoupena v hrachovém nápoji aminokyselina glutamin s kyselinou glutamovou (9,37 g/100g). V případě procentuálního vyjádření představoval glutamin s kyselinou glutamovou 16 % ze všech aminokyselin, kyselina asparagová 13 % a nejméně obsažen v hrachovém nápoji byl tryptofan (1 %).

Clifford Hall et al. (2016) publikuje, že vzorek hrachu obsahoval v největším množství kyselinu glutamovou (17 %) a kyselinu asparagovou (12 %). Naopak nejnižší obsah v hrachu dle Hall et al. představovala esenciální aminokyselina tryptofan (1 %). V porovnání s výsledky, které vyšly mně, se obsah kyseliny glutamové a kyseliny asparagové ve vzorcích liší pouze o 1 %, zatímco obsah tryptofanu je totožný.

Ve studii z roku 2010, kterou publikoval Pownall et al., byl zjišťován obsah jednotlivých aminokyselin v izolátu hrachového proteinu. Jedná se o přírodní proteinový prášek, který je velmi populární díky své nízké alergicitě, vysoké nutriční hodnotě, dobré dostupnosti a nízké ceně (Lam et al. 2016). V největším množství byla v hrachovém izolátu obsažena opět kyselina glutamová s glutaminem (16 %) a kyselina asparagová (12 %). Stejně jako u předchozí studie byl nejméně zastoupenou aminokyselinou tryptofan (1 %) a zároveň cystein (1 %). Výsledky těchto dvou studií byly tedy velmi podobné, co se složení aminokyselin týče a shodovaly se s výsledky v mé diplomové práci.

Další plodina, která byla v rámci této práce studována, je merlík čilský. Ve výlisku byla v největším množství zjištěna kyselina glutamová s glutaminem (18 %), arginin (10 %) a kyselina asparagová (9 %). Nejméně zastoupenými aminokyselinami ve výlisku byly methionin (1 %) a tryptofan (1 %).

Escuredo et al. (2014) ve své práci, která představuje stanovení 12 aminokyselin (arginin, cystin, isoleucin, leucin, lysin, fenylalanin, prolin, serin, threonin, tryptofan, tyrosin, valin) ve vysušených semenech merlíku čilského, uvádí, že quinoa je považována za jeden z nejlepších zdrojů proteinů. Při stanovení aminokyselin bylo dosaženo následujících výsledků: v největším množství byla v merlíku čilském zastoupena kyselina glutamová (20 %) a threonin (15 %). Následovala kyselina asparagová (10 %), glycin (7 %) a arginin (7 %). Zbýlé aminokyseliny

(alanin, cystin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, prolin, serin, tryptofan, tyrosin, valin) byly ve vysušených semenech merlíku čilského v množství pod 5 %.

Výsledky této studie jsou velmi podobné těm, které vyšly mně. Pouze u threoninu a argininu jsou pozorovány větší rozdíly. Dle výsledků v mé práci threonin tvoří v quinoovém výlisku pouhé 3 %, zatímco u studie, publikované v roce 2014 Escuredem et al., představuje threonin 15 % z celkového množství aminokyselin. Escuredo et al. uvádí, že z celkového množství aminokyselin tvoří arginin 7 %, zatímco mně obsah argininu ve výlisku z merlíku čilského vyšel 10 %. Rozdíl mezi výsledky může být způsoben odlišnými metodami, které byly ke stanovení použity. Escuredo et al. stanovil aminokyseliny pomocí infračervené spektroskopie s přímou aplikací na vzorky vzdálené vláknové optické odrazné sondy. Já jsem pro stanovení aminokyselin využila kapalinový chromatograf spojený s hmotnostním detektorem typu hybridní trojitý kvadrupól s lineární iontovou pastí.

Wang et al. provedl v roce 2008 stanovení aminokyselin v konopné mouce, která byla získána namletím semen z konopí setého a bylo zjištěno, že mouka z konopí je bohatá na kyselinu glutamovou (18 %), kyselinu asparagovou (10 %), arginin (10 %) a leucin (7 %). Stejně jako u hrachového izolátu bylo v konopné mouce obsažena nejméně aminokyselina cystein (1 %).

Procentuální zastoupení kyseliny glutamové v konopném výlisku, zjištěné při mém stanovení aminokyselin, bylo 18 %. Jak bylo již zmíněno, Wang et al. při svém stanovení aminokyselin došel ke stejnému číslu. Téměř totožné je i zastoupení ostatních aminokyselin – kyseliny asparagové (9 %), argininu (10 %) i leucinu (7 %). Taktéž cystein se v obou případech vyskytl na posledním místě.

Poslední plodinou, která je v této práci studována, je brukev řepka. Nejvíce zastoupenou aminokyselinou v nápoji (19 %) i ve výlisku (30 %) byla opět kyselina glutamová s glutaminem. Dále také kyselina asparagová s asparaginem (8 % a 7 %), leucin (8 % a 8 %) a arginin (8 % a 7 %).

Ve studii, kterou v roce 2020 provedl Kalaydzhiev et al., byl zjištěn obsah jednotlivých aminokyselin v řepkovém semeni. Obsah kyseliny glutamové byl nižší, než bylo zjištěno při výzkumu této diplomové práce. Konkrétně v řepkovém semeni bylo obsaženo 19 % kyseliny glutamové z celkového obsahu aminokyselin, 7 % alaninu, argininu i lysinu. Naopak nejméně zastoupenou aminokyselinou byl methionin (1 %) a leucin (1 %).

V tomto případě se výsledné hodnoty zjištěné v mé diplomové práci výrazně liší od těch, které publikoval v roce 2020 Kalaydzhiev et al.. Důvodem může být odlišný postup při přípravě vzorků, který Kalaydzhiev zvolil. Na rozdíl ode mě nejprve semena ošetřil ethanolem a postupně extrahoval vodou, 5% chloridem sodným, 70% ethanolem a hydroxidem sodným. Každá frakční extrakce byla opakována třikrát a to při teplotě 23 °C po dobu 30 minut a za

stálého míchání. Další vyhodnocení bylo provedeno pomocí elektroforézy na dodecylsulfátu sodném a polyakrylamidovém gelu.

Závěrem lze říci, že výsledky této diplomové práce jsou koherentní s uvedenými literárními zdroji.

7 Závěr

V rámci této diplomové práce byly stanoveny 3 vědecké hypotézy, které byly na základě stanovení aminokyselin metodou LC-ESI-MS/MS vyhodnoceny:

- ❖ **Hypotéza č. 1** – do nápoje se ze semen vylouží méně aminokyselin, většina zůstává ve výlisku – byla vyvrácena.
- ❖ **Hypotéza č. 2** – největší počet esenciálních aminokyselin se nachází v quinoi – byla vyvrácena.
- ❖ **Hypotéza č. 3** – největší množství aminokyselin je v hrachu – byla splněna, avšak pouze za podmínky, že byl myšlen pouze hrachový nápoj. Ten skutečně obsahuje velké množství aminokyselin, a to jak esenciálních, tak neesenciálních. Největší zastoupení tvoří kyselina glutamová a glutamin (93,70 mg/g sušiny) a hned za nimi se umístila kyselina asparagová spolu s asparaginem (77,11 mg/g sušiny). Tyto čtyři aminokyseliny se řadí mezi esenciální, tedy ty, které je nutno přijímat v potravě, protože tělo si je nedokáže samo vytvořit. Výlisek z hrachu na tom s obsahem aminokyselin tak skvěle, jako nápoj, není. Obsahuje pouze 30,98 mg/g sušiny esenciálních aminokyselin a 58,28 mg/g sušiny neesenciálních aminokyselin. Na prvním a druhém místě se vyskytly stejné aminokyseliny jako u hrachového nápoje, tedy kyselina asparagová, asparagin, kyselina glutamová a glutamin.

U každé plodiny byla zjištěna jiná výtěžnost nápoje. Nejméně nápoje se podařilo získat z hrachu a řepky. Naopak největší množství nápoje bylo získáno z konopí. Výtěžnost nápoje ze semen spolu s cenou suroviny je důležitým ekonomickým aspektem výroby nápoje.

Mnohem větší rozdíly mezi plodinami jsou u celkového obsahu aminokyselin v nápoji. Největší množství aminokyselin v nápoji bylo naměřeno u hrachu. Obecně je možné konstatovat, že luskoviny obsahují více bílkovin. Olejninu obsahují menší množství esenciálních aminokyselin a obilniny ještě méně. Právě u quinoi, která je považována za obilninu, byl zjištěn nejnižší obsah aminokyselin. Když vezmeme v úvahu, že pořizovací cena semen quinoi je poměrně vysoká, lze učinit závěr, že tuto plodinu není vhodné využívat na výrobu nápoje, protože spotřebitel by si tento produkt kvůli vysoké ceně pravděpodobně nekoupil.

U výlisků je podíl esenciálních aminokyselin na celkové množství aminokyselin podobný, ale rozdílné je množství aminokyselin, které zůstávají ve výlisku po získání nápoje. Hrách má ve výlisku, na rozdíl od nápoje, nejméně aminokyselin.

Ve všech získaných rostlinných nápojích se nejvíce vyskytuje aminokyselina arginin spolu s leucinem. Nejméně zastoupený je pak methionin a tryptofan.

Řepka je velmi levná, ale její chuť je hořká až trpká a není tak jisté, jestli nejsou v nápoji obsaženy některé antinutriční látky. Bylo by vhodné řepkový nápoj podrobit ještě dalšími zkoumáním či úpravě chuti. Je možné, že budoucnost patří právě řepkovému nápoji či vylisku, který ve vyšší koncentraci bude mít zajímavé obsahy nutričních látek a aminokyselin a jehož výroba vyjde velice levně. Řepkový nápoj, ale i semeno může být poměrně snadný zdroj leucinu a isoleucinu pro rekreační sportovce.

Pro výrobu nápoje z hlediska aminokyselin lze dle naměřených výsledků považovat za perspektivní také konopný nápoj, který je navíc velmi chutný.

8 Literatura

1. ALEDO, Juan C., 2019. Methionine in proteins: The Cinderella of the proteinogenic amino acids. Online. Protein science. Vol. 28, no. 10, p. 1785–1796. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pro.3698>. [cit. 2024-02-18].
2. ALLEN, Lindsay; BENOIST, Bruno de; DARY, Omar a HURRELL, Richard (ed.), 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. Online, PDF. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISBN: 92-4-159401-2. Dostupné z: http://www.unscn.org/layout/modules/resources/files/fortification_eng.pdf. [cit. 2024-01-09].
3. ALLEN, Toni, 2024. Where in the World is Cannabis Legal? Online. In: THCAffiliates.com. Poslední aktualizace: 24. března 2024. Dostupné z: <https://thcaffiliates.com/legal-status-maps/>. [cit. 2024-03-28].
4. ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E. K. a GALLAGHER, E., 2009. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. Online. International Journal of Food Sciences and Nutrition. Vol. 60, no. 4, p. 240–257. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09637480902950597>. [cit. 2024-03-12].
5. ALVES, Anaïs; BASSOT, Arthur; BULTEAU, Anne-Laure; PIROLA, Luciano a MORIO, Béatrice, 2019. Glycine metabolism and its alterations in obesity and metabolic diseases. Online. Nutrients. Vol. 11, no. 6, article 1356. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/n11061356>. [cit. 2024-04-01].
6. BESZTERDA, Monika a NOGALA-KALUCKA, Małgorzata, 2019. Current research developments on the processing and improvement of the nutritional quality of rapeseed (*Brassica napus* L.). Online. European journal of lipid science and technology. Vol. 121, no. 5, article 1800045. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800045>. [cit. 2024-02-13].
7. BRANT, Václav et al., 2017. Alternativní využití luskovin (3) – hrách setý a rolní jako zdroj biomasy. Online. In: Agromanual.cz. Poslední aktualizace: 26. dubna 2017. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/technologie/alternativni-vyuziti-luskovin-3-hrach-sety-a-rolni-jako-zdroj-biomasy>. [cit. 2023-03-12].
8. BROSANAN, John T. a BROSANAN, Margaret E., 2006. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. Online. The Journal of Nutrition. Vol. 136, no. 1, p. 207S–211S. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jn/136.1.207S>. [cit. 2024-02-10].
9. BROSANAN, Margaret E. a BROSANAN, John T., 2020. Histidine Metabolism and Function. Online. The Journal of Nutrition. Vol. 150, suppl. 1, p. 2570S–2575S. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa079>. [cit. 2024-03-28].
10. ÇALIŞIR, Sedat; MARAKOĞLU, Tamer; ÖĞÜT, Hüseyin a ÖZTÜRK, Özden, 2005. Physical properties of rapeseed (*Brassica napus oleifera* L.). Online. Journal of Food Engineering. Vol. 69, no. 1, p. 61–66. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.07.010>. [cit. 2024-03-15].

11. CLEARY, Maureen Anne a SKEATH, Rachel, 2019. Phenylketonuria. Online. Paediatrics and Child Health. Vol. 29, no. 3, p. 111–115. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.paed.2019.01.001>. [cit. 2024-02-20].
12. COMAI, Stefano; BERTAZZO, Antonella; BRUGHERA, Martina a CROTTI, Sara, 2020. Chapter Five - Tryptophan in health and disease. Online. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 95, p. 165–218. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.08.005>. [cit. 2024-03-28].
13. COUNTRYLIFE, 2019. 7+7 o žlutém a zeleném hrachu. Online. In: Countrylife.cz. Poslední aktualizace: 12. listopadu 2019. Dostupné z: <https://www.countrylife.cz/zeleny-a-zluty-hrach-7-7>. [cit. 2023-03-12].
14. CRUZAT, Vinicius; ROGERO, Marcelo Macedo; KEANE, Kevin Noel; CURI, Rui a NEWSHOLME, Philip, 2018. Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation. Online. Nutrients. Vol. 10, no. 11, article 1564. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/n10111564>. [cit. 2024-03-29].
15. DEVI, Jyoti; SANWAL, Satish K.; KOLEY, Tanmay Kumar; MISHRA, Gyan P.; KARMAKAR, P. et al., 2019. Variations in the total phenolics and antioxidant activities among garden pea (*Pisum sativum* L.) genotypes differing for maturity duration, seed and flower traits and their association with the yield. Online. Scientia Horticulturae. Vol. 244, p. 141–150. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.048>. [cit. 2024-02-03].
16. DIMOU, Aikaterini; TSIMIHODIMOS, Vasilis a BAIRAKTARI, Eleni, 2022. The Critical Role of the Branched Chain Amino Acids (BCAAs) Catabolism-Regulating Enzymes, Branched-Chain Aminotransferase (BCAT) and Branched-Chain α -Keto Acid Dehydrogenase (BCKD), in Human Pathophysiology. Online. International Journal of Molecular Sciences. Vol. 23, no. 7, article 4022. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms23074022>. [cit. 2024-02-18].
17. DUAN, Min; CHEN, Shuo; LIU, Xinli; LIU, Jianhang a ZHU, Deqiang, 2023 The Application of *Corynebacterium glutamicum* in L-Threonine Biosynthesis. Online. Fermentation. Vol. 9, no. 9, article 822. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation9090822>. [cit. 2024-03-28].
18. ELSOHLY, Mahmoud A; RADWAN, Mohamed M; GUL, Waseem; CHANDRA, Suman a GALAL, Ahmed, 2017. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. Online. Phytocannabinoids. Vol. 103, p. 1–36. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_1. [cit. 2024-02-20].
19. FLORIÁNKOVÁ, M.; BLÁHOVÁ, Š.; PENCOVÁ, M.; HONZÍK, T. a JEŠINA P., 2018. Nutriční terapie u pacientů s dědičnými poruchami metabolismu. Online, PDF. Česko-slovenská pediatrie. Roč. 73, č. 6, s. 395–407. Dostupné z: <https://ulbld.lf1.cuni.cz/file/3642/dedicne-metabolicke-poruchy-nutricni-aspekty.pdf>. [cit. 2024-02-20].

20. FRIEDMAN, Mendel, 2018. Analysis, Nutrition, and Health Benefits of Tryptophan. Online. International Journal of Tryptophan Research. Vol. 11. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1178646918802282>. [cit. 2024-03-28].
21. GE, Jiao; SUN, Cui-Xia; CORKE, Harold; GUL, Khalid; GAN, Ren-You et al., 2020. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives. Online. Comprehensive reviews in food science and food safety. Vol. 19, no. 4, p. 1835–1876. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12573>. [cit. 2024-02-03].
22. Hajer, Jan, 2015. Konopí – léčba budoucnosti? Online. Vnitřní lékařství. Roč. 61, č. 7–8, s. 680–685. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2015-7-8/konopi-lecba-budoucnosti-55723>. [cit. 2024-03-13].
23. HÅKANSSON, Niklas, 2018. Finns det koppling mellan tillskott av BCAA/grenade aminosyror (leucin, isoleucin och valin) och förbättrad fysisk prestation?: En litteraturstudie. Online, PDF, bakalářská práce. Växjö: Linného univerzita, Fakultta zdravotnictví a přírodních věd, Ústav chemie a biomedicínských věd. Dostupné z: <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1257639/FULLTEXT01.pdf>. [cit. 2024-02-08].
24. HALL, Clifford; HILLEN, Cassandra a ROBINSON, Julie Garden, 2016. Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. Online. Cereal chemistry. Vol. 94, no. 1, p. 11–31. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0069-FI>. [cit. 2024-04-13].
25. HARA, Patryk; PIEKUTOWSKA, Magdalena a NIEDBAŁA, Gniewko, 2023. Prediction of Protein Content in Pea (*Pisum sativum* L.) Seeds Using Artificial Neural Networks. Online. Agriculture. Vol. 13, no. 1, article 29. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agriculture13010029>. [cit. 2024-01-09].
26. HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca, 2019. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as source of bioactive compounds: a review. Online. Bioactive Compounds in Health and Disease. Vol. 2, no. 3, p. 27–47. Dostupné z: <https://doi.org/10.31989/bchd.v2i3.556>. [cit. 2024-03-15].
27. HOLEČEK, Milan, 2010. Three targets of branched-chain amino acid supplementation in the treatment of liver disease. Nutrition. Vol. 26, no. 5, p. 482–490. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.06.027>. [cit. 2024-02-11].
28. HOLEČEK, Milan, 2023. Aminokyseliny: fyziologie, patofyziologie a jako doplněk stravy. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-3655-1.
29. HOOD-NIEFER, Shannon D.; WARKENTIN, Thomas D.; CHIBBAR, Ravindra N.; VANDENBERG, Albert a TYLER, Robert T., 2012. Effect of genotype and environment on the concentrations of starch and protein in, and the physicochemical properties of starch from, field pea and fababean. Online. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 92, no. 1, p. 141–150. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4552>. [cit. 2024-01-09].

30. HORÁČKOVÁ, Šárka et al., 2017. Porovnání rostlinných nápojů a kravského mléka z výživového a senzorického hlediska. Online, PDF. Mlékářské listy. Roč. 28, č. 5, s. 4–8. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2017/veda_164_s.4-9.pdf. [cit. 2024-01-04].
31. CHEN, Can; NAVEED, Hassan a CHEN, Keping, 2023. Research progress on branched-chain amino acid aminotransferases. Online. *Frontiers in Genetics*. Vol. 14. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1233669>. [cit. 2024-02-10].
32. CHETRY, Neelam a DEVI, Th. Gomti, 2021. Intermolecular interaction study of L-Threonine in polar aprotic Solvent: Experimental and theoretical study. Online. *Journal of Molecular Liquids*. Vol. 338, article 116689. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116689>. [cit. 2024-03-28].
33. KACZOROVÁ, Dominika; BÉRESA, Tibor; ZELJKOVIĆA, Sanja Čavar; BJELKOVÁD, Marie; KUCHAR, Martin et al., 2020. O konopí bez předsudků. Online. *Chemické listy* Roč. 114, č. 4, s. 277–284. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3586/3532>. [cit. 2024-02-20].
34. KALAYDZHIEV, Hristo; IVANOVA, Petya; STOYANOVA, Magdalena; PAVLOV, Atanas; RUSTAD, Turid et al., 2020. Valorization of Rapeseed Meal: Influence of Ethanol Antinutrients Removal on Protein Extractability, Amino Acid Composition and Fractional Profile. Online. *Waste and Biomass Valorization*. Vol. 11, no. 6, p. 2709–2719. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12649-018-00553-1>. [cit. 2024-04-13].
35. KALIDAS, C. a SANGARANARAYANAN, M. V., 2023. *Biophysical Chemistry*. Online, PDF. Cham: Springer. ISBN 978-3-031-37682-5. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-031-37682-5_5. [cit. 2024-01-04].
36. KAUR, Harleen; SHAMS, Rafeeya; DASH, Kshirod Kumar a DAR, Aamir Hussain, 2023. A comprehensive review of pseudo-cereals: Nutritional profile, phytochemicals constituents and potential health promoting benefits. Online. *Applied Food Research*. Vol. 3, no. 2, article 100351. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100351>. [cit. 2024-03-17].
37. KOOLMAN, Jan a RÖHM, Klaus-Heinrich, 2012. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2977-0.
38. KUILA, Soumen; DEY, Sukantha; SINGH, Pijush; SHRIVASTAVAA, Akash a NANDA, Jayanta, 2023. Phenylalanine-based fibrillar systems. Online. *Chemical Communications*. Vol. 59, no. 98, p. 14509–14523. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D3CC04138G>. [cit. 2024-02-20].
39. KUMAR, Pooja; KRAAL, A. Zarina; PRAWDZIK, Andreas M.; RINGOLD, Allison E. a ELLINGROD, Vicki, 2021. Dietary Glutamic Acid, Obesity, and Depressive Symptoms in Patients With Schizophrenia. Online. *Frontiers in Psychiatry*. Vol. 11, article 620097. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.620097>. [cit. 2024-04-13].
40. LAM, A. C. Y.; KARACA, A. Can; TYLER, R. T. a NICKERSON, M. T., 2018. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. Online. *Food Reviews International*.

- Vol. 34, no. 2, p. 126–147. Dostupné z:
<https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>. [cit. 2024-04-13].
41. LAMBERT, I. H.; KRISTENSEN, D. M.; HOLM, J. B. a MORTENSEN, O. H., 2014. Physiological role of taurine – from organism to organelle. Online. *Acta Physiologica*. Vol. 213, no. 1, p. 191–212. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/apha.12365>. [cit. 2024-03-29].
42. LANDA, Leoš et al., 2020. *Léčebné konopí v současné medicínské praxi*. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-3967-0.
43. LI, Ying; FINE, Frédéric; FABIANO-TIXIER, Anne-Sylvie; ABERT-VIAN, Maryline; CARRE, Patrick et al., 2014. Evaluation of alternative solvents for improvement of oil extraction from rapeseeds. Online. *Comptes Rendus*. Vol. 17, no. 3, p. 242–251. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2013.09.002>. [cit. 2024-03-15].
44. ESCUREDO, Olga; GONZÁLEZ MARTÍN, Immaculada; MONCADA, Guillermo-Wells; FISCHER, Susana; HERNÁNDEZ HIERRO, José Miguel, 2014. Amino acid profile of the quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) using near infrared spectroscopy and chemometric techniques. Online. *Journal of Cereal Science*. Vol. 60, no. 1, p. 67–74. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.016>. [cit. 2024-02-20].
45. LIM, Jung Mi; KIM, Geumsoo a LEVINE, Rodney L., 2019. Methionine in Proteins: It's Not Just for Protein Initiation Anymore. Online. *Neurochemical Research*. Vol. 44, no. 1, p. 247–257. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007%2Fs11064-017-2460-0>. [cit. 2024-02-20].
46. LOPEZ, Michael J. a MOHIUDDIN, Shamim S., 2024. *Biochemistry, Essential Amino Acids*. Online. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/>. [cit. 2024-02-08].
47. MAGAGNINI, Gianmaria; GRASSI, Gianpaolo a KOTIRANTA, Stiina, 2018. The Effect of Light Spectrum on the Morphology and Cannabinoid Content of Cannabis sativa L. Online. *Medical Cannabis and Cannabinoids*. Vol. 1, no. 1, p. 19–27. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000489030>. [cit. 2024-03-13].
48. MARTÍ I LÍNDEZ, Adrià-Arnau a REITH, Walter, 2021. Arginine-dependent immune responses. Online. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Vol. 78, no. 13, p. 5303–5324. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007%2Fs00018-021-03828-4>. [cit. 2024-03-29].
49. MOO-YOUNG, Murray (ed.), 2011. *Comprehensive Biotechnology*. 2nd ed. Oxford: Elsevier Science Publishers. ISBN 978-0-08-088504-9.
50. MORALES, Diego; MIGUEL, Marta a GARCÉS-RIMON, Marta, 2021. Pseudocereals: A novel source of biologically active peptides. Online. *Critical reviews in food science and nutrition*. Vol. 61, no. 9, p. 1537–1544. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761774>. [cit. 2024-03-17].
51. MURTAS, Giulia; MARCONE, Giorgia Letizia; SACCHI, Silvia a POLLEGIONI, Loredano, 2020. L-serine synthesis via the phosphorylated pathway in humans. Online. *Cellular*

- and Molecular Life Sciences. Vol. 77, no. 24, p. 5131–5148. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03574-z>. [cit. 2024-04-02].
52. NOWAK, Verena; DU, Juan a CHARRONDIERE, U. Ruth, 2016. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Online. Food chemistry. Vol. 193, p. 47–54. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.111>. [cit. 2024-03-15].
53. ORGERON, Manda L.; STONE, Kirsten P.; WANDERS, Desiree; CORTEZ, Cory C.; VAN, Nancy T. et al., 2014. The Impact of Dietary Methionine Restriction on Biomarkers of Metabolic Health. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2014. Vol. 121, p. 351–376. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800101-1.00011-9>. [cit. 2024-02-03].
54. Peng, Han a Shahidi, Fereidoon, 2021. Cannabis and cannabis edibles: a review. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 69, no. 6, p. 1751–1774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07472>. [cit. 2024-03-13].
55. PENG, Li a GUOYAO, Wu, 2018. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. Online. *Amino acids*. Vol. 50, no. 1, p. 29–38. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2490-6>. [cit. 2024-04-02].
56. PÉREZ-TORRES, Israel; ZUNIGA-MUNOZ, Alejandra María a GUARNER-LANS, Veronica, 2017. Beneficial effects of the amino acid glycine. Online. *Mini reviews in medicinal chemistry*. Vol. 17, no. 1, p. 15–32. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1389557516666160609081602>. [cit. 2024-03-29].
57. POPOVA, Aneta; MIHAYLOVA, Dasha a LANTE, Anna, 2023. Insights and Perspectives on Plant-Based Beverages. Online. *Plants*. Vol. 12, no. 19, article 3345. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants12193345>. [cit. 2024-01-04].
58. POWNALL, Trisha L.; UDENIGWE, Chibuiké C. a ALUKO, Rotimi, 2010. Amino acid composition and Antioxidant Properties of Pea Seed (*Pisum sativum* L.) Enzymatic Protein Hydrolysate Fractions. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 58, no. 8, p. 4712–4718. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf904456r>. [cit. 2024-03-13].
59. RABOANATAHIRY, Nadia; LI, Huaixin; YU, Longjiang a LI, Maoteng, 2021. Rapeseed (*Brassica napus*): Processing, utilization, and genetic improvement. Online. *Agronomy*. Vol. 11, no. 9, article 1776. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agronomy11091776>. [cit. 2024-03-28].
60. RAGHUNATHAN, R.; HOOVER, R.; WADUGE, R.; LIU, Q. a WARKENTIN, T. D., 2017. Impact of molecular structure on the physicochemical properties of starches isolated from different field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars grown in Saskatchewan, Canada. Online. *Food Chemistry*. Vol. 221, p. 1514–1521. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.142>. [cit. 2024-01-09].
61. RAZAK, Meerza Abdul; BEGUM, Pathan Shajahan; VISWANATH, Buddolla a RAJAGOPAL, Senthilkumar, 2017. Multifarious beneficial effect of nonessential amino acid, glycine: a review. Online. *Oxidative medicine and cellular longevity*. Vol. 2017,

- article 1716701. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155%2F2017%2F1716701>. [cit. 2024-04-01].
62. RICHARD, Dawn M.; DAWES, Michael A.; MATHIAS, Charles W.; ACHESON, Ashley; HILL-KAPTURCZAK, Nathalie et al., 2009. L-Tryptophan: Basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. Online. *International Journal of Tryptophan Research*. Vol. 2, p. 45–60. Dostupné z: <https://doi.org/10.4137/IJTR.S2129>. [cit. 2024-03-29].
63. RODWELL, Victor; BENDER, David; BOTHAM, Kathleen M.; KENNELLY, Peter J. a WEIL, P. Anthony, 2015. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 30. vyd. B.m.: McGraw-Hill Education. ISBN 978-0-07-182534-4.
64. ROY, F., BOYE, J. I. a SIMPSON, B. K., 2010. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: pea, chickpea and lentil. Online. *Food Research International*. Vol. 43, no. 2, p. 432–442. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>. [cit. 2024-02-03].
65. RUNGRUANGMAITREE, Runchana; JIRAUNGKOORSKUL, Wannee, 2017. Pea, *Pisum sativum*, and Its Anticancer Activity. Online. *Pharmacognosy Reviews*. Vol. 11, no. 21, p. 39–42. Dostupné z: https://dx.doi.org/10.4103/phrev.phrev_57_16. [cit. 2024-01-09].
66. SAEIDNIA, Soodabeh a GOHARI, Ahmad Reza, 2012. Importance of *Brassica napus* as a medicinal food plant. Online. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 6, no. 14, p. 2700–2703. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5897/JMPR11.1103>. [cit. 2024-02-12].
67. SHAH, Ali Mujtaba, WANG, Zhisheng a MA, Jian, 2020. Glutamine Metabolism and Its Role in Immunity, a Comprehensive Review. Online. *Animals*. Vol. 10, no. 2, article 326. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ani10020326>. [cit. 2024-02-04].
68. SHAO, Kimberly; STEWART, Campbell a GRANT-KELS, Jane M., 2021. Cannabis and the skin. Online. *Clinics in Dermatology*. Vol. 39, no. 5, p. 784–795. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2021.05.006>. [cit. 2024-03-28].
69. SCHAFFER, Stephen a KIM, Ha Won, 2018. Effects and mechanisms of taurine as a therapeutic agent. Online. *Biomolecules & therapeutics*. Vol. 26, no. 3, p. 225–241. Dostupné z: <https://doi.org/10.4062%2Fbiomolther.2017.251>. [cit. 2024-03-29].
70. SCHMIDT, Renate a BANCROFT, Ian (ed.), 2011. *Genetics and Genomics of the Brassicaceae*. New York: Springer New York. ISBN 978-1-4419-7118-0
71. SIDDIK, Md Abu Bakkar a SHIN, Andrew C., 2019. Recent Progress on Branched-Chain Amino Acids in Obesity, Diabetes, and Beyond. Online. *Endocrinology and Metabolism*. Vol. 34, no. 3, p. 234–246. Dostupné z: <https://doi.org/10.3803%2FEnM.2019.34.3.234>. [cit. 2024-02-18].
72. SINGHAL, Sarita; BAKER, Robert D. a BAKER, Susan S., 2017. A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. Online. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. Vol. 64, no. 5, p. 799–805. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001380>. [cit. 2024-01-06].

73. SPRONSEN, Francjan J. van; BLAU, Nenad; HARDING, Cary; BURLINA, Alberto; LONGO, Nicola et al., 2021. Phenylketonuria. Online. Nature Reviews Disease Primers. Vol. 7, no. 36, article 36. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00267-0>. [cit. 2024-02-20].
74. SURGUCHOV, Andrej (ed.), 2020. Synucleins - Biochemistry and Role in Diseases. IntechOpen. ISBN 978-1-78984-565-5.
75. THAVARAJAH, Dil; LAWRENCE, Tristan J.; POWERS, Sarah E.; KAY, Joshua; THAVARAJAH, Pushparajah et al., 2022. Organic dry pea (*Pisum sativum* L.) biofortification for better human health. Online. Plos one. Vol. 17, no. 1, article e0261109. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261109>. [cit. 2024-01-31].
76. TOMÉ, Daniel a BOS, Cécile, 2007. Lysine requirement through the human life cycle. Online. The Journal of Nutrition. Vol. 137, no. 6, p. 1642S–1645S. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jn/137.6.1642S>. [cit. 2024-03-28].
77. VELÍŠEK, Jan a HAJŠLOVÁ, Jana, 2009. Chemie potravin. 3. rozš. a přeprac. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-15-2.
78. VETTORE, Lisa A.; WESTBROOK, Rebecca L. a TENNANT, Daniel A., 2021. Proline metabolism and redox; maintaining a balance in health and disease. Online. Amino acids. Vol. 53, p. 1779–1788. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03051-2>. [cit. 2024-03-29].
79. VILCACUNDO, Rubén a HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca, 2017. Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Online. Current Opinion in Food Science. Vol. 14, p. 1–6. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.11.007>. [cit. 2024-02-18].
80. WADE, A. Michael a TUCKER, Hugh N, 1998. Antioxidant characteristics of L-histidine. Online. The Journal of Nutritional Biochemistry. Vol. 9, no. 6, p. 308–315. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(98\)00022-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(98)00022-9). [cit. 2024-02-05].
81. WALTER, Sinja; ZEHRING, Jenny; MINK, Kathrin; QUENDT, Ulrich; ZOCHER, Kathleen et al., 2022. Protein content of peas (*Pisum sativum*) and beans (*Vicia faba*) - Influence of cultivation conditions. Journal of Food Composition and Analysis. Vol. 105, article 104257. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104257>. [cit. 2024-02-04].
82. WANG, Ning a DAUN, James K., 2006. Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*). Online. Food Chemistry. Vol. 95, no. 3, p. 493–502. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.001>. [cit. 2024-03-28].
83. WANG, Xian-Sheng; TANG, Chuan-He; YANG, Xiao-Quan a GAO, Wen-Rui, 2008. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. Online. Food Chemistry. Vol. 107, no. 1, p. 11–18. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.064>. [cit. 2024-04-13].

84. WU, Guoyao, 2021. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition*. 2nd ed. Texas: CRC Press. ISBN 978-0367552787.
85. XIE, Aijun; DONG, Yushi; LIU, Zifei; LI, Zhiwei; SHAO, Junhua et al., 2023. A Review of Plant-Based Drinks Addressing Nutrients, Flavor, and Processing Technologies. Online. *Foods*. Vol. 12, no. 21, article 3952. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12213952>. [cit. 2024-01-06].
86. YELAMANCHI, Soujanya D.; JAYARAM, Savita; THOMAS, Joji Kurian; GUNDIMEDA, Seetaramanjaneyulu; KHAN, Aafaque Ahmad et al., 2015. A pathway map of glutamate metabolism. Online. *Journal of Cell Communication and Signaling*. Vol. 10, no. 1, p. 69–75. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12079-015-0315-5>. [cit. 2024-04-13].
87. YUAN, Qiong; YIN, Liyang; HE, Jun; ZENG, Qiting; LIANG, Yuxin et al., 2024. Metabolism of asparagine in the physiological state and cancer. Online. *Cell Communication and Signaling*. Vol. 22, article 163. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-024-01540-x>. [cit. 2024-02-18].