

# Vliv klíčení a vaření na antioxidační aktivitu čočky

Bc. Lucie Czyžová DiS.



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2014/2015

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lucie Czyžová, DiS.**  
Osobní číslo: **T12534**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv klíčení a vaření na antioxidační aktivitu čočky**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika luštění, význam luštěnin ve výživě
2. Charakteristika čočky, její chemické složení, popis vybraných druhů
3. Stručná charakteristika antioxidantů, antioxidační aktivita
4. Charakteristika polyfenolických látek

### II. Praktická část

1. Stanovení celkového obsahu flavonoidů ve vybraných druzích čočky v syrovém, vařeném a naklíčeném stavu
2. Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH ve vybraných druzích čočky v syrovém, vařeném a naklíčeném stavu
3. Stanovení celkového obsahu polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu ve vybraných druzích čočky v syrovém, vařeném a naklíčeném stavu
4. Statistické hodnocení výsledků a jejich diskuze

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. [1] LIM, Tong Kwee. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits. New York: Springer, 2012, 1100 s. ISBN 978-94-007-1763-3
2. [2] VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 3. Tábor: Osis, 1999, 368 s. ISBN 80-902391-5-3
3. [3] BULKOVÁ, Věra. Rostlinné potraviny. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2011, 162 s. ISBN 978-80-7013-532-7
4. [4] PIETTA, Pier-Giorgio. Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products. 2000, Vol. 63, No. 7. 1035-1042 s.
5. [5] DUENAS, Montserrat, SUN, Baoshan., HERNAÁNDEZ, Teresa., Isabel ESTRELLA a M. Isabel SPRANGER. Proanthocyanidin Composition in the Seed Coat of Lentils (Lens culinarisL.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003, Vol. 51, No. 27. 7999-8004 s.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Zuzana Bubelová, Ph.D.**

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**20. ledna 2015**

Termín odevzdání diplomové práce:

**24. dubna 2015**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2015

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
děkan



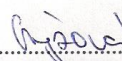
  
Ing. Jiří Mlček, Ph.D.  
ředitel ústavu

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 27. 3. 2015

  
.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **ABSTRAKT**

Cílem diplomové práce bylo zjistit, jak se změní obsah polyfenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivita v čočce jedlé během vaření a klíčení. V teoretické části je uvedena charakteristika luštěnin a blíže je popsána čočka. Další část teoretické části pojednává o antioxidantech a podrobněji se zabývá fenolickými látkami. Poslední kapitola uvádí vliv klíčení a vaření na obsah antioxidantů. V praktické části byl u 7 druhů čočky stanoven celkový obsah polyfenolických látek, celkový obsah flavonoidů a antioxidační aktivita spektrofotometrickými metodami. Kromě syrových vzorků byly všechny druhy čočky analyzovány také po uvaření a naklíčení. Bylo zjištěno, že zatímco klíčení signifikantně zvýšilo obsah polyfenolů, flavonoidů i celkovou antioxidační aktivitu, vlivem vaření došlo k výraznému poklesu obsahu antioxidačně aktivních látek. Dále lze konstatovat, že loupané druhy čočky (červená, žlutá) jsou na antioxidanty chudší, právě z důvodu odstranění obalových vrstev. V neposlední řadě lze vyvodit závěr, že tmavší druhy čočky (černá, tmavozelená, francouzská) vykazovaly vyšší obsah polyfenolů a flavonoidů a tedy i vyšší antioxidační aktivitu.

Klíčová slova: čočka, polyfenolické látky, flavonoidy, antioxidační aktivita, vaření, klíčení

## **ABSTRACT**

The aim of this diploma thesis was to determine the effect of cooking and germination on the total polyphenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of lentils. Theoretical part of the thesis includes legume and lentil characterisation, antioxidant and phenolic compound description and finally it describes the effect of cooking and germination on bioactive compounds with antioxidant activity in legumes. Seven sorts of lentils were analysed in the practical part of the thesis in order to determine their total polyphenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity. Beside raw lentil samples, also cooked and germinated samples were analysed. It was stated, that germination caused significantly higher content of polyphenols and flavonoids and also higher antioxidant activity. On the other hand, lowering of polyphenol and flavonoid content and also antioxidant activity as a result of cooking was determined. Furthermore, it was found out that dehulled lentils (red and yellow) contain lower antioxidant amounts, owing to the hull elimination. Last but not least, it can be concluded that intensively coloured lentil samples (black, dark green and French lentil) possessed higher total polyphenolic content, total flavonoid content and higher antioxidant activity.

Keywords: lentils, polyphenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, cooking, germination

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Zuzaně Bubelové, Ph.D. za vzorné vedení při zpracování práce, za odborné rady, informace a připomínky a především za ochotu a čas, který mně při jejím sestavování věnovala.

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



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 LUŠTĚNINY</b> .....	<b>13</b>
1.1 VÝZNAM LUŠTĚNIN VE VÝŽIVĚ.....	13
1.2 VYUŽITÍ A SPOTŘEBA LUŠTĚNIN .....	15
<b>2 ČOČKA JEDLÁ</b> .....	<b>16</b>
2.1 PŮVOD ČOČKY.....	16
2.2 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA ČOČKY .....	16
2.3 DRUHY ČOČKY .....	17
2.3.1 Hnědá čočka .....	17
2.3.2 Zelená čočka (Francouzská).....	17
2.3.3 Červená čočka .....	18
2.3.4 Žlutá čočka .....	18
2.3.5 Černá čočka (Beluga).....	18
2.3.6 Bílá čočka.....	18
2.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ČOČKY .....	18
2.4.1 Sacharidy .....	19
2.4.2 Proteiny .....	20
2.4.3 Lipidy .....	20
2.4.4 Vitamíny.....	21
2.4.5 Minerální látky .....	21
2.4.6 Antinutriční látky .....	21
2.4.6.1 Lektiny (fytohemaglutininy).....	21
2.4.6.2 Saponiny .....	22
2.4.6.3 Inhibitory proteáz.....	22
2.4.6.4 Taniny (trísloviny) .....	22
2.4.6.5 Kyselina fytová .....	23
2.4.6.6 Oligosacharidy .....	23
2.4.6.7 Purinové látky .....	23
<b>3 ANTIOXIDANTY</b> .....	<b>24</b>
3.1 VOLNÉ RADIKÁLY .....	24
3.2 ZÁSTUPCI ANTIOXIDANTŮ .....	25
3.2.1 Vitamín C .....	25
3.2.2 Vitamín E .....	26
3.2.3 Karotenoidy .....	26
<b>4 FENOLICKÉ LÁTKY</b> .....	<b>27</b>

4.1	FENOLICKÉ LÁTKY ČOČKY .....	28
4.2	FENOLICKÉ KYSELINY .....	28
4.3	TŘÍSLUVINY .....	29
4.4	KUMARINY .....	29
4.5	STILBENY .....	30
4.6	LIGNANY .....	30
4.7	FLAVONOIDY.....	30
4.7.1	Antokyanidiny a antokyany .....	32
4.7.2	Flavanoly.....	32
4.7.3	Flavanony .....	33
4.7.4	Chalkony .....	33
4.7.5	Flavony.....	33
4.7.6	Flavonoly.....	33
4.7.7	Izoflavonoidy .....	34
<b>5</b>	<b>VLIV KLÍČENÍ A VAŘENÍ NA ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITU .....</b>	<b>35</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>38</b>
7.1	CHEMIKÁLIE.....	38
7.2	PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	38
7.3	ANALYZOVANÉ VZORKY .....	39
7.3.1	Příprava vzorků .....	39
7.3.2	Extrakce vzorků .....	40
7.4	STANOVENÍ SUŠINY .....	40
7.5	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	41
7.5.1	Kalibrační křivka.....	41
7.6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ .....	41
7.6.1	Kalibrační křivka.....	42
7.7	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH .....	42
7.7.1	Kalibrační křivka.....	42
7.8	STATISTICKÉ HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ .....	43
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>44</b>
8.1	STANOVENÍ SUŠINY .....	44
8.2	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	44
8.3	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ .....	47
8.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	49
8.5	KORELACE MEZI CELKOVÝM OBSAHEM POLYFENOLŮ, FLAVONOIDŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU .....	51
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>53</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>55</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>65</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>66</b>

## ÚVOD

Luštěniny nás doprovází už od pradávna. V dřívějších dobách se luštěniny konzumovaly velmi málo, a to díky nadýmavosti, kterou způsobují. Jednou z nejznámějších a nejvíce konzumovaných luštěnin je čočka. Čočka patří k nejstarším kulturním plodinám. Ze všech luštěnin je čočka nejoblíbenější skupinou. Čočka je výbornou a mnohostrannou potravinou v kuchyni, lze z ní připravit různé polévky, saláty a sladkokyselá jídla. Luštěniny obsahují velké množství důležitých látek, jako jsou bílkoviny, sacharidy, vláknina, minerální látky a vitaminy (hlavně skupiny B). V poslední době je ve větší míře věnována pozornost názorům, že zvýšená konzumace zeleniny a ovoce může snižovat riziko vzniku některých forem rakoviny, kardiovaskulárních chorob a některých dalších onemocnění. Předpokládá se, že je to díky vysokému obsahu antioxidantů. Na antioxidanty jsou velmi bohaté i luštěniny.

Mezi účinné přírodní antioxidanty, které jsou součástí naší potravy, patří např.  $\beta$ -karoten, vitamín C, vitamín E a též velká skupina látek označovaných souhrnně jako polyfenolické látky. Polyfenoly jsou látky ubikvitární v rostlinné říši a jsou nejrozšířenějšími sloučeninami s redukčními účinky v naší stravě. V rostlinách bylo identifikováno několik tisíc fenolických látek s ohromnou rozmanitostí struktur. Společným rysem je, že obsahují jedno nebo více aromatických jader substituovaných hydroxylovými skupinami. K polyfenolickým látkám patří i flavonoidy. Flavonoidy jsou velmi rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů. V současné době je známo více než 4 000 flavonoidních látek a stále jsou objevovány další. Flavonoidy jsou odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny flavanu, tvořeného dvěma benzenovými jádry, spojenými heterocyklickým pyranem.

Tato diplomová práce se v teoretické části zabývá charakteristikou čočky, blíže se zaměřuje na její chemické složení. Další kapitoly jsou věnovány antioxidantům a polyfenolickým látkám a v neposlední řadě též vlivu vaření a klíčení na antioxidační aktivitu. Praktická část se zaměřuje na stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH, celkového obsahu polyfenolických látek s Folin-Ciocalteovým činidlem a flavonoidů metodou s  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ve vybraných, komerčně dostupných vzorcích čočky. Diplomová práce dále vyhodnocuje vliv vaření a klíčení čočky na výše zmíněné parametry.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 LUŠTĚNINY

Luštěniny jsou první kultivovanou plodinou před 3000 lety čeledi *Fabaceae* (bobovité), která se skládá z 650 rodů a více než 18 000 druhů. Jsou druhým nejvýznamnějším zdrojem potravy na světě po obilovinách. Komise pro Codex Alimentarius definuje luštěniny jako suchá semena z luskovin, které se odlišují od olejnatých semen svým nízkým obsahem tuku, a jsou důležité v tropických a subtropických oblastech, kde jsou na druhém místě po obilovinách [1].

Luštěniny spolu s obilovinami jsou řazeny vzhledem k zrna a jeho obdobnému složení a technologickému zpracování či uskladnění mezi zrniny. Bobovité jsou význačným rostlinným druhem a kulturní plodinou, protože dokáží poutat vzdušný dusík [2].

Mezi luštěniny jsou řazeny jako samostatná skupina hrách, čočka, fazole, cizrna, bob a sója. Kromě těchto tradičních luštěnin existují, ale i lupina, hrachor, vigna a vikev, které jsou využitelné ke konzumním účelům. Sója může být s ohledem na vysoký obsah tuku řazena i do skupiny olejnin, a to v případě, že nejsou využívány sójové boby, ale je z nich vyráběn olej [2, 3].

Luštěniny jsou rozšířené po celém světě a jsou hlavně v Asii a Africe levným, ale kvalitním zdrojem bílkovin. Naklíčená zrna byla a jsou obzvláště v Číně známá jako léčebný prostředek a zdravé jídlo. Klíčky obilovin a luštěnin jsou velmi hodnotné díky obsahu bílkovin, tělu dodávají velmi rychle energii, jsou lehce stravitelné a navíc si je může každý připravit sám [4].

Luštěninová zrna jsou vynikajícím zdrojem bílkovin, sacharidů, vlákniny, vitamínů, minerálů a fytochemikálií. Luštěniny obsahují řadu biologicky aktivních látek, jako jsou enzymy, lektiny, fytáty, oligosacharidy a fenolické sloučeniny, které hrají roli v metabolismu lidí nebo zvířat. Luštěniny obsahují až 60 % sacharidů (hlavně škrobu). Luštěniny jsou dobrým zdrojem sloučenin, které mohou mít fyziologický účinek, mohou zabránit chronickým nemocem, jakou jsou cukrovka, kardiovaskulární onemocnění a obezita, a přispívají k celkovému zdraví [1].

### 1.1 Význam luštěnin ve výživě

Luskoviny tvoří velkou skupinu užitkových rostlin, které už po celá tisíciletí hrají významnou roli ve výživě lidstva. Vzniká předpoklad, že luštěniny spolu s obilovinami vytvoří v budoucnosti hlavní složky výživy obyvatel, a to především pro již zmíněný vysoký obsah

bílkovin. Jejich společná kombinace je pro lidský organizmus neobyčejně výhodná, neboť vytváří celý komplet nezbytných aminokyselin, a tak mohou nahradit bílkoviny živočišného původu [5]. Luštěniny mají dostatek aminokyseliny lyzinu (ten je nedostatkový u obilovin) a naopak nízký obsah sirných aminokyselin (cystein, metionin) a tryptofanu, kterých mají dostatek obiloviny, takže jejich kombinací získáme všechny esenciální aminokyseliny jako z živočišných produktů. Navíc, konzumace bílkovin z luštěnin není spojena se zvýšeným příjmem tuků a cholesterolu, což je pozitivní hlavně ve vztahu ke kardiovaskulárním chorobám [6]. Biologická hodnota bílkovin živočišného původu je všeobecně vyšší než hodnota bílkovin rostlinného původu. Biologickou hodnotu může zvýšit přidavkem limitující aminokyseliny nebo kombinací rostlinných bílkovin [7].

V luštěninách najdeme látky s antinutričními účinky a látky způsobující nadýmání, což může být důvod, proč se luštěniny stále netěší příliš velké oblibě. Mezi antinutriční látky, které se nacházejí v luštěninách, patří např. třísloviny, inhibitory proteáz, lektiny, antigenní bílkoviny a saponiny [8]. Správnou úpravou luštěnin však lze tyto problémy zcela odstranit nebo alespoň výrazně redukovat. Zpracováním luštěnin se snižuje obsah bílkovin, současně se však zvyšuje jejich stravitelnost. Správná úprava je důležitá proto, že luštěniny obsahují poměrně vzácné nestravitelné oligosacharidy rafinózu a stachyózu [9].

Role sacharidů je v luštěninách dvojí, podle jejich typu. Zatímco glukóza představuje nezbytný zdroj energie, oligosacharidy představují pro organizmus jisté komplikace, neboť člověk nemá v zažívacím traktu potřebné enzymy, které dokážou tyto látky štěpit. Oligosacharidy tak procházejí až do tlustého střeva a způsobují plynatost, což je zřejmě jediná nepříjemná vlastnost luštěnin [10].

Mezi procesy, které sníží nadýmavost a zvýší stravitelnost, patří klíčení, namáčení a vaření luštěnin. Před samotným namáčením se luštěniny propírají v čisté studené vodě a namáčí se v nové vodě. Většina luštěnin se namáčí nejlépe na noc, cizrna a hrách potřebují delší dobu, přibližně 8 – 12 hod. Kratší dobu namáčení (3 – 5 hod) lze použít u čočky, fazolí adzuki a u fazolí mungo. Význam namáčení je především kvůli snížení obsahu lektinů. Přechází do namáčecího roztoku, proto se luštěniny nikdy nevaří ve vodě, ve které byly namáčeny. U luštěnin je tepelná úprava nutná. V syrovém stavu jsou tvrdé a obsahují toxické látky. Při tepelném zpracování luštěnin dochází ke zlepšení nutriční hodnoty bílkovin. Nejeefektivnějším způsobem, jak snížit obsah nežádoucích oligosacharidů je naklíčení

luštěnin. Luštěniny ke klíčení potřebují mnohem více vody než například obiloviny. Během klíčení se zvyšuje objem luštěnin a klíček proráží osemení [9].

## 1.2 Využití a spotřeba luštěnin

Ve světovém měřítku se nejvíce využívají fazole, v Evropě poměrně hodně hrách a čočka. Průměrná spotřeba luštěnin ve výživě lidí je ve světovém měřítku velmi rozdílná a v různých zemích dosahuje rozpětí 1 – 25 kg na člověka za rok (ČR se 2 kg řadí k zemím s malou spotřebou), celosvětový průměr je 7 kg, v Evropě 3,5 kg, v Indii 14 kg. Ve většině zemí, kde mají luštěniny svůj původ, a v řadě afrických zemí je spotřeba luštěnin v současné době velmi vysoká a v některých dosahuje až 50 kg na osobu a rok [11, 12]. Spotřeba čočky se v ČR dlouhodobě pohybuje mezi 0,5 a 0,6 kg na osobu a rok (viz Tab. 1).

Tab. 1 Spotřeba čočky jedlé v ČR (kg/osoba/rok) [13].

2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6

## 2 ČOČKA JEDLÁ

Čočka (*Lens culinaris*) je jednou ze světově nejstarších plodin, která byla pěstována v jihozápadní Asii od roku 7000 před naším letopočtem. Plodina je nejvhodnější pro pěstování v mírných klimatických podmínkách, ale pěstuje se v různých částech světa. Indie je největším světovým spotřebitelem čočky a druhým největším producentem. Severní Amerika a Kanada patří k hlavním producentům čočky. Kanada začala čočku pěstovat v roce 1969 a v současné době je největším producentem i vývozcem [14].

### 2.1 Původ čočky

Čočka patří k nejstarším kulturním plodinám. Byla nalezena v pyramidách egyptských králů XII. dynastie (2000 let před naším letopočtem) jako pokrm, který se dával mrtvým do hrobu. Rovněž Řekové a Římané ji pěstovali a stejně tak i Slované. O čočce je zmínka také v Kyjevských letopisech. Původ čočky je pravděpodobně různý. Velkozrná čočka pochází ze zemí kolem Středozemního moře, vyjímaje Alžír, Maroko a Tunis, a odtud se rozšířila do zemí západní Evropy, do Ruska a do USA. Drobnozrná čočka pochází pravděpodobně z jihozápadní Asie [15].

### 2.2 Botanická charakteristika čočky

Čočka jedlá patří stejně jako ostatní luštěniny do čeledi bobovité (*Fabaceae*), příp. též vikvovité (*Viciaceae*) či motýlokvěté (*Papilionaceae*) a rodu *Lens*, který zahrnuje kromě kulturní formy *Lens culinaris* ještě čtyři planě rostoucí variety (subsp. *nigricans*, var. *tenorei*, var. *schnittopalmi* a var. *himalayensis*) [16].

Čočka jedlá (viz Obr. 1) je jednoletá rostlina se vzpřímenou, na bázi značně rozvětvenou lodyhou. Lodyha je jemná, dorůstající výšky 20 – 60 cm, slabě poléhající. Na průřezu je čtyřhranná. Lístky jsou 1,2 – 2,7 cm dlouhé, 0,3 – 0,8 cm široké, oválné, podlouhlé až čárkovité s ostrým nebo tupým zakončením. Barva lístků je světle zelená až tmavě zelená. Lístky jsou na povrchu hladké nebo s ochlupením. V úžlabí listů vyrůstá na dlouhých stopkách květenství s 1 – 4 květy. Květ je malý, samosprašný. Barva pavézy (okvětní list) je bílá nebo růžová, světle modrá či fialová. Lusky jsou krátké, široké, téměř kosočtverečné, ploché. V lusku jsou 1 – 3 semena plochého čočkovitého tvaru. Velikost semene je různá. Barva osemení je bílá, šedá, růžová, zelená, žlutozelená, světle hnědá až hnědá, jednobarvná nebo s kresbou. Dělohy jsou žluté, oranžové vzácně i zelené [17, 18].





Obr. 1 Čočka jedlá [19]

### 2.3 Druhy čočky

Čočka existuje v různých barvách, např. zelená, hnědá, žlutá, červená, a černá [20]. Textura a chuť čočky se liší v závislosti na odrůdě. Semena se používají do polévek, dušených mas, salátů, lehkých jídel a do vegetariánských pokrmů [21].

#### 2.3.1 Hnědá čočka

Hnědá čočka je nejčastěji používaným druhem. Má jemnou chuť a udržuje tvar při vaření [20]. Hnědá čočka vyžaduje asi 60 minut vaření, pokud se bude vařit v tlakovém hrnci, tak se doba vaření zkrátí na 15 – 20 minut [21]. Používá se při vaření polévek, k přípravě salátů, pomazánek či vařená samotná. Vyniká skvělou chutí, bohatým obsahem vitamínů skupiny B a nízkým obsahem tuků. Je vhodná ke klíčení [22].

#### 2.3.2 Zelená čočka (Francouzská)

Zelená čočka pochází z oblasti Le Puy ve Francii. Čočka je hnědo-zelená, skvrnitá. Má bohatou ořechovou příchutí a nerozvaří se při vaření, proto je vhodná do salátů [20]. Francouzská zelená čočka se považuje za nejchutnější druh. Vyniká svojí kořeněnou chutí. Snadno se nabírá na vidličku a je příjemně pevná na skus [22].

### 2.3.3 Červená čočka

Červená čočka je na trhu v dostání ve dvou druzích a to červená čočka neloupaná a červená čočka loupaná. Červená čočka loupaná se vyznačuje tím, že nemá schopnost klíčit a dále tím, že se velmi rychle vaří a není ji třeba máčet, vařením ztrácí svůj tvar a barví se z lososového zbarvení do žluta. Má mírně sladkou chuť [20, 23]. Červená čočka loupaná je na rozdíl od ostatních druhů dobře stravitelná a bez flatulentní (nadýmavé) působnosti, proto je vhodné ji podávat dětem [24]. Červená čočka neloupaná se může naklíčit a díky slupce má vysoký obsah bílkovin (26 %). Červená čočka, jak loupaná tak i neloupaná je vhodná do polévek, kaší, předkrmů nebo jako příloha [22].

### 2.3.4 Žlutá čočka

Tato čočka má mírně ořechovou chuť. Má podobné vlastnosti, hlavně texturu, jako červená čočka. V Indii se často přidává do mouky. Žlutá čočka se prodává pouze loupaná. Loupaná čočka se vyznačuje tím, že se nemusí máčet, vaří se kratší dobu a to pouhých 20 – 30 minut, při použití tlakového hrnce se vaří pouze 5 minut [20].

### 2.3.5 Černá čočka (Beluga)

Černá čočka je malá, jemná, černá a lesklá jako kaviár Beluga. Tato odrůda je dražší než jiné odrůdy. Používá se do polévek a salátů [20].

### 2.3.6 Bílá čočka

Jedná se vlastně o černou čočku, která je oloupána a půlena, tím se odhalí bílý povrch. Čočka má jemnou chuť a texturu. Používá se hlavně do dušených pokrmů a polévek [20].

## 2.4 Chemické složení čočky

Čočka má vysokou nutriční hodnotu, je velmi hodnotná a žádaná luštěnina. Je bohatá na minerální látky, má nejvíce železa a nejméně vlákniny ze všech ostatních luštěnin [25].

V syrové čočce je obsaženo asi 10 – 12 % vody (vlhkosti), 330 – 350 Kcal (1380 – 1460 kJ) energie, 25 – 28 % bílkovin, 0,7 – 1,1 % tuků, 2,1 – 2,7 % minerálních látek (popela), 57 – 60 % sacharidů, 2 % cukrů, 3% hrubé vlákniny [18, 26, 27, 28, 29]. Naklíčená čočka obsahuje okolo 60 % vody, 106 Kcal (444 kJ) energie, 9 % proteinů, 0,5 % tuků, 1 % minerálních látek, 22 % sacharidů [26]. Vařená čočka obsahuje cca 70 % vody, 116 Kcal (485 kJ) energie, 9 % proteinů, 0,4 % tuků, 20 % sacharidů, 2 % cukrů, 8 % vlákniny [18].

### 2.4.1 Sacharidy

Podle počtu cukerných jednotek vázaných v molekule se sacharidy dělí na monosacharidy, oligosacharidy, polysacharidy a složené sacharidy [30]. Z monosacharidů a disacharidů jsou v čočce v malém množství přítomny glukóza a fruktóza a ve větším množství sacharóza. Čočka obsahuje asi 1,5 % sacharózy, 0,3 % fruktózy a 0,3 % maltózy [26]. Z oligosacharidů jsou zastoupeny rafinóza, verbaskóza, stachyóza a ajugóza. Čočka obsahuje 1,9 – 3,1 % stachyózy, 0,3 – 0,5 % rafinózy a 1,2 – 1,4 % verbaskózy [24]. Tyto oligosacharidy, které jsou přítomné v čočce a jiných luštěninách, odolávají působení žaludeční kyseliny a enzymů, které štěpí jiné sacharidy a jsou částečně využitelné bakteriemi tlustého střeva, které je metabolizují za tvorby plynů a jsou považovány za hlavní příčinu nadýmání při konzumaci luštěnin [31].

V čočce jsou přítomné i polysacharidy, zejména škrob. Škrob se vyskytuje výhradně v rostlinách, kde tvoří granule charakteristického tvaru. Není jednotnou látkou, ale je složen ze směsi dvou hlavních složek, amyulózy a amylopektinu, a malého množství doprovodných látek, např. lipidů. Poměr dvou hlavních složek bývá různý a pro určitou odrůdu škrobnaté suroviny typický. Svým chemickým složením jsou si amyλόza a amylopektin velmi podobné. Základní jednotkou u obou sacharidů je D-glukopyranóza. Zatímco amyλόza je nevětvená a skládá se z molekul maltózy, které jsou spojeny vazbami  $\alpha(1-4)$ , amylopektin obsahuje navíc molekuly izomaltózy, které díky vazbám  $\alpha(1-6)$  způsobují větvení molekuly. Význačnou vlastností škrobu je přístupnost k hydrolýze v tenkém střevu. Frakce škrobu, která odolává trávení v tenkém střevu, se nazývá rezistentní škrob. Přítomnost rezistentního škrobu je zdraví prospěšná. Podobně jako vláknina zvyšuje objem stolice, zvyšuje produkci těkavých mastných kyselin v zadních částech trávicího traktu. V luštěninách je přítomný rezistentní škrob RS1, který je odolný pankreatické amylyáze [7, 21]. Obsah škrobu v čočce se pohybuje kolem 35 – 53 %, s různým obsahem amyulózy (20,7 – 38,8 %). Škroby v čočce tvoří z 56 – 65,5 % rychle stravitelné škroby a z 29,4 % – 34,8 % rezistentní škroby [32].

Vláknina je důležitá složka naší stravy. Jedná se o skupinu nestravitelných „neškrobových“ polysacharidů a dalších látek rostlinného původu. Podle rozpustnosti ve vodě se vláknina dělí na nerozpustnou a rozpustnou vlákninu. Nerozpustná vláknina se vyskytuje ve slupkách ovoce a zeleniny, obilovinách a luštěninách. Řadíme k ní především celulózu a lignin. Urychluje průchod obsahem střevem, podporuje jeho vyprazdňování. Rozpustnou vlákninu obsahuje především hrášek, oves, brokolice, jablka a citrusy. Tvoří ji zejména hemiceluló-

zy, pektin, rostlinné gumy a slizy. V trávicím ústrojí bobtná a tvoří gel. Navozuje pocit plnosti, obaluje tráveninu a brání tak účinku trávicích enzymů, takže omezuje využití živin, snižuje vstřebávání cholesterolu [33]. U semen je zastoupení vlákniny dáno především podílem slupky na hmotnosti semene. Nízký podíl má například čočka, fazol, střední obsah hrách a nejvyšší obsah má bob [34]. Syrová čočka obsahuje asi 4 % vlákniny [35].

#### 2.4.2 Proteiny

Obsah bílkovin v luštěninách je závislý především na pěstovaném druhu a odrůdě, na ročníku pěstování, částečně na agrotechnice. Pohybuje se od 20 % do 45 % obsahu v sušině semen, kdy nižší obsah má např. hrách a fazol, nejvyšší obsah je u sóje. Obsah bílkovin v čočce je 25 – 30 %. Bílkoviny luštěnin jsou složeny ze dvou hlavních složek: z albuminů a globulinů, třetí skupina glutelinů není vzhledem k malému množství příliš důležitá. Albuminy (např. legumelin) jsou součástí semenného embrya, z celkového obsahu bílkovin tvoří 12 – 25 %. Globuliny činí 60 – 90 % obsahu zásobních bílkovin a u luštěnin jsou nazývány legumin a vicilin [34]. Čočka je bohatá na lyzin a arginin, které plní funkci základních esenciálních aminokyselin. Chybí jí sирné aminokyseliny metionin a cystein a též tryptofan [32]. Z esenciálních aminokyselin obsahuje čočka (100 g jedlého podílu) 238 mg metioninu, 1392 mg valinu, 2034 mg leucinu, 1212 mg izoleucinu, 1957 mg lyzinu, 1383 mg fenylalaninu, 1006 mg treoninu a 251 mg tryptofanu [27].

#### 2.4.3 Lipidy

Čočka má nízkou koncentraci tuku cca 1,5 %, kyselina palmitová a linolenová jsou hlavní mastné kyseliny. Lipidy se na energetické hodnotě luštěnin podílejí málo [32].

Čočka dále obsahuje doprovodné látky lipidů. Čočka obsahuje 120 mg.100 g<sup>-1</sup> β-sitosterolu, 15 mg.100g<sup>-1</sup> kampesterolu a 20 mg.100 g<sup>-1</sup> stigmasterolu [36].

Celkový obsah nasycených mastných kyselin v čočce je 0,156 %. Z toho obsah kyseliny myristové (14:0) je 0,003 %, kyseliny palmitové (16:0) 0,133 % a kyseliny stearové (18:0) 0,015 %. Celkový obsah mononenasycených mastných kyselin je 0,189 %. Z toho palmitolejové kyseliny (16:1) je 0,003 % a olejové kyseliny (18:1) pak 0,180 %. Celkový obsah polynenasycených mastných kyselin je 0,516 %. Z toho čočka obsahuje 0,404 % kyseliny linolové (18:2) a 0,109 % kyseliny linolenové (18:3) [26].

#### 2.4.4 Vitamíny

Ve 100 g jedlého podílu čočky je obsah vitamínu C (kys. askorbová) 4,4 mg, tiaminu (vitamín B<sub>1</sub>) 0,873 mg, riboflavinu (vitamín B<sub>2</sub>) 0,211 mg, niacinu (vitamín B<sub>3</sub>) 2,605 mg, kyseliny pantotenové (vitamín B<sub>5</sub>) 2,140 mg, pyridoxinu (vitamín B<sub>6</sub>) 0,540 mg a kyseliny listové (vitamín B<sub>9</sub>) 479 µg. Dále čočka obsahuje vitamíny rozpustné v tucích, a to vitamín A (v množství 2 µg RAE, resp. 39 IU), jeho prekurzor β karoten (23 µg), vitamín E (0,49 mg) a vitamín K (5 µg) [26].

#### 2.4.5 Minerální látky

U luštěnin je obsah minerálních látek závislý na obsahu prvků v půdě, na vlastnostech půdy, způsobu a míře hnojení, na klimatických podmínkách a na stupni zralosti plodiny [37]. Čočka obsahuje ze všech luštěnin nejvíce železa, manganu a zinku [24]. Podle Velíška obsahuje čočka 40 – 550 mg. kg<sup>-1</sup> sodíku, 6700 – 8100 mg. kg<sup>-1</sup> draslíku, 640 mg. kg<sup>-1</sup> chlóru, 770 mg. kg<sup>-1</sup> hořčíku, 400 – 750 mg. kg<sup>-1</sup> vápníku, 2400 mg. kg<sup>-1</sup> fosforu a 1200 mg. kg<sup>-1</sup> selenu [37].

#### 2.4.6 Antinutriční látky

I když se čočka považuje za vysoce výživnou, tak i přesto obsahuje antinutriční faktory. Mezi antinutriční látky se řadí inhibitory enzymů, antivitaminy, sloučeniny interferující s metabolismem minerálních látek, některé fenolové sloučeniny (např. taniny), lektiny, saponiny a některé oligosacharidy, které způsobují nadýmaní. Antinutriční látky ovlivňují aktivitu některých enzymů, vitamínů a minerálních látek, stravitelnost a využitelnost základních živin, a tím také výživovou hodnotu potravin [38]. Obsah antinutričních látek může být výrazně snížen vařením a klíčením. Bylo zjištěno, že tepelná úprava snižuje aktivitu inhibitorů trypsinu a výrazně zvyšuje stravitelnost proteinů semen. Klíčení čočky po dobu 6 dnů při 20 ° C a následné vaření má za následek hydrolýzu oligosacharidů a inaktivaci kyseliny fytové, čímž se zlepšuje stravitelnost a dostupnost vápníku, hořčíku, železa a zinku [18].

##### 2.4.6.1 Lektiny (fytohemaglutininy)

Jeden z mechanismů ochrany, kterými rostliny disponují, spočívá v akumulaci určitých proteinů v semenech a vegetativních částech, které souvisejí s rozmnožováním. To činí tyto orgány rostlin nepříjemné, nestravitelné nebo toxické pro parazity a predátory. Takovými proteiny jsou lektiny a také inhibitory proteáz a amyláz. Lektiny jsou široce rozšířeny

jak v rostlinné, tak i v živočišné říši a v mikroorganismech. K detoxikaci lektinů v potravinářských materiálech se nejčastěji používá máčení a tepelná úprava, především vaření, protože lektiny teplem denaturují. Dále klíčením semen dochází ke značnému poklesu koncentrace lektinů. Doba klíčení potřebná k postačujícímu snížení množství lektinů je 4 – 6 dnů. Z běžných lektinů jsou slabě toxické lektiny arašídů, čočky, hrachu, fazolí a sóje. Čočka obsahuje v semenech  $0,1 - 1 \text{ g.kg}^{-1}$  lektinů [38].

#### 2.4.6.2 Saponiny

Saponiny jsou povrchově aktivní rostlinné složky. Z chemického hlediska jsou saponiny glykosidy, obsahují lipofilní aglykon (sapogenin) a hydrofilní cukerný zbytek [39]. Sacharidové řetězce se skládají z 1 až 8 monosacharidů uronové kyseliny. Existují saponiny s jedním sacharidovým řetězcem a se dvěma řetězci, které jsou na sobě nezávislé [40].

Saponiny se vyskytují hlavně v rostlinách, nejvíce jich obsahuje špenát, řepa, sója, fazole, cizrna, lékořice. Obecně mají hořkou chuť a používají se jako pěnotvorné látky, emulgátory a antioxidanty. V luštěninách jsou odpovědné za nežádoucí trpkost a hořkost, jejich množství lze snížit máčením ve vodě, fermentací či oloupaním povrchových vrstev, ne však vařením [41]. Čočka obsahuje  $3,7 - 4,6 \text{ g.kg}^{-1}$  saponinů v sušině [40].

#### 2.4.6.3 Inhibitory proteáz

Z výživového hlediska jsou významné proteiny nebo polypeptidy schopné inhibovat trávicí enzymy. Inhibitory proteáz jsou přirozenými složkami některých potravin rostlinného původu, především semen luštěnin. V rostlinách plní inhibitory proteáz několik funkcí. Slouží jako ochrana cytozolu, dále mají funkci zásobních proteinů v době klíčení a podílejí se na ochraně rostlinných pletiv vůči predátorům [38].

#### 2.4.6.4 Taniny (třísloviny)

Třísloviny jsou fenolické sloučeniny, které v kombinaci s proteiny, škrobem a trávicími enzymy vytvářejí nerozpustné komplexy, a často se vyskytují v semenech luštěnin (v množství do  $0,45 \text{ g.kg}^{-1}$  v sóji a do  $20 \text{ g.kg}^{-1}$  ve fazolích). Tanin váže škrob luštěnin při pokojové teplotě a může snížit stravitelnost až o 17 %. Loupaní luštěnin snižuje hladinu taninu a má za následek větší dostupnost škrobu a bílkovinových frakcí v průběhu trávení [42]. Čočka obsahuje kondenzované taniny, jako jsou polymery katechinu, epikatechinu a jiné [24].

#### **2.4.6.5 Kyselina fytová**

Termostabilní antinutriční látkou obsaženou v luštěninách je kyselina fytová, která v kombinaci s vlákninou snižuje využitelnost železa a jiných minerálních látek. Její hlavní formou je smíšená vápenatá a hořečnatá sůl zvaná fytin. Nejvíce kyseliny fytové se nachází v sójových bobech. V čočce se kyselina fytová nachází v množství 0,49 %. Kyselina fytová se uplatňuje i pozitivně, neboť působí jako antioxidant a možný antikarcinogen. Hydrolýza kyseliny fytové nastává působením fytáz mikroorganismů tlustého střeva. Fytátový fosfor nacházející se v sójových bobech a čočce má sníženou biologickou využitelnost a nižší je využitelnost dalších minerálních látek přítomných ve fytinu, zejména zinku, železa, též vápníku a hořčíku [24, 37].

#### **2.4.6.6 Oligosacharidy**

Zvláštní skupinou antinutričních látek jsou  $\alpha$ -galaktosidy. Ve značném množství se vyskytují v luštěninách jako zásobní sacharidy. Význačným reprezentantem těchto oligosacharidů je trisacharid rafinóza a její vyšší homology verbaskóza, stachyóza a ajugóza. Přítomnost těchto látek v luštěninách do určité míry omezuje použitelnost luštěnin pro lidskou výživu, neboť působí flatulenci (nadýmání) a gastrointestinální potíže [38].

#### **2.4.6.7 Purinové látky**

Do skupiny antinutričních látek patří i purinové látky, které se v luštěninách nacházejí ve větším množství, proto není vhodné podávání luštěninových pokrmů u dny. V čočce je obsah purinových látek 1,14 % [24].

### 3 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou látky bránící organizmy před škodlivým vlivem volných radikálů, které mohou způsobovat řadu vážných onemocnění, jakou jsou rakovina nebo kardiovaskulární nemoci. Tyto volné radikály vznikají v těle jak vlivem vnějšího prostředí (kouření, výfukové plyny), tak vlivem vnitřního prostředí organismu (např. syntéza adrenalinu). Antioxidanty tlumí účinek těchto velmi agresivních látek, neboť je převádí do méně reaktivních či zcela nereaktivních stavů. Antioxidanty lze rozdělit na přírodní a syntetické. Syntetické se získávají přípravou v laboratořích. Přírodní antioxidanty se nacházejí v téměř všech druzích rostlin, ze kterých se musí izolovat s využitím vhodných extrakčních technik [43]. Z pohledu výživy je možno antioxidanty rozdělit na endogenní a exogenní. Endogenní antioxidanty se tvoří v našem těle. Jedná se především o různé enzymy s antioxidačním účinkem. Exogenní antioxidanty získáváme z přijímaných potravin [44]. Antioxidanty podle své struktury mohou být rozděleny na polyfenoly (flavonoidy, antokyany, kumariny), karotenoidy (karoteny – prekurzory vitamínu A, xantofyly) a tokoferoly (vitamín E). Silnou antioxidační aktivitu má také askorbová kyselina (vitamín C) a selen. Bylo zjištěno, že antioxidanty zpomalují, blokují nebo zabraňují oxidačním změnám látek v lidském těle a buňkách. Polyfenolické sloučeniny, zvláště flavonoidy, jsou účinnými antioxidanty díky své schopnosti zachytávat volné radikály mastných kyselin a reaktivních forem kyslíku. Antioxidanty zpomalují ve značné míře aterosklerotické procesy, inhibují akumulaci cholesterolu v krevním séru a zvyšují rezistenci cévních stěn vůči lámavosti. A mnohé antioxidanty snižují riziko onemocnění koronárních cév, tím že zachycují a neutralizují volné radikály. Zelenina, ovoce a zemědělské plodiny představují v lidské výživě významný zdroj antioxidantů jak při přímé konzumaci, tak i ve formě zeleninových a ovocných šťáv. Denní příjem flavonoidů byl odhadnut na 26 mg na osobu [45].

V současné době existuje více než 6 000 antioxidantů. Antioxidanty jsou v zelenině, ovoci, obilovinách, luštěninách, bramborách a mnoha dalších potravinách obsaženy ve velmi malých dávkách, avšak jejich účinnost je značná [24].

#### 3.1 Volné radikály

Volné radikály jsou látky s nepárovými elektrony, které jsou přirozenou složkou lidského organismu. Jejich vliv je na jedné straně pozitivní, např. bílé krvinky využívají volných radikálů k likvidaci mikroorganismů. Na druhé straně volné radikály poškozují biomolekuly, tvoří peroxidy z mastných kyselin, oxidují bílkoviny, poškozují DNA, vyvolávají tzv.



oxidační stres. Volné radikály jsou považovány za spolupůvodce celé řady civilizačních onemocnění, např. se svým působením podílejí na vzniku a průběhu diabetu, podporují stárnutí, vznik očních chorob (šedého zákalu), vznik zánětů, nádorů, plicních chorob, kožních onemocnění, chorob jakou jsou Parkinsonova a Alzheimerova, poruch imunity, podílejí se na revmatických zánětech kloubů. Velmi významnou roli hrají volné radikály zejména v případě aterosklerózy a při vzniku rakovinných onemocnění. V organismu jsou nežádoucí volné radikály a jejich metabolické produkty zneškodňovány účinkem antioxidantů, látek, které jsou schopné radikály eliminovat. V případě, že dojde k porušení rovnováhy mezi množstvím vytvářených nebo přijímaných volných radikálů a antioxidantů, v organismu převládnu radikály, nastává oxidační stres, který vede k výše popsaným negativním zdravotním následkům [44].

V přítomnosti kyslíku se na místo nepárového elektronu okamžitě naváže molekula kyslíku a vzniká peroxylový radikál, který se snaží získat z jiné sloučeniny chybějící elektron, čímž vytváří jiný volný radikál. Tato řetězová reakce je přerušena buď vazbou dvou radikálů na sebe, nebo reakcí s antioxidantem. Nejznámější vznik volných radikálů probíhá v dýchacím řetězci, kde oxidací vzdušným kyslíkem vzniká energie a jako vedlejší produkty volné radikály superoxid a volný hydroxylový radikál [46].

## 3.2 Zástupci antioxidantů

K nejběžnějším antioxidantům patří vitamíny C a E, karotenoidy a fenolické látky. V následujících podkapitolách budou stručně charakterizovány vitamíny C, E a karotenoidy, fenolickým látkám bude věnována 4. kapitola diplomové práce.

### 3.2.1 Vitamín C

Základní biologicky aktivní sloučeninou je askorbová kyselina. Ze 4 možných izomerů vykazuje aktivitu pouze L-askorbová kyselina. Vitamín C se podílí na významných reakcích, které probíhají v organismu. Velmi důležitými reakcemi souvisejícími s antioxidačními vlastnostmi vitamínu jsou reakce s aktivními formami kyslíku resp. s volnými radikály a reakce s oxidovanými formami vitamínu E, které zabezpečují ochranu vitamínu E před oxidací. Inhibuje také tvorbu nitrosaminů. Denní dávka se doporučuje v rozmezí 60 – 200 mg. Deficience vitamínu C (hypovitaminóza) se projevuje nejčastěji jarní únavou. A nejvýznamnější akutní avitaminóza se projevuje syndromem kurděje (skorbut). Největšími a hlavními zdroji vitamínu C jsou ovoce a zelenina (paprika, černý rybíz, citrusy). Askorbo-

vá kyselina se používá jako antioxidant a chelatační činidlo. Má uplatnění jako potravinářské aditivum v konzervářské a v kvasné technologii a v technologii masa [37].

### 3.2.2 Vitamín E

Vitamín E patří do skupiny vitaminů rozpustných v tucích. Tyto vitamíny se uchovávají v těle delší dobu než druhá skupina vitaminů, které jsou rozpustné ve vodě (hlavně skupina vitaminů B a vitamín C). Vitamín E je souhrnný název pro skupinu látek označovaných jako tokoferoly. Vyskytují se ve čtyřech formách alfa, beta, gama a delta. Nejúčinnější a tudíž nejvyužívanější je alfa forma. Vitamín E má výrazné antioxidantní vlastnosti, což znamená, že zabraňuje vzniku toxických oxidačních produktů a volných kyslíkových radikálů, které působí negativně na organismus. Některé zdroje uvádějí, že chrání proti toxinům z cigaretového kouře a jiných znečišťujících látek. Vědci zatím zkoumají možnosti, zda vitamín E může pomáhat při boji proti nemocem, jako jsou rakovina či ateroskleróza a které souvisejí s působením volných radikálů [47].

### 3.2.3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou značně rozšířené žluté a oranžové, výjimečně také žlutozelené a červené, převážně lipofilní pigmenty rostlin, hub, řas a mikroorganismů. Dnes je známo asi 700 přirozeně se vyskytujících karotenoidních pigmentů. Z tohoto množství vykazuje asi 50 sloučenin aktivitu vitamínu A, které se nazývají provitamíny A, a řadí se mezi retinoidy [48]. Nejvýznamnější je  $\beta$ -karoten, který se od karotenu  $\alpha$  a  $\gamma$  liší rozložením dvojných vazeb a strukturou jononového kruhu a má účinnost 50 – 60 % retinolu. Dalšími karotenoidy jsou  $\alpha$ -karoten (účinnost 50 – 54 % retinolu),  $\delta$ -karoten (42 – 50 %),  $\gamma$ -karoten a další biologicky aktivní karotenoidy.  $\beta$ -karoten je ve značném množství přítomen v mrkvi, špenátu, šípkách, meruňkách, petrželi, celeru aj. Přetvoření karotenoidů na retinol probíhá v játrech [24]. Struktura každého karotenoidu určuje jeho barvu i fytochemické vlastnosti jeho molekuly. Molekuly většiny karotenoidů jsou tvořeny 40 uhlíkovými atomy a sestávají obecně z nenasyceného řetězce o 22 atomech uhlíku s metylovým větvením [48]. Karotenoidy jsou citlivé na světlo, zvláště v přítomnosti kyslíku z nich vznikají ketony, aldehydy apod. Ty reagují převážně s lipidy a zhoršují chuť i vůni potravin [49].

## 4 FENOLICKÉ LÁTKY

Fenolické látky se vyznačují tím, že alespoň jeden aromatický kruh obsahuje jednu nebo více hydroxylových skupin. Bylo identifikováno více než 8000 fenolických struktur a jsou široce rozšířené v celé rostlinné říši. Mohou být děleny podle počtu a uspořádání atomů uhlíku [50]. Mnohé z těchto látek jsou zastoupeny v běžných potravinách, zejména v ovoce, zelenině a některých nápojích [51].

Rostlinné fenoly jsou obecně charakterizovány jako aromatické sekundární metabolity, které mají jeden nebo více hydroxylů vázaných přímo na aromatickou část molekuly, tudíž hydroxylů s charakteristickými „kyselými“ vlastnostmi. Pojem polymerních fenolických látek není totožný s pojmem polyfenolů, které se stále častěji objevuje nejen v biologické, ale už i chemické odborné literatuře, ba i v názvech některých specializovaných vědeckých konferencí [52].

Samotný výraz „polyfenol“ je však velmi vágní a někdy matoucí, pouze naznačuje, že v molekule sloučenin je vyšší počet (2 – 20) fenolových hydroxylů, nehovoří však zároveň o povaze základního skeletu [53].

Polyfenoly jsou látky obsahující několik fenolických funkčních skupin na jednotlivých aromatických jádrech molekuly (někdy jen na jádre jediném). Nejběžnější typy rostlinných fenolických látek lze přehledně klasifikovat např. podle počtu uhlíků a jejich vzájemných vazeb [52]. Nejběžnějšími rostlinnými polyfenoly jsou flavonoidy, fenolové kyseliny a lignany. V současnosti roste zájem o studium těchto přírodních látek, protože jejich příjem v potravě je dáván do souvislosti se snížením výskytu závažných nemocí, jako je rakovina a kardiovaskulární choroby. Na celkovém příjmu polyfenolů se flavonoidy podílí asi ze dvou třetin, fenolové kyseliny přibližně jednou třetinou a ostatní polyfenoly (např. lignany a stilbeny) tvoří minoritní podíl [54]. Polyfenoly se do popředí úvah o možné antioxidační terapii dostávají teprve v posledních letech. Jsou to látky ubikvitární v rostlinné říši a jsou nejrozšířenějšími sloučeninami s redukčními účinky v naší stravě. Celkový denní příjem polyfenolů byl odhadnut na 1 g a je tedy vyšší než příjem antioxidačních vitaminů. V řadě experimentálních studií bylo také prokázáno, že antioxidační aktivita mnoha rostlinných fenolických látek je vyšší než účinek antioxidačních vitaminů [51].

Fenolické sloučeniny jsou velmi různorodá skupina přirozeně se vyskytujících látek, které lze rozdělit na fenolové kyseliny, třísloviny, kumariny, stilbeny, lignany a flavonoidy [55].

## 4.1 Fenolické látky čočky

Čočka je nejen výborným zdrojem látek, jako jsou bílkoviny, mastné kyseliny, vláknina a sacharidy, ale také obsahuje fytochemikálie, které jsou stále více uznávány pro jejich potenciální přínos pro lidské zdraví. Nedávné studie ukázaly, že většina fenolických látek se v čočce v podstatě nachází v jejich osemení, proto může mletí spolu s dalšími zpracovatelskými metodami výrazně změnit fenolické složení čočky. Bylo zjištěno, že osemení je velmi bohaté na katechin, avšak obsahuje i malé množství glykosidů kvercetinu, myricetinu, luteolinu a apigeninu, zatímco děloha obsahuje především hydroxybenzoovou a hydroxyskořicovou kyselinu, ale pouze v nízké koncentraci. Rovněž bylo zjištěno, že v osemení čočky jsou hlavní polyfenolovou skupinou proantokyanidiny, a to monomerní, oligomerní i polymerní formy. Polymery v osemení čočky tvoří 65 – 75 % přítomných proantokyanidinů [56]. Čočka obsahuje také dva flavan-3-oly, (+)- katechin a (-)+ epikatechin, jeden flavon, luteolin a také sinapovou kyselinu [26].

## 4.2 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou molekuly obsahující fenolický kruh a karboxylovou skupinu. Do skupiny fenolických kyselin se řadí deriváty kyseliny benzoové a deriváty kyseliny hydroxyskořicové. Některé z nich, například kyselina gallová, vanilová a syringová jsou odvozené metabolicky od kyseliny hydroxybenzoové. Ty jsou ve velké míře přítomny v čaji, některých červených plodech (jahody, maliny), černých ředkvích a cibuli. V ovoci a zelenině je obsah hydroxybenzoových kyselin nízký [7]. Kyselina gallová je nejčastější fenolová kyselina, je základní strukturální jednotkou hydrolyzovatelných taninů. Nejběžnějšími deriváty hydroxyskořicové kyseliny jsou kyselina kumarová, kávová, ferulová a sinapová [50]. Tyto kyseliny jsou zastoupeny všude v mnohem větší míře. Obvykle se nevyskytují volně, výjimkou jsou fermentované pokrmy, vařená nebo mražená jídla. Kyselina kávová spolu s kyselinou chinovou tvoří tzv. chlorogenovou kyselinu. Kyselina kávová je bohatě zastoupena v ovoci, zelenině, luštěninách, kávových zrnech nebo bramborách. Dietární přísun celkových fenolických kyselin je ze 75 – 100 % tvořen kyselinou kávovou. Káva je hlavním dietárním zdrojem hydroxyskořicových kyselin a obsahuje 15 – 350 mg kyseliny chlorogenové v jednom šálku. Kyselina ferulová je zase kyselinou nejvíce zastoupenou v obilovinách a celozrnných potravinách. Borůvky, třešně, kiwi a jablka jsou bohatým zdrojem hydroxyskořicových kyselin (500 – 2000 mg.kg<sup>-1</sup> jedlého podílu) [7]. Bylo zjištěno, že čočka obsahuje pět fenolových kyselin benzoového typu a jejich deriváty (kyselina

galová, protokatechinová, 2,3,4-trihydroxybenzoová, *p*-hydroxybenzoová a protokatechaldehyd). Dále obsahuje čtyři fenolické kyseliny skořicového typu (kyselina chlorogenová, *p*-kumarová, *m*-kumarová a sinapová). Ze všech těchto zjištěných látek byly hlavními fenolickými kyselinami kyselina gallová, chlorogenová a sinapová. Obsah kyseliny sinapové byl přibližně 10x vyšší než u ostatních dvou fenolických kyselin [57].

### 4.3 Třísloviny

Třísloviny (tanniny) jsou ve vodě rozpustné fenolové sloučeniny s relativní molekulovou hmotností od 500 do 3000. Mezi jejich charakteristické vlastnosti se řadí schopnost vytvářet nerozpustné komplexy s proteiny, polysacharidy, nukleovými kyselinami, nebo alkaloidy. Kromě této vlastnosti vykazují třísloviny řadu dalších biologických aktivit, které často souvisejí s jejich antioxidační aktivitou [53].

Jsou to deriváty vícefunkčních fenolů často vázané s cukry na složité estery. Dělí se na dvě skupiny, a to na hydrolyzovatelné třísloviny a kondenzované třísloviny. Hydrolyzovatelné tanniny se hydrolyticky štěpí zředěnými kyselinami nebo působením enzymů na stavební složky tj. kyselinu gallovou a kyselinu ellagovou. Kondenzované tanniny poskytují nerozpustné tmavohnědé sloučeniny zvané flobafeny [37, 58]. Kondenzované třísloviny jsou oligomerní nebo polymerní sloučeniny vycházející z flavan-3-olů (katechinů). Zcela běžně se v přírodě vyskytují pouze dva: (+)-katechin, resp. gallokatechin a (-)-epikatechin, resp. epigallokatechin [53]. Třísloviny jako přirozené složky potravin mají značný význam, neboť ovlivňují žádoucí i nežádoucí chuťové vlastnosti potravin. Žádoucí je přiměřená trpkost u čaje, kávy, kaka, červených vín a piv. Nežádoucí trpkost vykazuje nezralé ovoce, např. banány. U některých nápojů a ovocných šťáv vznikají díky přítomnosti tříslovin zákal. Třísloviny spolupůsobí při vytváření chuti. Jsou reaktivní, snadno se oxidují na polyfenolické sloučeniny až na tmavě zbarvené chinony a se solemi kovů tvoří sraženiny [37, 58].

### 4.4 Kumariny

Kumariny patří do skupiny aromatických látek vyskytujících se volné formě nebo glykosidicky vázané ve sloučeninách. Získávají se extrakcí z rostlinných zdrojů pomocí organických rozpouštědel. Doposud bylo popsáno více jak 150 rostlinných druhů z 30 čeledi rostlin, které obsahují kumariny. Kumariny zabraňují srážení krve, tlumí křeče, podporují srdeční činnost, ovlivňují vstřebávání vápníku, odpuzují hmyz a jiné. Jedním z nejčastějších

se vyskytujících přírodních derivátů kumarinu je umbeliferon (7-hydroxykumarin). Vyznačuje se schopností absorbovat ultrafialové záření ze slunce [59].

#### 4.5 Stilbeny

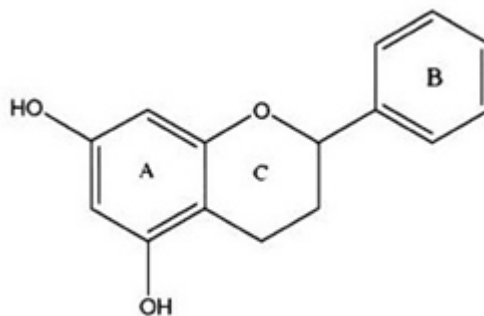
Flavonoidům jsou strukturou a biochemickým původem příbuzné deriváty uhlovodíku stilbenu. Stilbeny se vyskytují v celé řadě rostlin a jsou v nich syntetizovány z kyseliny skořicové. Hlavním zástupcem této skupiny je resveratrol, což je látka která je ve vysokých koncentracích obsažená ve víně. Resveratrol je strukturně jednodušší než kterýkoliv flavonoid. Červená vína obsahují kolem  $8 \text{ mg.l}^{-1}$  resveratrolu. U růžových vín je koncentrace mezi  $1 - 3 \text{ mg.l}^{-1}$ . Bílá vína resveratrol neobsahují [7].

#### 4.6 Lignany

Lignany jsou poměrně rozsáhlou skupinou sekundárních metabolitů cévnatých rostlin se zajímavými fyziologickými účinky. Skládají se ze dvou fenylypropanových jednotek, které jsou spojeny přes centrální ( $\beta$ ) uhlíky obou postranních řetězců. V současnosti je známo více jak 200 lignanů nacházejících se ve více než 70 čeledích rostlin. Mohou se vyskytovat v rostlinách ve formě glykosidů. Jedná se o sloučeniny, které vykazují antimikrobiální, antimitotické, antivirové, antioxidační a antinutriční vlastnosti. Lignany se nacházejí hojně u nahosemenných rostlin (jehličnanů) a u dvouděložných rostlin. Byly nalezeny prakticky ve všech částech rostlin, typická je jejich přítomnost ve dřevě a kůře stromů a pryskyřicích [60]. Dále jsou přítomné ve vysokých koncentracích ve lněných semenech, dále v obilovinách, luskovinách, ovoci a zelenině [7].

#### 4.7 Flavonoidy

Flavonoidy jsou vytvářeny v rostlinách z aromatických aminokyselin fenylyalaninu a tyrozinu. Základní strukturu tvoří flavan, který se skládá z 15 atomů uhlíku, uspořádaných do tří kruhů (C6–C3–C6), které jsou označeny jako A, B, a C (obr. 2). Různé druhy flavonoidů se liší v úrovni oxidace a způsobu náhrady kruhu C a jednotlivé sloučeniny v rámci jedné skupiny se liší ve způsobu nahrazení A a B kruhů [61]. Flavonoidy jsou deriváty fenylochromanu a odvozují se od tří základních skeletů: flavan, izoflavan a neoflavan.



Obr. 2 Základní struktura flavonoidů [62]

Neoflavany jsou velmi vzácné, takže nemají prakticky žádné terapeutické využití. Vedle zajímavých biologických účinků, fungují flavonoidy rovněž jako rostlinná barviva dodávající žlutou, červenou až modrou barvu [39]. Kromě různých druhů ovoce a zeleniny se flavonoidy nachází také v semenech, obilí, koření a v různých léčivých rostlinách, stejně tak i v nápojích, jako je víno (zvláště červené), čaj a v menší míře pivo. Izoflavony se vyskytují nejčastěji v luštěninách, včetně sójových bobů, černých fazolí, zelených fazolí a cizrny [61]. Flavony, flavonoly, flavanony, antokyanidiny a antokyany tvoří největší a nejrozmanitější skupiny flavonoidů. Ačkoli ovoce a zelenina jsou primární potravinové zdroje flavonoidů, mohou obiloviny a luštěniny také přispívat k jejich dennímu příjmu. Flavonoidy jsou skupinou sloučenin, které byly dobře zdokumentovány jako donory vodíku, radikálů a chelatační činidla [63]. Působí také jako antioxidanty, antimikrobiální látky, fotoreceptory a jiné. Stejně jako u fenolických kyselin, antioxidantní aktivita flavonoidů je závislá na počtu a umístění hydroxylových skupin. Mnohé studie ukazují, že flavonoidy vykazují biologickou, antialergickou, antivirovou, protizánětlivou a vasodilatorní aktivitu [61]. V rostlinách se flavonoidy vyskytují převážně jako  $\beta$ -glykosidy. Sacharidovou složkou je nejčastěji glukóza nebo ramnóza, může to být také glukuronová kyselina, galaktóza nebo jiný sacharid. Nejčastěji je připojen jeden glykosyl, někdy však jsou substituovány dva nebo tři hydroxyly polyfenolu. Z flavonoidů se v potravě nejčastěji vyskytují oligomerní proanthokyanidiny a flavanoly (katechiny) [54]. Odhadovaný příjem flavonoidů ve výživě člověka je v rozmezí několika desítek až stovek gramů za den, v závislosti na výživových zvyklostech. Bylo např. prokázáno, že japonská populace má vyšší příjem flavonoidů, což je přičítáno konzumaci zeleného čaje [51,50].

Dále flavonoidy mohou ovlivňovat metabolismus kyseliny askorbové. V současné době se flavonoidům věnuje velká pozornost z hlediska jejich interakce s volnými radikály a jejich potenciálních aplikací v preventivní imunoterapii. Má se za to, že volné radikály jsou

odpovědné za změny nukleových kyselin, za mutace, jsou možnými iniciátory a podpůrnými činiteli karcinogeneze a poškození buněk, neboť mají schopnost reagovat s fosfolipidy membrán. Odstraňovat volné radikály mohou vedle flavonoidů též některé lignany a metabolity v denní stravě. V širším pohledu, mnohé další látky (zvláště tokoferoly) reagují s volnými radikály a zabraňují degradaci těchto škodlivin na látky s větší reaktivností [64].

#### 4.7.1 Antokyanidiny a antokyany

Antokyanidiny a jejich glykosidy antokyany jsou jedny z nejrozšířenějších polyfenolických látek v přírodě. Sacharid se nejčastěji na tyto aglykony váže v poloze 3 a 5, jde především o glukózu, galaktózu, ramnózu, arabinózu, rutinózu a soforózu. V poloze 5 je vždy glukóza. Sacharidy, především v poloze 3, mohou být i acylovány deriváty skořicové kyseliny, nejčastěji *p*-kumarovou, kávovou a ferulovou kyselinou [49, 65]. Antokyany patří k nejrozšířenějším rostlinným pigmentům, které dávají většině květů, plodů a dalším částem rostlin červenou, růžovou, purpurovou, modrou či fialovou barvu [64]. Většinou jde o velmi složitou směs glykosidů šesti základních antokyanidinů pelargonidinu, kyanidinu, peonidinu, delphinidinu, petunidinu a malvidinu [65]. Zatím bylo v nejrůznějších rostlinných druzích ze 12 čeledí identifikováno asi 300 různých antokyanů. V buňce jsou lokalizovány ve vakuolách. Antokyany jsou rozpustné ve vodě a v alkoholech, nerozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech (chloroform, aceton, eter aj.). V neutrálním či alkalickém prostředí jsou nestabilní [64].

Hlavní antokyan, který je obsažen v luštěninách, je kyanidin-3-glukosid. Antokyany obsažené v luštěninách mají protizánětlivé, antikarcinogenní, protinádorové a antimutagenní vlastnosti, ale také zlepšují prostorovou paměť a zabraňují oxidaci lipoproteinů s nízkou hustotou [66].

#### 4.7.2 Flavanoly

Flavanoly se vyskytují ve velké míře v červeném víně, čokoládě a především v čaji. V zeleném čaji jsou obsaženy ve větším množství než v černém čaji. Během fermentace černého čaje je obsah flavanolů redukován na komplexnější polyfenolické látky. Hlavními flavanoly jsou katechiny, např. katechin, epikatechin, epigallokatechin a jejich estery s kyselinou gallovou [67]. Katechiny jsou deriváty flavanu. Jejich základní složkou je flavan-3-ol. Přítomnost několika asymetrických center v jejich molekule je příčinou velkého počtu



izomerů, které se vyskytují v přirozených materiálech. Nejrozšířenější jsou však (+)-katechin a (-)-epikatechin. Oba tyto katechiny se vyskytují v rostlinných materiálech většinou společně, i když v některých případech v různých koncentracích a v různých poměrech [65].

#### 4.7.3 Flavanony

Flavanony patří mezi minoritní flavonoidy. Jejich výskyt je omezen jen na specifické druhy ovoce a zeleniny, jsou však důležité pro některé skupiny populace. Flavanony jsou přítomny zejména v citrusových plodech. Příkladem je hesperidin, neohesperidin a naringin. Neohesperidin a naringin jsou látky zodpovědné za hořkou chuť grapefruitových a pomerančových džusů, ve kterých jsou obsaženy ve vyšších koncentracích než v dužině [7].

#### 4.7.4 Chalkony

Chalkony a dihydrochalkony nejsou v potravinářsky významných rostlinných materiálech příliš zastoupeny, mají ale význam jako barviva květů mnoha rostlin (např. hledíku a kráskeny). Jsou i barvivy dřevní hmoty stromů a semen luštěnin. Z chalkonů je významný především lutein. V chalkonech je vždy přítomna hydroxyskupina na C-2, která pochází z pyranového kruhu flavanonů, ze kterých chalkony vznikají [38, 49].

#### 4.7.5 Flavony

Flavony jsou spolu s flavonoly nejrozšířenějšími žlutými pigmenty rostlin. Běžnými sloučeninami v potravinách jsou flavony substituované na C-5 a C-7. Běžným substituentem je hydroxylová a metoxylová skupina. Častými flavony jsou především apigenin a luteolin [38]. Velké množství luteolinu je obsaženo v rostlinách rýtu barvířském (nať) nebo olši jorullenské a šalvěji. Dále se nachází v zelenině, například v petrželi, artyčoku nebo bazalce. Luteolin a jeho glykosidy jsou zodpovědné za žlutou barvu rostlin, které byly využívány jako přírodní žlutá barviva pro barvení textilií a vlny už od starověku. Luteolin byl také nalezen v heřmánku lékařském, který významně zpomaluje účinky UV záření a tím působí proti kožnímu spálení [68].

#### 4.7.6 Flavonoly

Flavonoly jsou společně s flavony důležitými žlutými barvivy. Všechny významnější flavonoly vyskytující se v potravinách mají v poloze C-3, C-5, C-7 a C-4' hydroxyskupinu a vzájemně se liší substitucí v poloze C-3' a C-5'. Téměř univerzálními flavonoly jsou kem-

ferol, kvercetin a myricetin, které se vyskytují hlavně jako glykosidy a jako kopigmenty doprovázejí antokyany [38].

Jedním z nejvýznamnějších flavonoidů ve výživě člověka je flavonol kvercetin, který se nachází ve vysokých koncentracích např. v cibuli, jablkách, červeném víně, zeleném a černém čaji. V těchto zdrojích se nachází jednak ve formě volné, jednak vázán s cukernými jednotkami [67]. V přírodě bylo nalezeno téměř 180 glykosidů kvercetinu. Bylo zjištěno, že kvercetin se účastní enzymatického i neenzymatického hnědnutí potravin. Dále má také farmakologické a terapeutické účinky, jako jsou např. inhibice některých enzymů, antioxidační schopnosti a antihepatotoxický, protinádorový, protizánětlivý a antialergický účinek [68].

#### 4.7.7 Izoflavonoidy

Dnes je známo téměř 900 izoflavonoidů, z nichž některé jsou typické pro čeleď *Viciaceae* (vikvovitě). V menším rozsahu se izoflavonoidy vyskytují v čeledi *Amaranthaceae*, *Iridaceae* a *Rosaceae*. Podle struktury se rozdělují do 12 typů v závislosti na stupni oxidace a přítomnosti heterocyklů. Podobně jako flavonoidy, izoflavonoidy mohou tvořit dimery a oligomery (např. bis-izoflavony), zrovna tak jako adukty s deriváty skořicové kyseliny. Izoflavonoidy vystupují v rostlinách jako fytoalexiny. To znamená, že tyto látky tvoří rostlina ke své přirozené obraně proti patogenním činitelům, nejčastěji při napadení nižšími houbami. Hlavními představiteli izoflavonoidů jsou izoflavony [64]. V rostlinách se izoflavony vyskytují převážně jako 7- $\beta$ -D glykosidy. Izoflavony a některé jejich deriváty vykazují estrogenní účinky, některé také antimikrobiální účinky. Jako skupina chemických látek jsou izoflavony a jejich deriváty podstatně biologicky aktivnější než jim odpovídající flavony. Izoflavony s estrogenními účinky se nacházejí především v chloroplastech a v nadzemních orgánech rostliny [64]. Izoflavony se vyskytují nejčastěji v luskovinách. Největším zdrojem je sója obsahující daidzein, glycitein a genistein. Obecně se dá říci, že koncentrace izoflavonů se pohybují kolem 10 – 300 mg.100 g<sup>-1</sup> luskoviny. Příjem v asijských zemích vysoko převyšuje jejich příjem v Evropě, např. v Japonsku je v průměru 20 mg denně, v Evropě kolem 5 mg [7].

## 5 VLIV KLÍČENÍ A VAŘENÍ NA ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITU

Klíčení je jedním z nejučinnějších postupů ke zlepšení kvality luštěnin. Klíčení je hospodárná a efektivní technologie, která zahrnuje fyziologické změny, syntézu a štěpení makromolekul, zlepšení stravitelnosti a nutriční hodnoty luštěnin. Četné studie prokázaly vyšší úroveň živin. Vitamíny a některé další sloučeniny, které by mohly být považovány za prospěšné jako antioxidanty, se často v průběhu klíčení dramaticky mění [69].

Naklíčená semena se nazývají klíčky. Jsou velmi populární v asijské kuchyni, i když v současné době jejich spotřeba roste i v západních zemích. Jsou ceněny pro jejich lepší organoleptické vlastnosti, a také pro jejich zdravotní výhody v porovnání se syrovými semeny [70].

Vyklíčená semena mají vysokou výživovou hodnotu, již po krátkém klíčení se několikanásobně zvýší obsah vitamínů A, C a E, enzymy podněcují látkovou výměnu a obsažené stopové prvky, jako je draslík, železo a jód, zlepšují náš zdravotní stav [4].

Při klíčení čočky dochází ke zvýšení hladiny volných aminokyselin a vitamínů (kyselina askorbová, riboflavin, tiamin a niacin). Kromě toho obsah antinutričních látek (inhibitory trypsinu, fytáty, galaktosidy a saponiny) v důsledku klíčení klesá. Během klíčení se snižuje obsah hlavních prokyanidů a dále *p*-kumarové kyseliny [71].

Celkový obsah fenolických látek a také antioxidační aktivita se po uvaření luštěnin významně snižuje, a to z důvodu vyluhování části rozpustných látek do vody při máčení a vaření [69, 72, 73]. Xu a Chang [72] zjistili, že většina polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita v černých sójových bobech jsou ztraceny během vaření. Běžné vaření ve vodě způsobuje podle této studie větší ztráty polyfenolů a flavonoidů než vaření v páře, což lze přičíst faktu, že se fenoly vyplavují do námáčecí vody.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit celkový obsah polyfenolických látek, celkový obsah flavonoidů a antioxidační aktivitu v 7 druzích čočky jedlé (velkozrná, červená loupaná, francouzská, tmavozelená, beluga, žlutá půlená a červená neloupaná) dostupných v běžné obchodní síti. Byl sledován vliv klíčení a vaření na tyto parametry. Pro dosažení tohoto hlavního cíle bylo potřeba splnit následující dílčí cíle:

- zpracovat literární rešerži týkající se především čočky a antioxidantů;
- uvařit a naklíčit vzorky čočky a stanovit u nich:
  - a) celkový obsah polyfenolických látek metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem
  - b) celkový obsah flavonoidů metodou s  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
  - c) antioxidační aktivitu metodou s DPPH
- získané výsledky statisticky vyhodnotit a diskutovat s odbornou literaturou.

## 7 METODIKA PRÁCE

### 7.1 Chemikálie

Metanol (Penta)

Etanol (Penta)

Dusitan sodný (Petr Lukeš)

Hexahydrát chloridu hlinitého (Penta)

Hydroxid sodný (Petr Lukeš)

Uhličitan sodný (Lachema)

Kyselina gallová (Acros Organics)

Rutin (Sigma Aldrich)

Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma Aldrich)

1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl (DPPH; Sigma Aldrich)

Trolox (Sigma Aldrich)

### 7.2 Přístroje a pomůcky

Sušárna Venticell (BMT Medical Technology)

Elektrický mlýnek Combi Star (Waldner Biotech)

Ponorný mixér (Braun)

Analytické váhy Adam (Schoeller Instruments)

Třepačka (Hettich)

UV/VIS Spektrofotometr Libra S6 (Biochrom)

Mikropipeta mechanická (Biohit)

Filtrační papír (Filtrak)

Mikrofiltry 0,45  $\mu\text{m}$  (Cronus Syringe Filter)

Běžné laboratorní sklo a pomůcky

### 7.3 Analyzované vzorky

K analýze bylo použito celkem 7 vzorků čočky jedlé, které byly zakoupeny v prodejně zdravé výživy ve Zlíně. Bližší charakteristika je uvedena v Tab. 2.

Tab. 2: Charakteristika analyzovaných vzorků čočky

vzorek	výrobce/dodavatel	země původu
Čočka velkozrnná	Zdraví z přírody	EU
Červená čočka neloupaná	Zdraví z přírody	Turecko
Červená loupaná	Zdraví z přírody	Kanada
Čočka tmavozelená	Zdraví z přírody	Kanada
Čočka beluga	Davert	Kanada
Čočka žlutá	Arax	Kanada
Čočka zelená francouzská	Arax	Francie

#### 7.3.1 Příprava vzorků

Analyzovány byly jak vzorky čočky v syrovém stavu, tak i po uvaření a naklíčení. Z neotevřeného balení bylo odebráno 300 g čočky, které byly rozděleny na 3 části po 100 g. První část byla rozemleta na jemnou mouku, která byla uskladněna v neprůhledných ampulích v klimatizované laboratoři při  $21 \pm 1$  °C po dobu max. 7 dní. Druhá část vzorků čoček byla přes noc namočená do studené vody (s výjimkou loupaných druhů čoček, které před vařením není třeba namáčet), následně byla voda slita a čočka byla uvařena v dostatečném množství vody do měkka (15 – 20 minut v závislosti na druhu čočky). Třetí část vzorků čoček byla přes noc namočená do studené vody. Nabobtnalá zrna byla následně přenesena na Petriho misky s navlhčenou vatou a ponechána klíčit po dobu 4 dní. V průběhu klíčení byly vzorky 2x denně vlhčeny vodou. Naklíčené vzorky byly získány pouze z 5 druhů čočky, protože loupané druhy čočky (červená a žlutá) ztratily po odstranění obalových vrstev a klíčků schopnost klíčit. Uvařené a naklíčené vzorky čočky byly homogenizovány tyčovým mixérem a uskladněny v neprůhledných ampulích v lednici při  $6 \pm 1$  °C po dobu max. 24 hodin.

### 7.3.2 Extrakce vzorků

Pro stanovení polyfenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivity vzorků bylo nutné provést extrakci. Syrové, vařené i klíčené vzorky čočky byly extrahovány metanolem vždy ve dvou opakováních. K naváženému množství čočky ( $5 \pm 0,0001$  g) bylo přidáno 10 ml metanolu a vzorky byly v uzavřených ampulích v temnu třepány na třepačce po dobu 24 hodin. Získaný extrakt byl následně přefiltrován nejdříve přes papírový filtr a poté i přes stříkačkový mikrofiltr (velikost pórů  $0,45 \mu\text{m}$ ).

### 7.4 Stanovení sušiny

Sušina představuje všechny složky obsažené v potravinách, kromě vody a plynů, které zůstanou po záhřevu a odparu při teplotě  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  až do konstantního úbytku hmotnosti. Jedná se o přesné stanovení procentuálního podílu látek z původní 100% hmotnosti. Komplementárním doplňkem sušiny je vlhkost. Součet obou komplementárních podílů, tedy sušiny a vlhkosti musí dát vždy 100 % původní hmotnosti [74].

Váženky byly vysušeny při teplotě  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  a po vychladnutí v exsikátoru byly zváženy. Bylo do nich naváženo 5 g vzorku s přesností na desetinu miligramu a vzorky byly sušeny při  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  do konstantního úbytku hmotnosti (dokud rozdíl mezi dvěma posledními váženími nebyl menší než 1 mg) [75].

Výpočet vlhkosti:

$$V = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100$$

kde:

V.....vlhkost vzorku v % hm.

$m_1$ .....hmotnost vysušené prázdné misky [g]

$m_2$ .....hmotnost misky se vzorkem před vysušením [g]

$m_3$ .....hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

Výpočet sušiny:

Obsah sušiny [% hm] =  $100 - \text{vlhkost v \%}$



## 7.5 Stanovení celkového obsahu polyfenolických látek

V laboratořích jsou polyfenoly stanovány pomocí Folin-Ciocalteuova činidla, kdy dochází k oxidaci polyfenolů. Toto činidlo je tvořeno ze směsi fosfomolybdenové a fosfowolframové kyseliny. Činidlo je po oxidaci fenolů redukováno za vzniku oxidů molybdenu a wolframu, což se projeví modrým zbarvením směsi. Modré zbarvení má maximum absorpance v oblasti 765 nm a je úměrné původnímu celkovému množství fenolických sloučenin přítomných ve vzorku [76].

Na analýzu bylo do 10 ml odměrné baňky pipetováno 0,1 ml extraktu, asi 5 ml destilované vody, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a poté byla odměrná baňka doplněna po rysku destilovanou vodou. Stejný postup byl použit na slepý pokus (blank) s tím rozdílem, že se nepřidával extrakt. Po 30 minutách od přidání vzorku byla u vzorků změřena absorpance na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Každý extrakt byl měřen 3x ( $n = 6$ ) [77].

### 7.5.1 Kalibrační křivka

Pro kalibraci byl nejprve připraven zásobní roztok kyseliny gallové v metanolu o koncentraci  $4000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Z toho zásobního roztoku byly připraveny koncentrace 50, 100, 200, 400, 600, 800  $\text{mg.l}^{-1}$ . Kalibrační řada byla připravena stejně, jak je uvedeno výše, jen místo vzorku byla pipetována příslušná koncentrace standardu. Absorbance byla opět měřena při 765 nm. Z rovnice regrese kalibrační křivky byl vypočítán celkový obsah polyfenolů (TPC – total phenolic content), který byl vyjádřen v mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE – gallic acid equivalent) na 1 kg vzorku a následně ještě vztažen na sušinu [78].

## 7.6 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Stanovení obsahu celkových flavonoidů bylo provedeno spektrofotometrickou metodou za použití chloridu hlinitého a dusitanu sodného. Absorbance byla měřena při 506 nm [79].

Ke každému stanovení bylo do kádinky pipetováno 0,85 ml extraktu vzorku spolu s 8,5 ml 20% etanolu a 0,375 ml  $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaNO}_2$ . Po 5 minutách bylo přidáno 0,375 ml  $0,3 \text{ mol.l}^{-1} \text{ AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Po dalších pěti minutách bylo přidáno 2,5 ml  $1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$ . Absorbance byla změřena při vlnové délce 506 nm. Jako slepý vzorek (blank) byl použit etanol. Každý extrakt byl změřen 3x ( $n = 6$ ).

### 7.6.1 Kalibrační křivka

Jako standard byl použit rutin v metanolu o koncentraci  $10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Tento zásobní roztok byl následně použit pro přípravu roztoků kalibrační řady o koncentracích: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 a  $1,4 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Kalibrační řada byla připravena stejně, jak je uvedeno výše, jen místo vzorku byla pipetována příslušná koncentrace standardu. Absorbance byla opět měřena při 506 nm. Z rovnice regrese kalibrační křivky byl vypočítán celkový obsah flavonoidů (TFC – total flavonoid content), který byl vyjádřen v mg ekvivalentu rutinu (RE – rutin equivalent) na 1 kg vzorku a následně ještě vztažen na sušinu.

## 7.7 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Antioxidační aktivitu látek lze změřit metodami chemickými i fyzikálními. Nejčastěji se využívají metody založené na eliminaci kyslíkových nebo syntetických radikálů (ABTS, DPPH). Metoda využívající schopnost antioxidantů zhaset radikálový kation ABTS je jednou ze základních metod pro stanovení antioxidační aktivity. Další metoda využívá schopnosti antioxidantů zhaset radikál DPPH, což je stabilní volný radikál, který může být díky své struktuře akceptorem atomu vodíku, čímž přechází do formy stabilní molekuly. Metoda spočívá v reakci testované látky s DPPH. Redukce DPPH antioxidantem se projevuje odbarvením roztoku z tmavě fialové na světle fialovou až žlutou [80].

Ze zásobního roztoku DPPH v metanolu o koncentraci  $0,24 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  byl připraven pracovní roztok (zásobní roztok a metanol v poměru 1:4,5). K analýze bylo odebráno 8,55 ml pracovního roztoku, ke kterému bylo přidáno 450  $\mu\text{l}$  extraktu vzorku. Úbytek absorbance byl měřen po 60 minutách při vlnové délce 515 nm. Úbytek absorbance v % byl vypočítán ze vztahu:

$$\text{úbytek absorbance (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100$$

kde  $A_0$  je absorbance pracovního roztoku a  $A_1$  je absorbance vzorku.

Jako slepý vzorek (blank) byl použit metanol. Každý extrakt byl změřen 3x ( $n = 6$ ) [80].

### 7.7.1 Kalibrační křivka

Na sestavení kalibrační křivky byl použit jako standard trolox v metanolu o koncentraci  $800 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentraci

200, 160, 120, 80 a 40 mg.l<sup>-1</sup>. Kalibrační řada byla připravena stejně, jak je uvedeno výše, jen místo vzorku byla pipetována příslušná koncentrace standardu. Absorbance byla opět měřena při 515 nm. Z rovnice regrese kalibrační křivky byla vypočítána antioxidační aktivita (AA), která byla vyjádřena v mg antioxidační aktivity ekvivalentu troloxu (TEAC – trolox equivalent antioxidant capacity) na 1 kg vzorku a následně ještě vztažena na sušinu.

## 7.8 Statistické hodnocení výsledků

Výsledky stanovení obsahu sušiny, polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity byly statisticky hodnoceny za použití parametrického testu srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých souborů na hladině významnosti 5 %. Ke statistickému hodnocení byl použit program StatK25. Pro výpočet směrodatných odchylek a korelačních koeficientů byl využit program MS Excel.

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 8.1 Stanovení sušiny

Sušina syrových vzorků čočky byla stanovena z důvodu jednotného vyjádření výsledků TPC, TFC a AA u syrových, vařených i klíčených vzorků. Bylo postupováno podle metodiky charakterizované v kapitole 7.4. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 3.

Tab. 3: Výsledky stanovení sušiny v analyzovaných druzích čočky

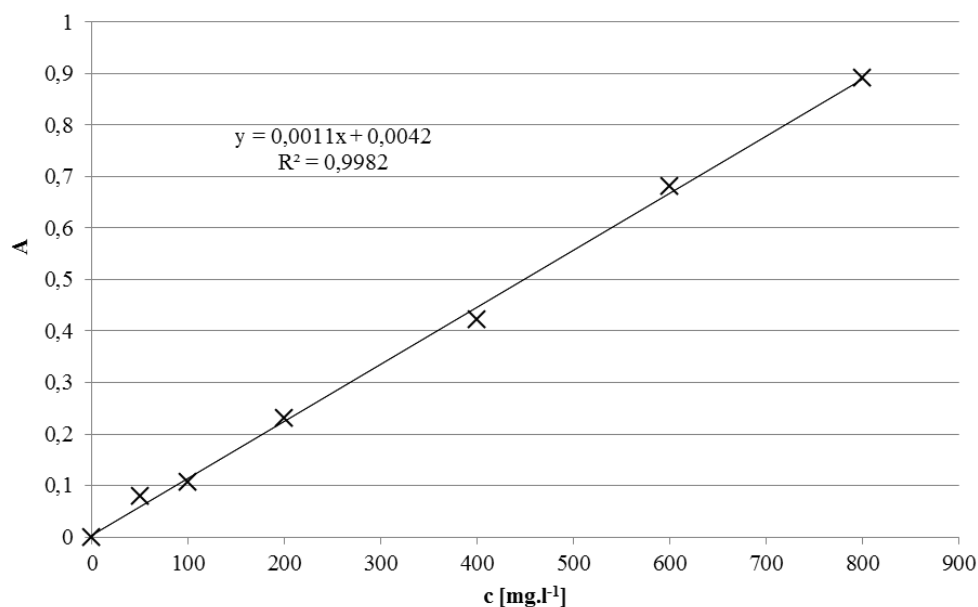
Vzorek	Sušina (%)
Čočka velkozrná	90,89 ± 0,18 <sup>a</sup>
Čočka červená neloupaná	90,97 ± 0,13 <sup>a</sup>
Čočka červená loupaná	91,51 ± 0,15 <sup>b,d</sup>
Čočka tmavozelená	90,97 ± 0,19 <sup>a</sup>
Čočka černá	91,85 ± 0,11 <sup>c</sup>
Čočka žlutá loupaná	91,37 ± 0,09 <sup>d</sup>
Čočka francouzská	90,47 ± 0,11 <sup>e</sup>

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 3). Průměrné hodnoty ve sloupci následované různými horními indexy se statisticky významně liší ( $P < 0,05$ ).

U syrových druhů čočky se stanovené hodnoty sušiny nacházely v rozmezí 90,47 – 91,85 %, což se víceméně shoduje s hodnotami uvedenými v literatuře. Podle *National Nutrient Database for Standard Reference* se průměrný obsah sušiny v syrových druzích čočky pohybuje kolem 90,2 % [81]. Nejnižší obsah byl zjištěn u čočky francouzské ( $P < 0,05$ ), nejvyšší obsah sušiny byl stanoven u čočky černé ( $P < 0,05$ ).

### 8.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolických látek

U vzorků syrové, vařené a naklíčené čočky bylo provedeno stanovení celkového obsahu polyfenolických látek Folin-Ciocalteuovou metodou (viz kapitola 7.5). Kalibrační přímka je uvedena na Obr. 3. Z její regresní rovnice byl vypočítán celkový obsah polyfenolických látek ve vzorku vyjádřený v mg GAE.kg<sup>-1</sup>. Výsledky tohoto stanovení přepočítané na sušinu jsou zaznamenány v Tab. 4.



Obr. 3: Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolických látek

Tab. 4: Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolických látek (TPC) v analyzovaných druzích čočky

VZOREK	TPC (mg GAE.kg <sup>-1</sup> sušiny)		
	Syrová	Vařená	Klíčená
Čočka velkozrná	1208,3 ± 65,4 <sup>a</sup> A	5,9 ± 0,3 <sup>a,c</sup> B	1966,2 ± 102,6 <sup>a</sup> C
Čočka červená neloupaná	1089,9 ± 42,7 <sup>b</sup> A	4,6 ± 0,2 <sup>b</sup> B	1599,8 ± 98,1 <sup>b</sup> C
Čočka červená loupaná	846,9 ± 34,2 <sup>c</sup> A	3,1 ± 0,1 <sup>c</sup> B	NS
Čočka tmavozelená	1425,4 ± 54,8 <sup>d</sup> A	6,0 ± 0,3 <sup>a</sup> B	2096,3 ± 108,2 <sup>a</sup> C
Čočka černá	1650,4 ± 105,7 <sup>e</sup> A	8,8 ± 0,4 <sup>d</sup> B	2615,8 ± 153,6 <sup>c</sup> C
Čočka žlutá loupaná	883,6 ± 43,0 <sup>c</sup> A	4,8 ± 0,2 <sup>b</sup> B	NS
Čočka francouzská	1293,3 ± 67,8 <sup>a</sup> A	5,5 ± 0,3 <sup>c</sup> B	2390,6 ± 113,9 <sup>d</sup> C

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 6). Průměrné hodnoty ve sloupcích (vliv druhu čočky) následované různými horními indexy se statisticky významně liší ( $P < 0,05$ ). Průměrné hodnoty v řádcích (vliv úpravy čočky) následované alespoň jedním stejným velkým písmenem se statisticky významně neliší ( $P \geq 0,05$ ). NS – nestanoveno.

V syrové čočce upravené pouze mletím se obsah polyfenolů pohyboval v rozmezí 846,9 – 1650,4 mg GAE.kg<sup>-1</sup> sušiny. Nejnižší obsah vykazovala čočka červená a žlutá loupáná ( $P \geq 0,05$ ), a naopak nejvyšší čočka černá ( $P < 0,05$ ). Ve vařené čočce byl obsah polyfenolů výrazně (až 300x) nižší ( $P < 0,05$ ), pohyboval se v rozmezí 3,1 – 8,8 mg GAE.kg<sup>-1</sup> sušiny. Nejnižší obsah polyfenolů vykazovala čočka červená loupáná ( $P < 0,05$ ), nejvyšší obsah polyfenolů ve vařené čočce byl u čočky černé ( $P < 0,05$ ). Naklíčené druhy čočky vykazovaly obsah polyfenolů v rozmezí 1599,8 – 2615,8 mg GAE.kg<sup>-1</sup> sušiny, tedy asi 1,5x vyšší oproti syrovým druhům ( $P < 0,05$ ). Nejnižší hodnota patřila čočce červené neloupané ( $P < 0,05$ ), naopak nejvyšší obsah polyfenolů byl stanoven u čočky černé ( $P < 0,05$ ).

Jak je patrné z Tab. 4, bez ohledu na způsob úpravy čočky, byl nejvyšší celkový obsah polyfenolů stanoven vždy u čočky černé ( $P < 0,05$ ), následované čočkou tmavozelenou a francouzskou. Vysoký obsah polyfenolů v barevných druzích luštěnin, ve srovnání se světlejšími druhy, je běžně popisovaným jevem. Např. Segev a kol. [73] uvádí vyšší obsah polyfenolických látek v barevných odrůdách cizrny. Podobně Xu a kol. [82] stanovili vyšší TPC u červené a zelené čočky, ve srovnání se žlutou čočkou.

Naopak nejnižší obsah polyfenolických látek byl v této práci stanoven u loupáných druhů čočky (syrových a vařených), resp. u červené čočky v případě klíčených vzorků. Nízký obsah polyfenolů u loupáných luštěnin, způsobený odstraněním obalových vrstev bohatých na polyfenoly, popsali např. Segev a kol. [73]. V této práci bylo zjištěno, že izolované slupky z barevných odrůd cizrny obsahují velké množství polyfenolů. Naopak běžné odrůdy cizrny, které mají béžově zbarvená semena, mají nízkou hladinu celkových fenolových látek

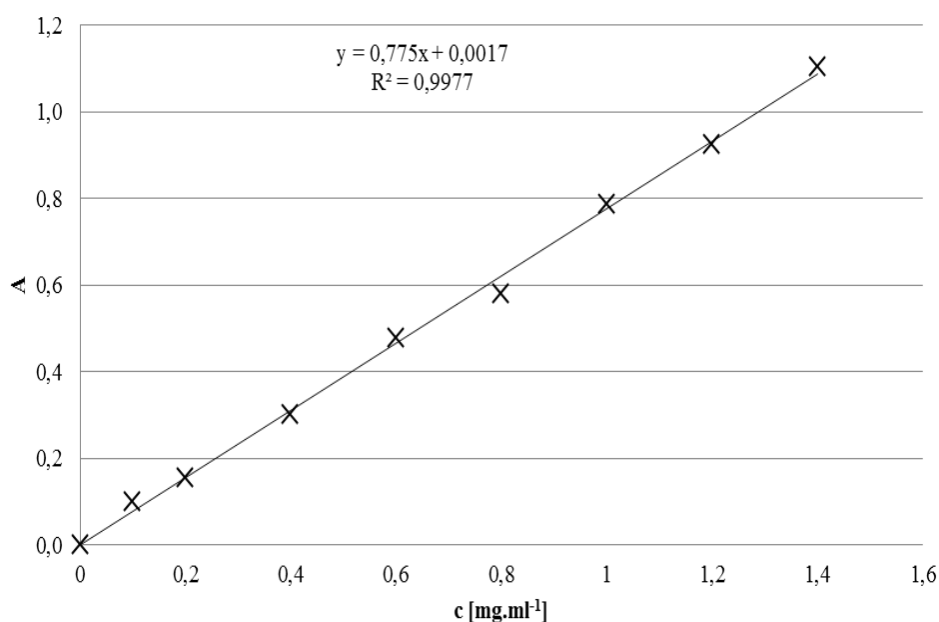
Xu a Chang [72] uvádí obsah polyfenolů v sušině vařené čočky 3,24 mg GAE.kg<sup>-1</sup>. Tento údaj odpovídá námi stanovené hodnotě TPC pro červenou loupanou čočku, ostatní námi zjištěné hodnoty jsou vyšší. Rozdíly mohly být způsobeny odlišnou metodikou použitou v této publikaci. Pokles TPC vlivem vaření způsobený vyluhováním rozpustných polyfenolů do vody byl u luštěnin popsán v mnoha studiích [69, 72, 83, 84, 85]. Xu a Chang [72] ve své publikaci uvedli, že úbytek fenolických látek následkem vaření je 30 – 40 % u fazolí, 40 – 50 % u hrachu a cizrny a 50 – 68 % v případě čočky. Wolosiak a kol. [84] zjistili, že vaření způsobuje pokles polyfenolů o 55 %. Další publikace [69] uvádí snížení množství fenolů ve vařených luštěninách o 73 %. Naproti tomu Hithamani a Krishnapura [85] stanovili pokles obsahu polyfenolů v mungo fazolích a cizrně během vaření jen o 27 %. Auto-klávkování fazolí zapříčinilo snížení obsahu fenolových látek o 90 % [69]. Xu a Chang [72]

zjistili, že vysokotlaké vaření probíhající co nejkratší dobu může zachovat podstatné množství polyfenolických látek, ve srovnání s běžným vařením.

Mnoho studií popisuje výrazný nárůst obsahu polyfenolických látek během klíčení luštěnin [87, 88, 89, 90, 91, 92]. Cevallos-Casals a Cisneros-Zevallos [87] uvedli, že během klíčení čočky se obsah fenolických látek zvýšil o 185 %. V další práci [93] bylo zjištěno, že vigna po vyklíčení obsahovala větší množství polyfenolů než fazole. Příčinou byla jiná barva slupek semen. Naproti tomu, Khandelwal a kol. [92] zaznamenali snížení koncentrace celkových polyfenolů v indických luštěninách vlivem klíčení.

### 8.3 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Flavonoidy byly stanoveny podle metodiky uvedené v kapitole 7.6. Kalibrační křivka je uvedena na Obr. 4. Z její rovnice regrese byl vypočítán celkový obsah flavonoidů, který byl vyjádřen v  $\text{mg RE.kg}^{-1}$  sušiny (viz Tab. 5).



Obr. 4: Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu flavonoidů

Obsah flavonoidů se u syrové čočky pohyboval v rozmezí 2,1 – 6,1  $\text{mg RE.kg}^{-1}$  sušiny. Nejnižší množství bylo analyzováno u červené loupáné čočky ( $P < 0,05$ ) nejvyšší u černé čočky ( $P < 0,05$ ). Vaření způsobilo signifikantní snížení TFC ( $P < 0,05$ ) s výjimkou červené neloupané a tmavozelené čočky, u kterých se obsah flavonoidů oproti syrovým vzorkům nesnížil ( $P \geq 0,05$ ). Největší pokles, a to téměř o 40 %, byl zaznamenán u černé čočky. Nejnižší celkový obsah flavonoidů byl zjištěn u vařené žluté loupáné čočky ( $P < 0,05$ )

a nejvyšší u tmavozelené čočky ( $P < 0,05$ ). Klíčení zapříčinilo statisticky významný nárůst obsahu flavonoidů u všech druhů čočky ( $P < 0,05$ ), ve většině případů až desetinásobný. Zatímco velkozrnná čočka vykazovala nejnižší TFC ( $P < 0,05$ ), černá a tmavozelená čočka obsahovaly flavonoidů nejvíce ( $P \geq 0,05$ ).

Tab. 5: Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů (TFC) v analyzovaných druzích čočky

Vzorek	TFC (mg RE.kg <sup>-1</sup> sušiny)		
	Syrová	Vařená	Klíčená
Čočka velkozrnná	3,4 ± 0,2 <sup>a</sup> A	2,9 ± 0,1 <sup>a</sup> B	34,8 ± 1,6 <sup>a</sup> C
Čočka červená neloupaná	3,4 ± 0,1 <sup>a</sup> A	3,3 ± 0,1 <sup>b</sup> A	38,5 ± 1,5 <sup>b</sup> B
Čočka červená loupaná	2,1 ± 0,1 <sup>b</sup> A	1,6 ± 0,1 <sup>c</sup> B	NS
Čočka tmavozelená	5,9 ± 0,3 <sup>c</sup> A	5,6 ± 0,3 <sup>d</sup> A	54,6 ± 2,8 <sup>c</sup> B
Čočka černá	6,1 ± 0,2 <sup>c</sup> A	2,4 ± 0,1 <sup>e</sup> B	55,2 ± 2,7 <sup>c</sup> C
Čočka žlutá loupaná	2,3 ± 0,1 <sup>d</sup> A	0,7 ± 0,0 <sup>f</sup> B	NS
Čočka francouzská	5,2 ± 0,2 <sup>e</sup> A	4,5 ± 0,1 <sup>g</sup> B	49,5 ± 2,6 <sup>d</sup> C

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 6). Průměrné hodnoty ve sloupcích (vliv druhu čočky) následované různými horními indexy se statisticky významně liší ( $P < 0,05$ ). Průměrné hodnoty v řádcích (vliv úpravy čočky) následované alespoň jedním stejným velkým písmenem se statisticky významně neliší ( $P \geq 0,05$ ). NS – nestanoveno.

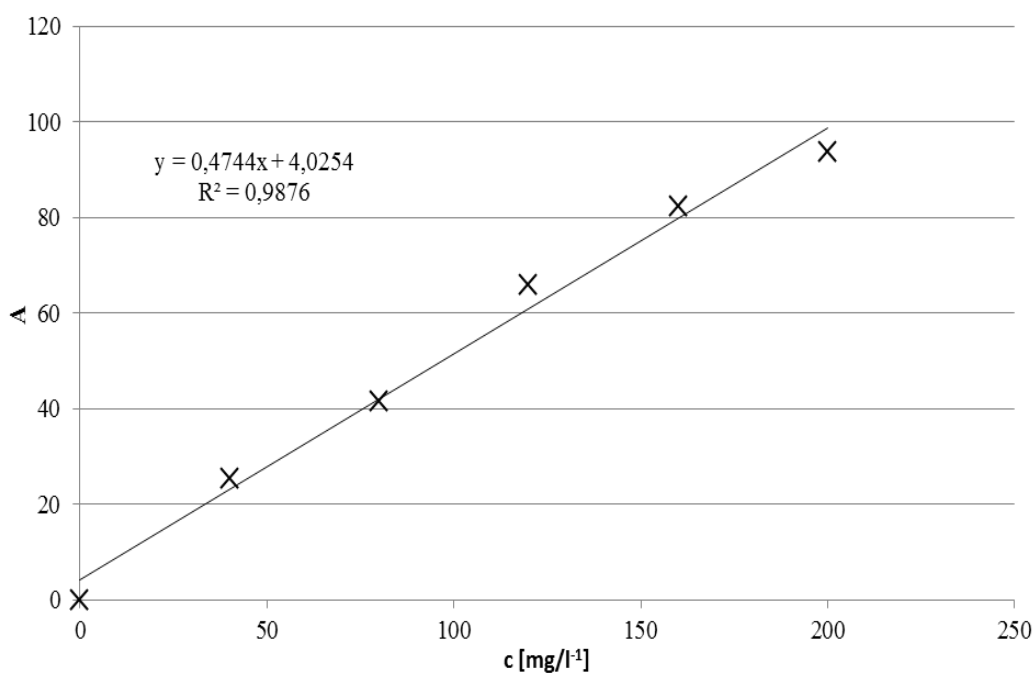
Podobně jako v případě polyfenolů, i obsah flavonoidů byl (bez ohledu na způsob úpravy čočky) nejvyšší u černé, tmavozelené a francouzské čočky, tedy u tmavě zbarvených odrůd. K barvě těchto druhů přispívají antokyany, významná skupina flavonoidů. Stejně závěry uvádí i autoři [93]. Nejméně flavonoidů vykazovaly opět loupané druhy čoček, a to z důvodu odstranění jejich obalových vrstev bohatých na flavonoidy, což je v souladu s dostupnou odbornou literaturou [73, 93]. Segev a kol. [73] uvedli, že slupky z barevných odrůd cizrny vykazovaly vyšší obsah flavonoidů než nezbarvené druhy.



Pokles obsahu flavonoidů následkem vaření luštěnin z důvodu úniku rozpustných látek do vody byl zaznamenán např. autory Vadivel a kol. [94]. V této publikaci bylo prokázáno snížení flavonoidů během vaření a namáčení, a to o 27 – 49 %. Tato významná ztráta mohla být podle autorů důsledkem vyluhování fenolických látek, a nebo následkem degradace fenolických látek vysokou teplotou a delší dobou vaření (45 min). Vliv klíčení na obsah flavonoidů v luštěninách je také široce studovanou záležitostí. Lopéz a kol. [86] zjistili trojnásobný nárůst obsahu flavonoidů v klíčených fazolích, Dueñas a kol. [90] popsali zvýšení obsahu flavonoidů v naklíčené lupině.

#### 8.4 Stanovení antioxidační aktivity

Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH bylo provedeno podle metodiky uvedené v kapitole 7.7. Kalibrační přímka je uvedena na Obr. 5. Z její regresní rovnice byla vypočítána antioxidační aktivita vyjádřená v  $\text{mg TEAC} \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny. Výsledky tohoto stanovení jsou uvedeny v Tab. 6.



Obr. 5: Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Tab. 6: Výsledky stanovení antioxidační aktivity (AA) v analyzovaných druzích čočky

Vzorek	AA (mg TEAC.kg <sup>-1</sup> sušiny)		
	Syrová	Vařená	Klíčená
Čočka velkozrná	276,6 ± 12,1 <sup>a</sup> A	206,4 ± 11,3 <sup>a</sup> B	1305,1 ± 65,9 <sup>a</sup> C
Čočka červená neloupaná	329,0 ± 15,4 <sup>b</sup> A	224,1 ± 13,0 <sup>b</sup> B	1209,7 ± 59,2 <sup>b</sup> C
Čočka červená loupaná	113,3 ± 5,8 <sup>c</sup> A	60,8 ± 2,7 <sup>c</sup> B	NS
Čočka tmavozelená	501,7 ± 26,3 <sup>d</sup> A	297,9 ± 14,8 <sup>d</sup> B	1459,7 ± 60,2 <sup>c</sup> C
Čočka černá	756,9 ± 41,9 <sup>e</sup> A	450,3 ± 22,4 <sup>e</sup> B	1938,4 ± 97,0 <sup>d</sup> C
Čočka žlutá loupaná	235,4 ± 12,8 <sup>f</sup> A	136,0 ± 7,1 <sup>f</sup> B	NS
Čočka francouzská	423,1 ± 20,2 <sup>g</sup> A	203,6 ± 7,9 <sup>a</sup> B	1481,0 ± 59,4 <sup>c</sup> C

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 6). Průměrné hodnoty ve sloupcích (vliv druhu čočky) následované různými horními indexy se statisticky významně liší ( $P < 0,05$ ). Průměrné hodnoty v řádcích (vliv úpravy čočky) následované alespoň jedním stejným velkým písmenem se statisticky významně neliší ( $P \geq 0,05$ ). NS – nestanoveno.

Antioxidační aktivita se u syrových vzorků čočky pohybovala v rozmezí 113,3 – 756,9 mg TEAC.kg<sup>-1</sup> sušiny. Zatímco nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovala černá čočka ( $P < 0,05$ ), nejnižší byla zaznamenána u červené loupané čočky ( $P < 0,05$ ). Následkem vaření čočky došlo ke snížení antioxidační aktivity ( $P < 0,05$ ), u některých vzorků až o polovinu. Nejvyšší a nejnižší AA byla opět zjištěna u černé a červené loupané čočky ( $P < 0,05$ ). Klíčení způsobilo zvýšení antioxidační aktivity ( $P < 0,05$ ), průměrně 3 – 4x. Nejvýraznější antioxidační aktivita byla určena opět u černé čočky ( $P < 0,05$ ), nejnižší pak u čočky červené neloupané ( $P < 0,05$ ).

Kromě černé čočky byly vysoké hodnoty antioxidační aktivity analyzovány také u tmavozelené a francouzské čočky (tedy tmavě zbarvených druhů), což odpovídá výše uvedeným vysokým obsahům polyfenolů a flavonoidů, což jsou důležité antioxidanty luštěnin. Stejně tak odpovídá i nízká AA u loupaných druhů.

Pokles antioxidační aktivity luštěnin následkem vaření popsali např. autoři [69,72, 95]. Xu a Chang [72] a Hana a Baik [95] zjistili, že tepelné zpracování způsobuje uvolnění roz-

pustných antioxidantů do vody. Zdroj [95] uvádí pokles AA v cizrně o 30 % a v sójových bobech o 38 %. Snížení ztrát antioxidantů je možné vařením při vysokém tlaku co nejkratší dobu [72]. Někteří autoři ovšem ve svých studiích došli k závěru, že vaření může způsobit zvýšení AA následkem uvolnění vázaných forem některých fytochemikálií přispívajících k antioxidační aktivitě. Byl zjištěn nárůst AA v čočce hnědé o 10 % a o 36 % v čočce oranžové [95].

Na rozdíl od vaření zapřičiňuje klíčení nárůst antioxidační aktivity luštěnin [69, 96, 97, 98]. Přírůstek antioxidační aktivity v průběhu klíčení se zdá být ve vztahu k nárůstu obsahu antioxidačních látek, jako jsou vitamíny a polyfenoly [97]. Délka klíčení přímo ovlivňuje antioxidační aktivitu čočky [96]. Souvislost mezi vysokou antioxidační aktivitou a vyšším celkovým obsahem polyfenolických látek a flavonoidů je v souladu s informacemi, které uvádí ve svých studiích i jiní autoři [93, 95, 96].

### 8.5 Korelace mezi celkovým obsahem polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivitou

Tab. 7: Korelační koeficienty pro celkový obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivitu

	TPC	TFC	
Surová čočka	0,9556		TFC
	0,9527	0,9692	AA
Vařená čočka	0,2272		TFC
	0,9475	0,3701	AA
Klíčená čočka	0,7424		TFC
	0,8989	0,7931	AA

Pro zjištění, zda spolu vzájemně souvisí obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity, byly v programu MS Excel zjištěny korelační koeficienty, které jsou uvedeny v Tab. 7. Jak je z tabulky patrné, nejlepší korelace byly zjištěny u syrové čočky – všechny korelační koeficienty přesáhly hodnotu 0,95. Lze tedy konstatovat, že polyfenolické látky a také konkrétně flavonoidy přispívají významně k antioxidační aktivitě syrové čočky. U

klíčené čočky bylo dosaženo nejvyšší korelace mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou (téměř 0,9), korelační koeficienty mezi polyfenoly a flavonoidy a mezi flavonoidy a antioxidační aktivitou se pohybovaly nad hodnotou 0,7. U vařené čočky byl nejvyšší korelační koeficient zjištěn opět mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou (téměř 0,95). Mezi polyfenoly a flavonoidy a mezi obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou korelace zjištěny nebyly. Zdá se tedy, že v případě vařených a klíčených vzorků čočky přispívá k celkové antioxidační aktivitě zejména celkový obsah polyfenolů.

## ZÁVĚR

Luštěniny, včetně čočky, jsou dobrým zdrojem bílkovin, sacharidů, vlákniny, minerálních látek, vitamínů a v neposlední řadě antioxidantů. K nejdůležitějším antioxidantům luštěnin patří vitamín C a E a dále polyfenolické sloučeniny, včetně flavonoidů. Tyto sloučeniny jsou považovány za přírodní antioxidanty, které představují důležitou skupinu bioaktivních látek v potravinách a mohou se podílet na omezení aterosklerózy, rakoviny a jiných onemocnění.

V diplomové práci byly analyzovány vzorky čočky velkozrnné, červené neloupané, červené loupané, tmavozelené, černé (Beluga), žluté loupané a francouzské. Tyto čočky byly analyzovány jak v syrovém stavu, tak i po uvaření a naklíčení a bylo zjišťováno, jaký vliv mají tyto úpravy na celkový obsah polyfenolů, celkový obsah flavonoidů a antioxidační aktivitu. Pro tato stanovení byly použity spektrofotometrické metody.

V rámci diplomové práce byly zjištěny následující hlavní závěry:

- klíčení způsobilo signifikantní zvýšení celkového obsahu polyfenolů, flavonoidů i antioxidační aktivity;
- vlivem vaření došlo ke statisticky významnému poklesu celkového obsahu polyfenolů, flavonoidů i antioxidační aktivity;
- nejvyšší TPC, TFC i AA byly bez ohledu na způsob úpravy zaznamenány u černé čočky, následované čočkou tmavozelenou a francouzskou, tedy u intenzivně zbarvených druhů;
- naopak nejnižší TPC, TFC i AA byly u syrových a vařených vzorků zjištěny u žluté a červené loupané čočky, které postrádají obalové vrstvy bohaté na antioxidačně aktivní látky;
- z korelační analýzy vyplynulo, že u syrové čočky spolu velmi dobře korelují jak obsahy polyfenolů a flavonoidů, tak i obsahy těchto bioaktivních látek s antioxidační aktivitou; v případě vařené a klíčené čočky byly nejlepší korelace zjištěny mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou.

Závěrem lze konstatovat, že klíčení je velmi vhodný způsob úpravy luštěnin, protože během tohoto procesu se několikanásobně zvyšuje obsah polyfenolů, flavonoidů i antioxidační aktivity. Při vaření sice dochází ke snížení celkového obsahu polyfenolů, flavonoidů

a antioxidační aktivity, nicméně i vařená čočka je stále poměrně dobrým zdrojem těchto bioaktivních látek.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] TIWARI K. Brijesh, Aiofe GOVEN a Brian MCKENNA. *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications*, Londýn: Academic Press, 2011, 483 s. ISBN 978-0-12-382018-1
- [2] HRABĚ, Jan, Otakar ROP a Ignác HOZA. *Technologie potravin rostlinného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005, 178 s. ISBN 80-7318-372-2
- [3] *Členění luštěnin na druhy, skupiny a podskupiny* [online]. [cit. 2014-07-05]. Dostupný z www: <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100048062.html>
- [4] SAMWALD, Achim. *Sušíme ovoce, zeleninu, bylinky a houby*. Praha: Grada Publishing, 2008, 128 s. ISBN 978-80-247-2566-6
- [5] BROUSEK, František a Viktoria BAN-JIRÁNKOVÁ. *Vaříme luštěniny a obilniny*. Praha: Svoboda-Libertas, 1993, 19 s. ISBN 80-205-0341-2
- [6] VRÁNOVÁ, Dana. *Luštěniny v naší výživě* [online]. [cit. 2014-07-05]. Dostupný z www: <http://www.chempoint.cz/lusteniny-v-nasi-vyzive>
- [7] HAVLÍK, Jaroslav a Milan MAROUNEK. *Živiny a živinové potřeby člověka*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2012, 131 s. ISBN 978-80-213-2269-1
- [8] TICHÁ, Markéta a Petra VIZÍNOVÁ. *Polní plodiny*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2006, 41 s.
- [9] DOHNALOVÁ, Lucie. *Jak upravovat luštěniny* [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupný z www: <http://www.zivotsdietou.cz/clanky/jak-upravovat-lusteniny>
- [10] *Neprávem opomíjené luštěniny* [online]. [cit. 2014-09-04]. Dostupný z www: <http://www.dtest.cz/clanek-1113/nepravem-opomijene-lusteniny>
- [11] *Využití luskovin ve výživě lidí* [online]. [cit. 2014-09-04]. Dostupný z www: [http://etext.czu.cz/php/skripta/skriptum.php?titul\\_key=4](http://etext.czu.cz/php/skripta/skriptum.php?titul_key=4)
- [12] *Luštěniny* [online]. [cit. 2014-09-04]. Dostupný z www: <http://www.dietologie.cz/vyziva/potraviny-wiki/lusteniny/luskoviny.html>
- [13] *Spotřeba potravin a nealkoholických nápojů* [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z www: [http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/t/C40050A1DB/\\$File/21391201.pdf](http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/t/C40050A1DB/$File/21391201.pdf)

- [14] COLIN, Wrigley, Harold CORKE a Charles E. WALKER. *Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier, 2004, 1700 s. ISBN: 978-0-12-765490-4
- [15] Čočka jedlá [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z [www: http://web2.mendelu.cz/af\\_211\\_multitext/systematika/ucebni\\_text/system/krytosemenne/dvoudelozne/bobovite/Lens\\_culinaris.html](http://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/systematika/ucebni_text/system/krytosemenne/dvoudelozne/bobovite/Lens_culinaris.html)
- [16] HOUBA, Miroslav, Miroslav HOCHMAN a Václav HOSNEDL. *Luskoviny: pěstování a užití*. České Budějovice: Kurent, 2009, 133 s. ISBN 978-80-87111-19-2
- [17] LAHOLA, Josef. *Luskoviny: pěstování a využití*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990, 224 s. ISBN 80-209-0127-2
- [18] ERSKINE, William, Fred MUEHLBAUER a Ashutosh SARKER. *The Lentil: Botany, Production and Uses*. Londýn: Cabi, 2009, 457 s. ISBN 978-1-84593-487-3
- [19] Čočka jedlá [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z [www: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/da/Illustration\\_Lens\\_culinaris0.jpg/250px-Illustration\\_Lens\\_culinaris0.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/da/Illustration_Lens_culinaris0.jpg/250px-Illustration_Lens_culinaris0.jpg)
- [20] ADAMS, Kalashea. *Lentils* [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z [www: http://www.clemson.edu/cafls/cuchefs/files/lentils.pdf](http://www.clemson.edu/cafls/cuchefs/files/lentils.pdf)
- [21] SMART, Ernest. *Top 100 food plants*. Ottawa: NRC Research Press, 2009, 636 s. ISBN 978-0-660-19858-3
- [22] Čočka velkozrná [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z [www: http://www.foodish.eu/sortiment-vyrobyku/lusteniny/cocka/cocka-velkozrnna](http://www.foodish.eu/sortiment-vyrobyku/lusteniny/cocka/cocka-velkozrnna)
- [23] ZEMANOVÁ, Hana. *Bioabecedář Hanky Zemanové*. Praha: Smart Press, 2010, 422 s. ISBN 978-80-87049-30-3
- [24] BULKOVÁ, VĚRA. *Rostlinné potraviny*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2011, 162 s. ISBN 978-80-7013-532-7
- [25] HOSNEDL, Václav, Jan VAŠÁK a Ladislav MEČIAR. *Rostlinná výroba I (luskoviny, olejiny)*. Praha: ČZU, 1998, 180 s. ISBN 80-213-0153-8
- [26] LIM, Tong Kwee. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits*. New York: Springer, 2012, 1100 s. ISBN 978-94-007-1763-3
- [27] BRINK, M. a M. BELAY. *Cereals and pulses*. Amsterdam: Prota, 2006, 297 s. ISBN 90-5782-170-2



- [28] MANAY, N. Shakuntala a M. SHADAKSHARASWAMY. *Food: Facts and Principles*. Dílí: New Age International, 2001, 564 s. ISBN 81-224-1325-0
- [29] *Lentil raw* [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4790?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=lentil>
- [30] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Tábor: Osis, 1999, 352 s. ISBN 80-902391-3-7
- [31] JANÍČEK, Gustav a Karel HALAČKA. *Základy výživy*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985, 174 s.
- [32] BLACK, Michael, John Derek BEWLEY a Peter HALMER. *The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology And Uses*. Londýn: Cabi, 2006, 828 s. ISBN 978-0-85199-723-0
- [33] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. *Anatomie a fyziologie člověka*. Praha: Grada Publishing, 2008, 302 s. ISBN 978-80-247-1521-6
- [34] CEMPÍRKOVÁ, Růžena a Bohuslav ČERMÁK. *Krmiva konvenční a ekologická*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2008, 326 s. ISBN 978-80-7394-141-3
- [35] YADAV S. Shyam, David McNEIL a Philip C. STEVENSON. *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*. Amsterdam: Springer, 2007, 487 s. ISBN 978-1-4020-6313-8
- [36] TIWARI, K. Brijesh a Narpinder SINGH. *Pulse Chemistry and Technology*. Londýn: Cambridge Royal Society of Chemistry, 2012, 324 s. ISBN 978-1-84973-331-1
- [37] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: Osis, 1999, 328 s. ISBN 80-902391-4-5
- [38] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis, 1999, 368 s. ISBN 80-902391-5-3
- [39] MORAVCOVÁ, Jitka. *Biologicky aktivní přírodní látky*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2006, 108 s.
- [40] BELITZ, H.-D, Werner GROSCH a Peter SCHIEBERLE. *Food Chemistry*. Berlín: Springer-Verlag, 2009, 1070 s. ISBN 978-3-540-69933-0

- [41] *Toxické látky v potravinách* [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupný z [www: http://www.viscojis.cz/teens/index.php?option=com\\_content&view=article&id=162:141&catid=93:toxicke-latky-v-potravinach&Itemid=143](http://www.viscojis.cz/teens/index.php?option=com_content&view=article&id=162:141&catid=93:toxicke-latky-v-potravinach&Itemid=143)
- [42] HARRIS, Russel a Gordon C. HILLMAN. *Foraging and Farming: The Evolution of Plant Exploitation*. Londýn: Unwin Hyman, 1989, 733 s. ISBN 978-0-0444-5235-5
- [43] DOBIÁŠ, Petr, Petra PAVLÍKOVÁ, Martin ADAM a Karel VENTURA. Využití extrakce nadkritickou tekutinou a extrakce v soxhletově extraktoru pro izolaci a stanovení vybraných antioxidantů. *Chemické listy*, 2010, 104, s. 572 – 581
- [44] *Spektrofotometrické metody: antioxidační kapacita, volné radikály* [online]. [cit. 2014-04-10]. Dostupný z [www: http://www.vscht.cz/ktk/www\\_324/lab/navody/oborI/Spektrofotometrie.pdf](http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/navody/oborI/Spektrofotometrie.pdf)
- [45] LACHMAN, Jaromír, Karel HAMOUZ a Matyáš ORSÁK. Červeně a modře zbarvené brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. *Chemické listy*, 2005, 99, s. 474 – 482
- [46] HOLEČEK, Václav. *Volné radikály a antioxidanty* [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupný z [www: http://www.celostnimediceina.cz/volne-radikaly-a-antioxidanty-mudr-vaclav-holecek-csc.htm#ixzz36zFj47PL](http://www.celostnimediceina.cz/volne-radikaly-a-antioxidanty-mudr-vaclav-holecek-csc.htm#ixzz36zFj47PL)
- [47] ARNDT, Tomáš. *Vitamín E* [online]. [cit. 2014-02-01]. Dostupný z [www: http://www.celostnimediceina.cz/vitamin-e-tocoferolum-aceticum-tokoferol.htm#ixzz37neddvPq](http://www.celostnimediceina.cz/vitamin-e-tocoferolum-aceticum-tokoferol.htm#ixzz37neddvPq)
- [48] ŠIVEL, Miroslav, Bořivoj KLEJDUS, Stanislav KRÁČMAR a Vlastimil KUBÁŇ. Lutein – významný karotenoid ve výživě člověka. *Chemické listy*, 2013, 107, s. 456 – 463
- [49] *Chemie potravin – distanční text*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 140 s.
- [50] CROZIER, Alan, Indu B. JAGANATH a Michael N. CLIFFORD. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 2009, 26(8), s. 1001 – 1043
- [51] TRNA, Jan a Eva TÁBORSKÁ. *Přírodní polyfenolové antioxidanty* [online]. [cit. 2014.03.15]. Dostupný z [www: www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf](http://www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf)

- [52] HARMATHA, Juraj. Strukturní bohatství a biologický význam lignanů a jim příbuzných rostlinných fenylypropanoidů. *Chemické listy*, 2005, 99, s. 622 – 632
- [53] KOLEČKÁŘ, Vít, Zuzana ŘEHÁNKOVÁ a Eliška BROJEROVÁ a kol. Proanthocyanidiny a jejich antioxidační aktivita. *Chemické listy*, 2012, 106, s. 113 – 121
- [54] SLANINA, Jiří a Eva TÁBORSKÁ. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy*, 2004, 98, s. 239 – 245
- [55] SIDDIQ Muhammad a Mark A. UEBERSAX. *Dry Beans and Pulses: Production, Processing and Nutrition*. Oxford: John Wiley & Sons, 2012, 408 s. ISBN 978-0-8138-2387-4
- [56] YU, Lingly, Rong TSAO a Fereidoon SHAHIDI. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*. Oxford: John Wiley & Sons, 2012, 328 s. ISBN 978-0-8138-1839-9
- [57] XU, Baojun a K.C. Sam CHANG. Phenolic Substance Characterization and Chemical and Cell-Based Antioxidant Activities of 11 Lentils Grown in the Northern United States. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2010, 58 (3), s. 1509 – 1517
- [58] VALÁŠEK, Pavel a Otakar ROP. *Základy konzervace potravin – doplňkové texty k základnímu kurzu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 174 s. ISBN 978-80-7318-587-9
- [59] SPEVAK, Andrea a Katarína HROBOŇOVÁ. Využitie polyméru s odtlačkom molekuly umbeliferónu při analýze rostlinných vzoriek. *Chemické listy*, 2013, 107, s. 270 – 272
- [60] SLANINA, Jiří. Biologická a farmakologická aktivita lignanů. *Chemické listy*, 2000, 94, s. 111 – 116
- [61] PIETTA, Pier-Giorgio. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 2000, 63 (7), s. 1035 – 1042
- [62] *Struktura flavonoidů* [online]. [cit. 2014-05-06]. Dostupný z www: <http://www.medicabaze.cz/control-center/data/obr.2a-1247929269.jpg>
- [63] ÖZLEM, Tokuşoğlu a Clifford HALL. *Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry, and Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2011, 473 s. ISBN 978-1-4398-0665-4

- [64] MÍKA, Václav. *Fenolické látky v lučních rostlinách*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2001, 116 s. ISBN 80-86555-07-0
- [65] DAVÍDEK, Jiří, Gustav JANÍČEK a Jan POKORNÝ. *Chemie potravin: učebnice pro vys. školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983, 629 s.
- [66] WATSON, Rus Ronald a Victor R. PREDY. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. San Diego: Elsevier, 2013, 802 s. ISBN: 978-0-12-397154-8
- [67] KREJČÍKOVÁ, Alena. *Zajímavé reakce fenolických látek* [online]. [cit. 2014-07-09]. Dostupný z www: <http://konference.osu.cz/svk/sbornik2012/pdf/budoucnost/didaktika/krejcikova.pdf>
- [68] RAMEŠOVÁ, Šárka a Romana SOKOLOVÁ. Elektrochemická oxidace přírodních barviv používaných na uměleckých památkách. *Chemické listy*, 2014, 108, s. 507 – 512
- [69] GUJRAL, Hardeep Singh, Mamta ANGURALA, Paras SHARMA a Singh JASPREET. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Germinated and Cooked Pulses. *International Journal of Food Properties*, 2011, 14 (6), s. 1366 – 1374
- [70] OROZCO – Fernández Rebeca, Juana FRÍAS a Henrik ZIELINSKI. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. Emerald, *Glycine max* cv. jutro and *Glycine max* cv. Merit. *Food Chemistry*, 2008, 111, s. 622 – 630
- [71] BARTOLOMÉ, Begoña, Isabell ESTRELLA a Teresa HERNANDEZ. Changes in phenolic compounds in lentils (*Lens culinaris*) during germination and fermentation. *Lebensm Unters Forsch A*, 1997, 205 (4), s. 290 – 294
- [72] XU, Baojung a Sam K. C. CHANG. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry*, 2008, 110 (1), s. 1 – 13
- [73] SEGEV, Aharon, Hana BADANI, Liel GALILI a Ran HOVAV. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as Affected by Soaking and Cooking Conditions. *Food and Nutrition Sciences*, 2011, 2 (7), s. 724 – 730

- [74] VELÍŠEK, Jan a Karel CEJPEK. *Biosynthesis of Food Components*. Tábor: Ossis, 2008. ISBN 978-80-86659-12-1
- [75] *Stanovení sušiny a popela v potravinách* [online]. [cit. 2014-03-9]. Dostupný z www: [https://is.muni.cz/el/1411/jaro2014/BVCP0222c/um/Uloha\\_3\\_-\\_susina\\_popel\\_rozklad.pdf](https://is.muni.cz/el/1411/jaro2014/BVCP0222c/um/Uloha_3_-_susina_popel_rozklad.pdf)
- [76] *Compendium of international methods of wine and must analysis. Volume 1* [online]. [cit. 2015-03-08]. Dostupný z www: <http://www.oiv.int/oiv/info/enmethodesinternationalesvin?lang=en>
- [77] MIKULAJOVA Anna, Maria TAKÁCSOVÁ a Pavol ALEXEY. Optimalizácia extrakcie fenolových zložiek z pohánky na základe výsledkov plánovaného experimentu. *Chemické listy*, 2007, 101, s. 563 – 568
- [78] MRÁZOVÁ Eva. *Stanovení fenolických látek a antioxidační aktivity u cereálií*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2011.
- [79] VÁBKOVÁ, Jindřiška a Jarmila NEUGEBAUEROVÁ. *Vliv způsobu pěstování na obsah antioxidačních látek Anethum Graveolens l.* [online]. [cit. 2014-01-29]. Dostupný z www: [http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/553/dzi/www/data/6\\_vliv\\_zp.pdf](http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/553/dzi/www/data/6_vliv_zp.pdf)
- [80] FIDLER Martin a Lenka KOLÁŘOVÁ. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. *Chemické listy*, 2009, 103, s. 232 – 235
- [81] *USDA, National Nutrient Database for Standard Reference* [online]. [cit. 2015-01-29]. Dostupný z www: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>
- [82] XU, Baojung, S. H. YUAN a S. K. CHANG, Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and other selected food legumes. *Journal of Food Science*, 2007, 72 (2), s. 167 – 177
- [83] NITHIYANANTHAM, Srinivasan, Subramanian SELVAKUMAR a Perumal SIDDHURAJU. Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012, 27 (1), s. 52 – 60
- [84] WOLOSIAK, Rafal, Elwira WOROBIJ, Malgorzata PIECYK, Beata DRUZYNSKA a Dorota NOWAK. Activities of amine and phenolic antioxidants and their changes in broad beans (*Vicia faba*) after freezing and steam cooking. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45 (1), s. 29 – 37

- [85] HITHAMANI, Gavirangappa a Srinivasan KRISHNAPURA. Bioaccessibility of Polyphenols from Wheat (*Triticum aestivum*), Sorghum (*Sorghum bicolor*), Green Gram (*Vigna radiata*), and Chickpea (*Cicer arietinum*) as Influenced by Domestic Food Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (46), s. 11170 – 11179
- [86] LOPÉZ, Ana, Tarek EL-NAGGAR, Teresa ORTEGA, Olga M. PALOMINO a M. Emilia CARRETERO. Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 2013, 138, s. 547 – 555
- [87] CASALS-CEVALLOS, Bolívar A. a Luis CISNEROS-ZEVALLOS. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 2010, 119 (4), s. 1485 – 1490
- [88] GHARACHORLOO, Maryam, Tarzi BABAK GHIASSI, Marzieh BAHARINIA a Amir HOMAN HEMACI. Antioxidant activity and phenolic content of germinated lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Medicinal Plants*, 2012, 6 (30), s. 4562 – 4566
- [89] VERNAZA M. G., V. P. DIA, E. Gonzales de MEJÍA a Y. K. CHANG. Antioxidant and antiinflammatory properties of germinated and hydrolysed Brazilian soybean flours. *Food Chemistry*, 2012, 134 (4), s. 2217 – 2225
- [90] DUENAS, M., T. HERNANDEZ, I. ESTRAELLA a D. FERNANDEZ. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry*, 2009, 117 (4), s. 599 – 607
- [91] GUO, Xinbo, T. LI, K. TANG a R. H. LIU. Effect of germination on phytochemical profiles and antioxidant activity of mung bean sprouts (*Vigna radiata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60 (44), s. 11050 – 11055
- [92] KHANDELWAL, Shweta, Shobha A. UDIPI, Padmini GHUGRE. Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food Research International*, 2010, 43(2), s. 526 – 530
- [93] AGUILERA, Yolanda, Maria Felicia DIÁZ, Tania JIMÉNEZ, Vanesa BENITÉZ a Teresa HERERA. Changes in Nonnutritional Factors and Antioxidant Activity during Germination of Nonconventional Legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, 61 (34), s. 8120 – 8125

- [94] VADIVEL, V., W. STUETZ, V. SCHERBAUM a H. K. BIESALSKI. Total free phenolic content and health relevant functionality of Indian wild legume grains: Effect of indigenous processing methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, 24 (7), s. 935 – 943
- [95] HWA, Han a Baik BYUNG-KEE. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *International Journal of Food Science & Technology*. 2008, 43 (1), s. 1971 – 1978
- [96] AQUILERA, Yolanda, Rosa LIEBANA, Teresa HERRERA, Miguel REBOLLO-HERNANZ, Carlos SANCHEZ-PUELLES, Vanesa BENÍTEZ a María A. MARTÍN-CABREJAS. Effect of illumination on the content of melatonin, phenolic compounds, and antioxidant activity during germination of lentils (*Lens culinaris* L.) and kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (44), s. 10736 – 10743
- [97] PAJAK, Paulina, Robert SOCHA, Dorota GALKOWSKA, Jacek ROZNOWSKI a Teresa FORTUNA. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 2014, 143, s. 300 – 306
- [98] ZHAO, Yan, Shuang-kui DU, Hanxin WANG a Meng CAI. *In vitro* antioxidant activity of extracts from common legumes. *Food Chemistry*, 2014, 152, s. 462 – 466

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AA	antioxidační aktivita
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)-hydrazyl
GAE	ekvivalentní aktivita kyseliny gallové
IU	mezinárodní jednotka aktivity enzymu
RAE	ekvivalentní aktivita retinolu
RE	ekvivalentní aktivita rutinu
TEAC	ekvivalentní aktivita troloxu
TFC	celkový obsah flavonoidů
TPC	celkový obsah polyfenolů



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Čočka jedlá.....	17
Obr. 2. Základní struktura flavonoidů.....	31
Obr. 3. Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolických látek.....	45
Obr. 4. Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu flavonoidů.....	47
Obr. 5. Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	49

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Spotřeba čočky jedlé v ČR (kg/osoba/rok).....	15
Tab. 2. Charakteristika analyzovaných vzorků čočky.....	39
Tab. 3. Výsledky stanovení sušiny v analyzovaných druzích čočky.....	44
Tab. 4. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolických látek (TPC) v analyzovaných druzích čočky.....	45
Tab. 5. Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů (TFC) v analyzovaných druzích čočky.....	48
Tab. 6. Výsledky stanovení antioxidační aktivity (AA) v analyzovaných druzích čočky...	50
Tab. 7. Korelační koeficienty pro celkový obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivitu.....	51