

Vliv klíčení na obsah aminokyselin ve vybraných vzorcích fazolí

Bc. Lucie Minaříková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lucie Minaříková**
Osobní číslo: **T11117**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vliv klíčení na obsah aminokyselin ve vybraných vzorcích fazolí**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Obecná charakteristika fazolí, jejich chemické složení, morfologie a nutriční význam
2. Klíčení fazolí
3. Charakteristika vybraných druhů fazolí analyzovaných v diplomové práci
4. Analýza obsahu aminokyselin

II. Praktická část

1. Stanovení obsahu aminokyselin u vybraných druhů fazolí v suchých a naklíčených semenech
2. Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek u vybraných druhů fazolí v suchých a naklíčených semenech
3. Statistické hodnocení získaných výsledků a jejich diskuze

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] PAMPLONA ROGER, Jorge D. Encyklopedie léčivých potravin. Praha: Advent-Orion, 2004, 385 s. ISBN 80-717-2542-0

[2] DEBOUCK, Daniel a Rigoberto HIDALGO. Morphology of the Common Bean Plant *Phaseolus Vulgaris* [online]. Colombia: CIAT, 1986 [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: http://books.google.com.co/books?id=0Tl0awmpNs0C&printsec=frontcover&source=gbs_atbv=onej

[3] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 1. Tábor: Osis, 1999. ISBN 80-90239-3-7

[4] LAHOLA, Josef. Luskoviny: pěstování a využití. Praha: SZN, 1990, 223 s. ISBN 80-209-0127-2

[5] SATHE, S. K., S. S. DESHPANDE, N. R. REDDY, D. E. GOLL a D. K. SALUNKHE. Effects of Germination on Proteins, Raffinose Oligosaccharides, and Antinutritional Factors in the Great Northern Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). [online]. [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1983.tb05087.x>

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Zuzana Lazárková, Ph.D.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2013

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ/DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské/diplomové 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 ¹⁾;
- beru na vědomí, že bakalářská/diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou/diplomovou 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 ²⁾;
- podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou/diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské/diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské/diplomové práce využít ke komerčním účelům.

Ve Zlíně 2.5. 2013

.....
Jméno, příjmení, podpis

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

(1) Vysoká škola nevydělčně 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 požít 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.

2) 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, užíje-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 vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

3) 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 výdělků jim 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 výdělků dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá vlivem klíčení na obsah aminokyselin ve vybraných druzích fazolí. Teoretická část diplomové práce charakterizuje fazole, jejich chemické složení, morfologii a nutriční význam. Dále popisuje proces klíčení, zabývá se jednotlivými druhy analyzovaných fazolí a procesem analýzy obsahu aminokyselin. Praktická část je zaměřena na stanovení hrubé bílkoviny a obsahu aminokyselin v syrových fazolích a fazolích po 48 hodinovém klíčení, statistické vyhodnocení výsledků a sledování změn způsobených klíčením. Dále byly vzorky fazolí hodnoceny z nutričního hlediska a byl stanoven index esenciálních aminokyselin. Chemické analýzy byly provedeny na vzorcích fazole strakaté velké, pinto, červené ledvině, mungo, adzuki, černé oko a navy bio. Nejvyšší obsah hrubé bílkoviny i nejvyšší celkový obsah aminokyselin vykazovala fazole červená ledvina, nejnižší množství hrubých bílkovin pak fazole strakatá velká a nejnižší celkový obsah aminokyselin pak fazole adzuki. Klíčením došlo jak ke snížení obsahu hrubé bílkoviny, tak i celkového obsahu aminokyselin. Limitujícími aminokyselinami byly cystein a metionin. Z nutričního hlediska se jako nejvýhodnější jeví fazole červená ledvina, a to jak v syrovém stavu, tak i po naklíčení.

Klíčová slova: fazole, klíčení, hrubá bílkovina, aminokyseliny, index esenciálních aminokyselin

ABSTRACT

This thesis examines the influence of germination on the amino acid content in selected species of beans. The theoretical part of the thesis describes the beans, their chemical composition, morphology and nutritional significance. The thesis describes the process of germination beans, it also deals with various kinds of beans and analysis of amino acids. The practical part is focused on the determination of crude protein and amino acid content in the raw beans and beans after 48 hours of germination, statistical evaluation of the results and monitoring of changes caused by germination. Furthermore, the samples were evaluated from the nutritional point of view and the essential amino acids index was calculated. Chemical analyzes were performed on samples of large mottled beans, pinto, red kidney, mungo, adzuki, black eye and navy bio. The highest amount of crude protein and total amino acid content were determined at red kidney bean, the lowest amount of crude protein at large mottled beans and the lowest total amino acid content at adzuki bean. Germination resulted in lowering both crude protein and total amino acid content. Cysteine and methionine were examined as limiting amino acids. Red kidney bean seemed to be the most appropriate from the nutritional point of view.

Keywords: beans, germination, crude protein, amino acids, essential amino acid index

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph.D. za trpělivost, ochotu a cenné rady, které mi poskytla v průběhu zpracování práce.

Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph. D. a Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc a odborné rady při vypracování praktické části diplomové práce.

Ráda bych také poděkovala mé rodině, za pomoc a podporu během celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA FAZOLÍ	11
1.1 MORFOLOGIE	13
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ	14
1.2.1 Bílkoviny	16
1.2.2 Sacharidy	17
1.2.3 Lipidy	18
1.2.4 Minerální látky	18
1.2.5 Vitaminy	19
1.2.6 Antinutriční látky	20
1.3 NUTRIČNÍ VÝZNAM A ZDRAVOTNÍ ÚČINKY	22
2 KLÍČENÍ FAZOLÍ	24
3 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ FAZOLÍ	26
3.1 FAZOLE STRAKATÁ VELKÁ	26
3.2 FAZOLE PINTO	26
3.3 FAZOLE ČERVENÁ LEDVINA	27
3.4 FAZOLE MUNGO	27
3.5 FAZOLE ADZUKI	28
3.6 FAZOLE ČERNÉ OKO	29
3.7 FAZOLE NAVY BIO	30
4 ANALÝZA OBSAHU AMINOKYSELIN	31
4.1 TENKOVrstevná chromatografie TLC a papírová chromatografie PC	31
4.2 Vysokoučinná kapalinová chromatografie HPLC	32
4.3 Plynová chromatografie GC	33
4.4 Iontově-výměnná chromatografie IEC	34
4.5 HYDROLÝZA BÍLKOVIN	34
4.5.1 Kyselá hydrolýza	35
4.5.2 Alkalická hydrolýza	35
4.5.3 Enzymatická hydrolýza	35
4.5.4 Stanovení cysteinu, metioninu a tryptofanu	35
4.5.5 Mikrovlnný ohřev	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
5 CÍL PRÁCE	38
6 METODIKA	39

6.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	39
6.1.1	Chemikálie	39
6.1.2	Přístroje a pomůcky	39
6.2	ANALYZOVANÉ VZORKY	40
6.3	PRINCIPY POUŽITÝCH ANALÝZ	41
6.3.1	Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek dle Kjeldahla	41
6.3.2	Stanovení obsahu aminokyselin	44
6.3.3	Výpočet aminokyselinového skóre a indexu esenciálních aminokyselin	45
6.3.4	Statistické vyhodnocení výsledků	46
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
7.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU DUSÍKATÝCH LÁTEK	47
7.2	STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	49
	ZÁVĚR	61
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	63
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	69
	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
	SEZNAM PŘÍLOH	72

ÚVOD

Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris* L.) patří do čeledi Bobovitých (*Fabaceae*). Pěstuje se výhradně ke konzumním účelům. Je velmi vhodnou potravinou pro lidský organizmus. Fazole představují jeden z nejbohatších zdrojů bílkovin a aminokyselin. Kromě vysokého podílu bílkovin obsahují vysoký podíl sacharidů, zejména škrobu, vlákninu a malé množství tuků. Fazole obsahují všechny esenciální aminokyseliny, ale v nedostatečném množství. Limitujícím aminokyselinami jsou metionin a tryptofan, pokud se ale fazole doplní potravinami jako je například pšenice, sezamové semínka nebo droždí, můžeme kombinací neplnohodnotných proteinů dodat tělu proteiny plnohodnotné.

Látky obsažené v luštěninách vykazují příznivé zdravotní účinky, ať už protizánětlivé, antimutagenní nebo antikarcinogenní. Fazole patří mezi potraviny s nízkým glykemickým indexem a jsou tak vhodné pro osoby s diabetem nebo obezitou, mohou se podílet na snížení rizika srdečních a cévních chorob i některých nádorových onemocnění. Pravidelnou konzumací lze udržet hladinu cholesterolu v přijatelné normě. Díky vysokému obsahu vlákniny jsou účinné při zácpě a dobrým nástrojem při prevenci rakoviny tlustého střeva a konečníku.

Naklíčené fazole a klíčky patří mezi potraviny s vysokým koncentrovaným obsahem všech živin. Při klíčení dochází k řadě biochemických přeměn. Proces zahrnuje komplexní enzymatické reakce, při kterých se rozkládají makromolekuly jako škrob, bílkoviny, komplexní lipidy a podobně na menší celky. Tento proces činí fazole lépe stravitelnými. Naklíčené fazole jsou lépe stravitelné i proto, že dochází k výraznému snížení obsahu antinutričních látek (lektiny, saponiny, aj.).

Konzumace pokrmů z luštěnin je ve společnosti s vyšší konzumací masa méně významná, většinou je zařazována do jídelníčku nepravidelně. Větší množství luštěnin se konzumuje především v rozvojových zemích. Dnešní moderní trendy zdravého stravování, ale nasvědčují v možnou změnu a nárůst konzumace luštěnin.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA FAZOLÍ

Fazol se pěstuje výhradně ke konzumním účelům buď jako usušená semena určená k dalšímu zpracování nebo jako zelenina pro nedozrálé lusky [1].

Fazol obecný pochází, stejně jako všechny druhy rodu *Phaseolus*, z tropických a subtropických oblastí Jižní a Střední Ameriky [2]. Přirozeně se vyskytuje od Mexika po Argentinu. K domestikaci fazolu obecného došlo pravděpodobně jak v Andách, tak v Mexiku nezávisle. Na vzniku domestikovaných forem se mohla podílet i hybridizace se středoamerickým fazolem šarlatovým (*Phaseolus coccineus*). V andské části Jižní Ameriky jsou archeologicky doložena semena kulturních forem fazolu obecného již z období před 8 000 lety z jeskyně Guitarrero v severním Peru. Nejstarší archeologické nálezy domestikovaných forem fazolu obecného v oblasti střední Ameriky, učiněné v jeskyni Coxcatlán údolí Tehuacán v Mexiku, jsou mladší. Jejich stáří je datováno do doby před 5 500 – 7 000 lety. Pro jihoamerické a středoamerické předkolumbovské civilizace Ameriky představovaly fazole jeden ze základních zdrojů bílkovin. Aztékové a Inkové používali semena fazolí také jako platidlo. Do Evropy byl fazol dovezen jako okrasný druh již krátce po objevení Ameriky v roce 1506, vlastní *Phaseolus vulgaris* se do Evropy dostal o něco později, a to v roce 1532. Již v roce 1543 jej ve svém *Herbarum vivae icones* popisuje německý botanik Otto Brunfels. Dnes se fazol obecný pěstuje v Jižní a Severní Americe, Asii a některých částech Afriky v množství kultivarů lišících se hlavně barvou semen. Největšími světovými producenty fazolu jsou v současnosti Argentina, Brazílie, Čína, Indie, Indonésie, Kanada, Myanmarský svaz (dřívější Barma), Uganda a Spojené státy americké [2,3].

Rod *Phaseolus* zahrnuje asi 36 druhů a je velmi blízký s rodem *Vigna*. Jako zelenina jsou konzumovány mladé lusky odrůd, které nemají u chlopní pergamenovou blánu. Barva semen může být různá: bílá, skvrnitá, červená, černá. Rod *Vigna* lze konzumovat jako nezralá naklíčená semena, nebo jako suchá zralá semena upravovaná klasicky vařením. Patří sem například fazole mungo nebo adzuki [4,5,6]. Fazole jsou nezbytnou součástí strav na všech pěti kontinentech, a to zejména ve střední a jižní Americe. Fazol se pěstuje v několika odrůdách na polích i na zahradách všude v Evropě. Pro léčivé účely se dává přednost velkosemenným luskům s masitými semeny [7].

Fazole je stejně jako hrách, čočka, cizrna, sója a bob obecný řazena do skupiny luštěniny. Sója však bývá řazena často také mezi olejninu a různé publikace se v tomto zařazení liší.

Spotřeba luštěnin je celosvětově asi 55 – 59 milionů tun/rok. V potravinářství je z tohoto množství využito asi 65 %, na krmné užití asi 25 %, z toho větší množství luštěnin se v potravinářství využívá především v rozvojových zemích, naopak v rozvinutých zemích je častější použití pro krmné účely. Zbylých 10 % je využito na osivo a pro ostatní účely [8,9, 10].

Spotřeba luštěnin se v různých částech světa liší. Roční spotřeba luštěnin se tak pohybuje v rozmezí od 2 do 20 kg/osobu/rok. Pokud bereme v úvahu průměrnou roční spotřebu luštěnin, tak ta se pohybuje celosvětově kolem 6,3 kg/osobu/rok. Roční spotřeba v Evropě se pohybuje od 1 do 2 kg. Výjimkou je především jižní část Evropy, kde se zkonsumuje téměř 6 kg na obyvatele a rok [8,9,11,12]. Roční spotřeba luštěnin v České republice se v roce 2011 oproti předchozímu roku zvýšila asi o 0,1 kg na 2,5 kg. Z toho spotřeba fazolí představovala 0,9 kg (viz Tabulka 1). Z Tabulky 1 vyplývá mírné zvýšení spotřeby luštěnin za posledních 9 let, a to o 0,4 kg/osobu/rok [13].

Luštěniny jsou schopny pokrýt 3,5 % denního příjmu bílkovin, přitom v oblastech jako jsou Afrika, Asie, Jižní Amerika a Střední východ to může být více než 50 % příjmu bílkovin. Konzumace pokrmů z luštěnin je ve společnosti s vyšší konzumací masa méně významná, většinou je zařazována do jídelníčku nepravidelně, ale dnešní moderní trendy zdravého stravování nasvědčují v možnou změnu a nárůst konzumace luštěnin [8,9,11,12].

Tabulka 1 Spotřeba luštěnin v kg na obyvatele za rok v České republice [13].

Potravina	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Luštěniny	2,1	2,1	2,2	2,1	2,1	2,4	2,4	2,4	2,5
Fazole	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,9	0,7	0,8	0,9
Hrách	1	1	1,1	1	1	1,1	1,1	1,2	0,9
Čočka	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5

Fazol se pěstuje především pro konzum. Je velmi vhodnou potravinou pro lidský organismus. Konzumují se zelené lusky nebo vyzrálá semena k vaření nebo konzervování. Pouze odpady při čištění a semena podřadné jakosti, pūlená, poškozená, nedozrálá se zkrmuji, a to buď šrotovaná, nebo vařená [7].

V léčitelství se používá oplodí zralých plodů při zadržování vody v těle a při nemocech ledvin a močových cest. Droga působí diureticky a mírně snižuje krevní tlak, je obsažena v čajovém přípravku Diabetan. Jako pomocný lék se fazolové lusky používají k léčbě lehkých forem cukrovky – obsahují fazeolin (s účinkem podobným inzulinu) [7].

1.1 Morfologie

Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris* L., viz Obrázek 1) patří do čeledi Bobovitých (*Fabaceae*). Jedná se o jednoletou bylinu s přímou nebo oplétavou levotočivou lodyhou. Podle vzrůstu a postavení lodyhy se dělí fazol obecný do dvou variant: keříčkový (var. *nanus*) má přímou nepoléhavou lodyhu, odspodu bohatě rozvětvenou s ukončeným růstem ve výšce asi 45 cm nebo s vybíhajícími, slabými ovíjivými úponky; tyčkový (var. *vulgaris*) má lodyhu tenkou, levotočivou, popínavě se pnoucí, dlouhou až 4 m [2,7,14].



Obrázek 1 *Phaseolus vulgaris* L. [7]

Má krátký kulový kořen, který se mělce rozvětjuje pod půdním povrchem, na postranních kořenech se tvoří nádorky – hlízky. Bakterie rodu *Rhizobium*, žijící na kořenovém systému luštěnin, potřebují pro syntézu svých bílkovin vzdušný dusík, který fixují z půdy. Po odumření těchto jednobuněčných organismů se v půdě rozloží až na amoniak. Ten zpracuje jiná

skupina bakterií až na dusičnany a dusitany, a proto bobovité rostliny obsahují v půdě kolem kořenového systému mnoho látek bohatých na dusík. To je důvod, proč jsou luštěniny tak bohaté na bílkoviny [2,7,14,15].

Listy jsou střídavé, trojčetné, dlouze řapíkaté, široce vejčité, s kopinatými palisty. Velikost lístků, intenzita zeleného zbarvení a ochlupení jsou charakteristické pro genotypy [7].

Květy jsou až 2 centimetry velké, různě zbarvené, oboupohlavné, s pětičetným, hluboce rozeklaným kalichem a korunou složenou z pěti korunních lístků. Nejvrchnější korunní lístek, zvaný pavéza, bývá obzvláště velký. Prostřední dva listy se nazývají křídla a dva nejdelší tvoří člunek, v němž jsou uloženy pohlavní orgány [14,15]. Barva pavézy a křídel je bílá, nazelenalá, růžová, nafialovělá. Kvete od června do srpna [2].

Plody (lusky) mají stěny tlustoblanné nebo tenkoblanné, zelené nebo žluté. Jeho tvar je nejčastěji rovný, ale také prohnutý, mečovitý, zobákovitě ukončený [7]. Lusk obsahuje ledvinovitá až okrouhlá semena v počtu 2 – 10. Liší se podle odrůd barvou, velikostí i tvarem. Bývají žlutá, červená, fialová, černá nebo strakatá [2].

1.2 Chemické složení

Fazole patřící do skupiny luštěnin jsou důležitým potravinovým zdrojem a hrají významnou roli v tradičním jídelníčku lidí po celém světě. Luštěniny představují jeden z nejbohatších zdrojů bílkovin a aminokyselin v lidské výživě a výživě zvířat. Kromě vysokého podílu bílkovin (20 – 25 % v sušině) obsahují semena fazolu sacharidy (především škrob), vlákninu (rezervní celulózy), malé množství tuků (0,8 – 2,6 %), stopové prvky, provitamin vitamínu A a komplex vitamínů B. Rostlina obsahuje allantoin a neproteinovou aminokyselinu kavanin, jedovatý kyanogenní glykosid linamarin a řadu dalších důležitých obsahových látek [16]. Chemické složení jednotlivých druhů fazolí viz Tabulka 2.

Tabulka 2 Chemické složení fazolí (na 100 g) analyzovaných v diplomové práci
[upraveno podle 17]

	Jednotka	Druh fazole						
		Strakatá velká	Pinto	Červená ledvina	Mungo	Adzuki	Černé oko	Navy Bio
Voda	g	12,39	11,33	11,75	9,05	13,44	11,95	12,1
Energetická hodnota	kcal	335	347	333	347	329	336	337
Bílkoviny	g	23,03	21,42	23,58	23,86	19,87	23,52	22,33
Tuky	g	1,23	1,23	0,83	1,15	0,53	1,26	1,5
Sacharidy	g	60,05	62,55	60,01	62,62	62,9	60,3	60,75
Vláknina	g	24,7	15,5	24,9	16,3	12,7	10,6	24,4
Cukry	g	/	2,11	2,23	6,6	/	6,9	3,88
Vápník	mg	127	113	143	132	66	110	147
Železo	mg	5	5,07	8,2	6,74	4,98	8,27	5,49
Hořčík	mg	156	176	140	189	127	184	175
Fosfor	mg	372	411	407	367	381	424	407
Draslík	mg	1332	1393	1406	1246	1254	1112	1185
Sodík	mg	6	12	24	15	5	16	5
Zinek	mg	3,63	2,28	2,79	2,68	5,04	3,37	3,65
Kyselina askorbová	mg	/	6,3	4,5	4,8	/	1,5	/
Tiamin	μg	747	713	529	621	455	853	775
Riboflavin	μg	213	212	219	233	220	226	164
Niacin	mg	1,445	1,174	2,06	2,251	2,63	2,075	2,188
Pyridoxin	μg	308	474	397	382	351	357	428
Kyselina listová	μg	604	525	394	625	622	633	364
Vitamín A	μg	0	0	0	6	1	3	0
Vitamín E	μg	0	0,21	0,22	0,51	0	0,39	0
Vitamín K	μg	0	5,6	19	9	/	5	2,5

* / ...neuveдено

1.2.1 Bílkoviny

Proteiny semen rostlin, které představují hlavní zdroj rostlinných proteinů v potravě, mají specifické složení, neboť slouží jako materiál pro stavbu klíčící rostlinky. Složení bílkovin bývá proto dosti jednoduché. Bílkoviny semen obsahují značné procento glutamové a asparagové kyseliny a amidického dusíku [1,16].

Procentuální podíl proteinů, který se pohybuje podle druhu fazole, je stejný, či dokonce vyšší než v potravinách živočišného původu, například v rybím, hovězím a kuřecím masu. Bílkoviny fazolí nejsou z biologického hlediska plnohodnotné. Chybí v nich především sirné aminokyseliny a tryptofan, ale obsahují dostatek lyzinu, kterého je málo v obilovinách. Limitujícím faktorem u fazole je hlavně nedostatek metioninu, pokud se ale fazole doplní potravinami jako je například pšenice, sezamové semínka nebo droždí, můžeme kombinací neplnohodnotných proteinů tělu dodat plnohodnotné proteiny. Z aminokyselinového zastoupení vyplývá, že fazole sice obsahují všechny esenciální aminokyseliny, ale v nedostatečném množství [16,18,19]. V tabulce 3 je popsáno zastoupení aminokyselin ve fazolích.

V syrových semenech fazolu obecného můžeme najít kolem 20 – 25 % proteinů, převažuje zásobní protein fazeolin, který je hlavním determinantem kvantity a nutriční kvality proteinů v semenech fazolí. Z dalších proteinů se ve fazolích nachází například legumin, vivinin nebo konglutin [1,16,19].

Většinu proteinů v semenech fazolí tvoří globuliny a zásobní proteiny. Tyto proteiny jsou syntetizovány již během vývoje semene a následně skladovány. Poté jsou využity při klíčení k zajištění nutných zásob pro stavbu uhlíkové kostry. Obsaženy jsou však také metabolické a strukturální proteiny. Globuliny obsahují 18 – 40 % kyseliny glutamové a glutaminu [1,16,18,19,20].

Tabulka 3 Obsah aminokyselin ve fazolích podle Doležala [21] (1) a Stephen Mbithi-Mwikya a kol. [22] (2) v g.16g N⁻¹

Aminokyseliny	(1)	(2)
Esenciální aminokyseliny		
Treonin	4	4,74
Valin	4,6	5,04
Cystein	0,8	0,66
Metionin	1,1	1,22
Izoleucin	4,2	4,35
Leucin	7,6	8,48
Fenylalanin	5,2	5,84
Lyzin	7,2	7,18
Tryptofan	1,4	1,06
Neesenciální aminokyseliny		
Kyselina asparagová a asparagin	12	12,7
Serin	5,6	6,58
Kyselina glutamová a glutamin	14,8	16,5
Prolin	3,6	3,86
Glycin	3,8	4,07
Alanin	4,2	4,45
Histidin	2,8	2,94
Tyrozín	2,5	3,57
Arginin	5,7	6,77

1.2.2 Sacharidy

Fazole patří mezi potraviny, které jsou bohaté na sacharidy. Vysoký je i obsah neškrobových polysacharidů, a to zejména vlákniny. Sacharidy nacházející se v luštěninách jsou z největší části tvořeny škrobem. Obsah ostatních sacharidů v syrových semenech se pohybuje mezi 6 – 12 % [1,20,23,24]. Obsah škrobu se v různých publikacích liší. Velíšek [25] uvádí obsah škrobu v rozmezí 30 – 70 %, Benda [8] 46 – 54 %.

Mezi oligosacharidy obsažené ve fazolích patří například rafinóza, stachyóza, verbazkóza nebo ajugóza. Zažívací trakt člověka není schopen produkovat enzymy štěpící tyto oligosacharidy. Jsou tedy štěpené až bakteriemi v tlustém střevě, což způsobuje nadýmání. Jejich obsah se dá snížit několikahodinovým máčením před další úpravou, jelikož jsou rozpustné ve vodě, nebo klíčením [20,23,24].

Fazole jsou významným zdrojem vlákniny. Mezi fazole s vysokým obsahem vlákniny jsou řazeny například fazole Pinto nebo Navy. Fazol je známou potravinou s nízkým glykemickým indexem, vysokým obsahem vlákniny a tudíž zasytí na dlouhou dobu. Je tedy vhodný i při redukčních dietách [1,20,23,24].

1.2.3 Lipidy

Luštěniny jsou obecně, s výjimkou sóji, na lipidy velmi chudé. Z lipidů nacházejících se v luštěninách můžeme jmenovat například triacylglyceroly, di- a monoacylglyceroly. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u těchto druhů: fazole adzuki ($0,1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), fazole měsíční a fazole mungo ($0,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) [1,9,24].

Tuk luštěnin má příznivé složení mastných kyselin. Větší podíl připadá u většiny druhů na polynenasycené mastné kyseliny, z toho nejvíce obsaženou je kyselina linolová. Tmavá barva a nahořklá chuť fazolí je z části způsobena hydrolytickým a oxidačním štěpením fosfolipidů. Množství lipidů obsažených v semenech fazolí závisí nejen na druhu, ale také na původu, místu růstu, klimatu, období, environmentálních faktorech a typu půdy [1,24].

1.2.4 Minerální látky

Fazole jsou bohaté především na draslík, vápník, fosfor, hořčík a železo. Naopak velmi chudé jsou na sodík [17].

Draslík zajišťuje prakticky veškeré funkce v lidském organismu: podílí se na správné funkci kardiovaskulárního systému, snižuje krevní tlak (při poruchách v zásobování těla draslíkem může dojít až k poruchám srdečního rytmu), zajišťuje svalový tonus, napomáhá celkové stabilitě vnitřního prostředí a v neposlední řadě ovlivňuje nervový systém [1,17,26].

Vápník je nejdůležitější pro svůj vliv na stavbu, pevnost a vývoj kostí. Právě díky vápníku jsou kosti pevné a tvrdé, nepodléhají osteoporóze a správně se vyvíjejí. Krom kostí ovlivňuje i činnost veškerých svalů, podporuje činnost nervů, zmírňuje poruchy trávení a uplatňuje se i při srážení krve a regulaci srdečního rytmu. Dostupnost vápníku z luštěnin je poměrně dobrá (asi 20 %), je však nižší než u mléčných výrobků a některých druhů listové zeleniny [1,17,26].

Fosfor je nesmírně důležitý, neboť se jedná o základní stavební jednotku molekuly přenašeče energie – molekuly ATP (adenosintrifosfát). Krom ATP je fosfor součástí nukleových

kyselin, účastní se metabolismu cukrů, tuků a bílkovin a v neposlední řadě je složkou měkkých tkání a buněčných membrán. Fosfor se vyskytuje v několika formách, jako anorganický, jako součást fyátů, fosfatidů a dalších sloučenin [1,17,26].

Hořčík má vliv na mnoho důležitých funkcí v lidském těle, energetickým metabolismem počínaje a prevencí nemocí kardiovaskulárního systému konče. Zajišťuje snížení krevního tlaku, omezuje srdeční arytmii a rozšiřuje tepny. V minulých letech byl zkoumán i jeho pozitivní vliv na diabetes II. typu, který dokáže uspokojivě zmírňovat. Hořčík také uvolňuje svaly při dlouhodobém zatížení, čehož využívají nejčastěji vrcholoví sportovci. Dále zlepšuje paměť a myšlení, zmírňuje menstruační potíže při menopauze – zejména křeče [1,17,26].

Železo je nejprospěšnější pro krevní systém, kde jako součást hemoglobinu v červených krvinkách dokáže na svůj povrch vázat kyslík a dopravovat ho tak do celého těla. Díky přenosu kyslíku pomáhá železo zásobovat energií všechny svalové soustavy a je zapojeno i do správné funkce imunitního systému a energetického metabolismu. Nicméně dostupnost železa z luštěnin je špatná, a tedy jejich hodnota jako zdroje železa je velmi snížena. Předpokládá se, že absorpci zvyšuje vitamin C [1,17,26].

1.2.5 Vitaminy

Luštěniny patří mezi potraviny s nízkým obsahem vitaminů rozpustných v tucích, což souvisí s celkovým nízkým obsahem lipidů. Jsou však velmi dobrým zdrojem vitaminů skupiny B. Luštěniny obsahují téměř celý komplex, s výjimkou kobalaminu. Významný je obsah kyseliny listové a pyridoxinu. Až k 50% ztrátám ve vodě rozpustných vitaminů dochází při máčení.

Niacin a kyselina pantotenová se nacházejí především v obalových vrstvách a loupáním je jejich obsah snížen. Kyselina pantotenová se podílí na buněčném metabolismu a její nedostatek způsobuje problémy s pokožkou a lámavost nehtů. Fazole jí obsahuje asi dvakrát víc než maso [1,27,28,29]. Niacin se aktivně podílí na mnoha chemických reakcích v buňkách. Jeho nedostatek způsobuje kožní chorobu pelagra. I menší deficit může způsobit popraskání pokožky nebo její šupinatění. Niacin souvisí také s esenciální aminokyselinou tryptofan, kterou si je schopen organismus přeměnit na niacin [1].

Obsah vitamínu C se v luštěninách pohybuje většinou v nižších hodnotách, navíc dochází k jeho ztrátám během vaření a to až ze 70 – 100 %. Opakem jsou však nezralá a klíčící semena luštěnin, které obsahují vysoké hladiny tohoto vitamínu [27,30,31].

1.2.6 Antinutriční látky

V luštěninách se nacházejí také antinutriční látky jako třísloviny, inhibitory proteáz, lektiny, antigenní bílkoviny, saponiny. Antinutriční látky ovlivňují aktivitu některých enzymů, vitamínů a minerálních látek, stravitelnost a využitelnost základních živin, a tím také výživovou hodnotu potravin [32].

Třísloviny jsou deriváty několikafunkčních fenolů, často vázané a cukry na složité estery. Jejich biologický účinek je dán schopností reagovat s bílkovinami a zhoršovat jejich vstřebávání. Nejvýrazněji se snížení absorpce projevuje u esenciálních aminokyselin metioninu a lyzinu. Kromě bílkovin potravy reagují také s trávicími enzymy. To vede ke zhoršení stravitelnosti i u dalších složek tráveniny. Třísloviny se za běžných podmínek v trávicím traktu neštěpí a neprocházejí stěnou střevní. Při příjmu vysokých dávek ale může dojít k podráždění výstelky střev, protože reagují i s bílkovinami stěny střevní. Za těchto okolností se již mohou třísloviny vstřebávat [33].

Inhibitory proteáz jsou polypeptidy a bílkoviny vytvářející stabilní komplexy s proteolytickými enzymy. Tyto komplexy už mají omezenou enzymovou aktivitu. Inhibitory proteáz jsou většinou termolabilní, proto je lze inaktivovat teplem. V semenech luskovin se vyskytují zejména inhibitory Kunitzova typu, které vykazují specifitu vůči trypsinu a inhibitory Bowman-Birkova typu, které vykazují specifitu vůči trypsinu i chymotrypsinu [33, 34].

Lektiny jsou bílkoviny nebo glykoproteiny se schopností vazby na sacharidy. Navázání na buňky střevních klků způsobuje zrychlení obnovy těchto buněk. Dráždění sliznice střeva může vést k jeho hypertrofii. Lektiny také snižují aktivitu řady trávicích enzymů, v důsledku jejich zvýšeného vylučování pak může dojít k hypertrofii slinivky. Lektiny jsou termostabilnější než inhibitory proteáz, proto je k jejich inaktivaci potřeba použít vyšší teploty (var) nebo se jejich obsah dá snížit klíčením. Nejzávažnější antinutriční účinky má lektin fazolu obecného PHA (fytohemaglutinin). Při vysoké konzumaci může způsobit závažné zdravotní problémy. Toxická dávka lektinů pro člověka je 150 – 200 mg, smrtelná dávka pak 20 g [31,33,34].

Antigenní bílkoviny jsou odolné proti štěpení trávicími enzymy. Mohou překonávat střevní bariéru nerozštěpené a vyvolat imunitní odpověď. Jejich výskyt v krmivu pak u senzibilizovaných jedinců způsobí poškození střevní mukózy. To vede ke zhoršení trávicí a absorpční funkce střeva. Může také dojít ke zrychlení pohybu tráveniny a průjmům. Bílkoviny jsou termostabilní [32,33,34].

Saponiny jsou glykosidy, které dostaly název podle schopnosti vytvářet pěnu a podle smáčecích účinků. Mají hořkou nebo svíravou chuť a jejich účinek spočívá ve schopnosti tvořit komplexy se steroly nacházejícími se v membránách, čímž zvyšují jejich propustnost. Takto mohou poškozovat buňky mukózy tenkého střeva, které se ale pravděpodobně odstraní při normální obměně střevního epitelu. Nepříznivý účinek spočívá v tom, že přes poškozené membrány mohou přejít některé nežádoucí složky tráveniny. Saponiny mohou působit také příznivě, protože reagují se steroly v trávenině, zejména cholesterolem, za vzniku nerozpustných komplexů, čímž brání jejich vstřebávání [31,33,34].

Kyselina fytová je další z antinutričních látek obsažených ve fazolích. Jedná se o zásobní formu fosforu obsaženou v rostlinách. Z chemického hlediska se jedná o myo-inozitolhexafosfát. Látky na bázi kyseliny fytové můžeme najít především v obalových vrstvách semen. Obsah kyseliny fytové a fytátů v luštěninách se pohybuje kolem 1 – 2 % [4,35,36,37].

Fytáty mají vysokou schopnost chelátovat multivalentní kovové ionty a další prvky (zinek, železo, vápník a hořčík). Dochází ke vzniku komplexů, které jsou nerozpustné ve střevě při fyziologickém pH, čímž se snižuje absorpce minerálních látek. Nejvýznamněji je ovlivněna absorpce železa a zinku, která se ukázala být nízká při stravě založené na luštěninách. Jiné zdroje však uvádějí, že dostupnost zinku (a vápníku) není ovlivněna. Současně se tyto látky mohou podílet na inhibici některých důležitých trávicích enzymů (pepsin, trypsin, α -amyláza) [36,35]. Snižování obsahu fytátů a kyseliny fytové nemusí být nezbytné pro zlepšení utilizace všech živin, nicméně jejich přítomnost může skutečně snižovat využití některých mikronutrientů. Míra absorpce minerálních látek je však závislá na skladbě celé stravy. Ve vyvážené stravě obsahující živočišné proteiny neznamena vysoký příjem luštěnin riziko neadekvátního zásobení minerálními látkami [4,39,40].

1.3 Nutriční význam a zdravotní účinky

Suchá semena luštěnin řadíme mezi potraviny, které jsou dobrým zdrojem bílkovin, sacharidů, či polyfenolů, tj. látek s antioxidačními účinky významnými pro výživu člověka. Látky obsažené v luštěninách vykazují příznivé zdravotní účinky, ať už protizánětlivé, antimutagenní nebo antikarcinogenní [1,6,7,18].

Bílkoviny fazolí nejsou z biologického hlediska zcela plnohodnotné. Limitujícími aminokyselinami jsou především sírné aminokyseliny a tryptofan, dají se ale vhodně kombinovat například s obilovinami, různými semeny nebo kvasnicemi a tak tělu dodat plnohodnotné proteiny. Toto je vhodné především u veganské stravy [1,18,19].

Fazole patří mezi potraviny, které jsou bohatým zdrojem bílkovin a rozpustné vlákniny. Jejich glykemický index (GI) je velmi nízký. Nejnižší glykemický index z luštěnin má sója a to asi 25 (100 % bílý chléb GI). Sójové výrobky, např. sójová mouka, sójové mléko a tofu, mohou příznivě ovlivnit hladinu krevního cukru. Glykemický index vařených fazolí je asi 47 (100 % bílý chléb GI). Značný význam mají nižší hodnoty GI pro osoby s rizikem diabetu a obezity. Potraviny s nízkým GI mají důležité zastoupení ve stravě, která se může podílet na snížení rizika srdečních a cévních chorob i některých nádorových onemocnění [18,19,20].

Pravidelnou konzumací fazolí lze udržet hladinu cholesterolu v přijatelné normě. Experiment, který se prováděl ve Spojených státech, ukázal, že konzumací 120 g fazolí denně po dobu tří týdnů klesne hladina cholesterolu a triacylglycerolů v krvi o 10 %. Tento účinek je dán vysokým obsahem vlákniny, která střeva zbavuje cholesterolu a jeho prekurzorů (žlučových solí) a pomáhá při jejich vylučování sliznicí [6,7].

Díky vysokému obsahu celulózové vlákniny jsou fazole účinné při zácpě. Jsou i dobrým nástrojem prevence divertikulózy (výskyt četných vychlípenin střevní stěny) a karcinomu tlustého střeva a konečníku. Fazole jsou ideální potravina pro lidi s vysokým krevním tlakem (hypertenzí) protože obsahuje minimální množství sodíku a velké množství draslíku. Tato luštěnina obsahuje vysoké množství železa. Díky rovnováze léčivých a nutričních vlastností je velmi vhodná pro lidi s anémií a lidi trpící podvýživou [1,6,7].

Fazole chrání pokožku a sliznici, protože obsahují niacin a kyselinu pantotenovou, které jsou pro zdraví kůže nezbytné. Jedna porce vařené fazole přibližně pokryje doporučenou denní dávku kyseliny listové pro dospělého člověka. V případě těhotenství a u lidí s vyšším

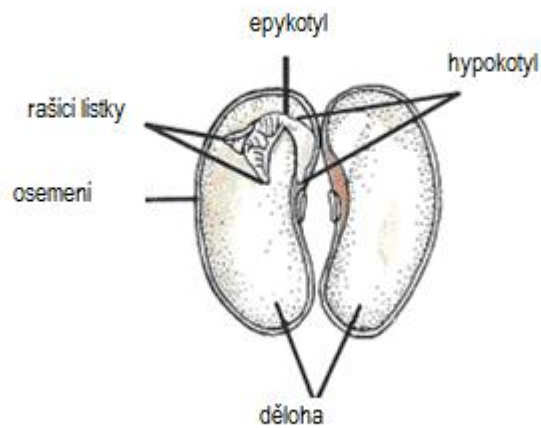
rizikem ischemické choroby srdeční je doporučená denní dávka kyseliny listové dvojnásobně vyšší [7,18].

Droga ve fazolových luscích působí diuretický a mírně snižuje krevní tlak, obsahuje antidiabetické glukokininy a arginin. Pije se odvar před jídlem při zadržování vody v těle nebo při nemocech ledvin a močových cest. Jako pomocný lék se fazolové lusky používají při léčbě lehkých forem cukrovky. Droga je obsažena v čajovém přípravku Diabetan [6,7].

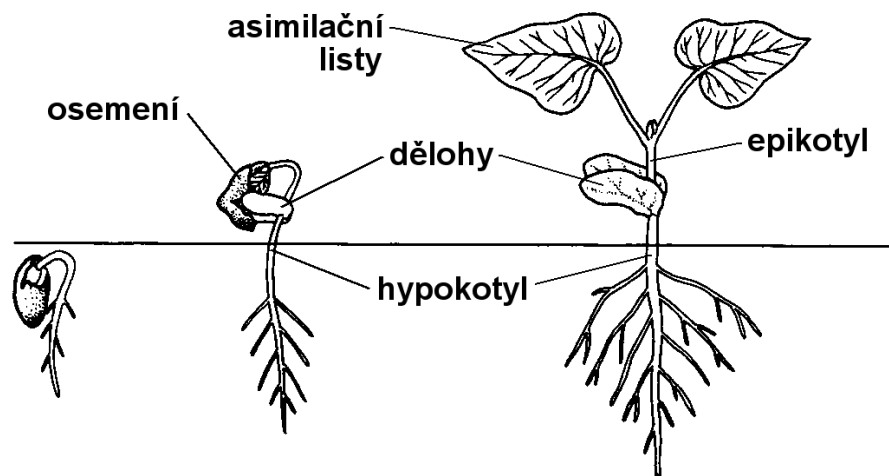
Zelené fazolové lusky mohou u náchylných lidí vyvolat kožní onemocnění způsobené toxalbuminem fasinem, kterému se v konzervárenství říká fazolový svrab. U někoho se objeví i dávení a průjemy, záněty střev a podobně [7,18].

2 KLÍČENÍ FAZOLÍ

Klíčení fazolí probíhá jako epigeické. Nejdříve vyrostou kořínky (radikula), jeho vrchol se následně zakříví a vniká do půdy, prodlužuje se epikotyl. Později vyrůstá hypokotyl, což je poddélkový článek na pomezí stonku a kořene, který vynese dělohy nad povrch země (viz Obrázek 2). Následně dělohy v důsledku asimilace zezelenají. Plumula začíná rašit v prýt, který po vyrašení asimilačních listů zasychá [38]. Klíčení a růst fazolí viz Obrázek 3.



Obrázek 2 Průřez semenem fazolu [41]



Obrázek 3 Klíčení fazolu [41]

Naklíčené fazole a klíčky patří mezi potraviny s vysokým koncentrovaným obsahem všech živin. Při klíčení dochází k řadě biochemických přeměn. Tyto přeměny jsou z velké části katalyzovány enzymy. Klíčením dochází především k významnému zvýšení vlhkosti a ztrátám sušiny. Ztráty sušiny jsou způsobené především z důvodu zvýšené metabolické aktivity a tím potřebné energie pro tyto procesy. Proto dochází k částečnému rozkladu a oxidaci škrobu [41,43,44].

Dochází k přeměně sacharidů na jednoduché cukry. Oligosacharidy způsobující nadýmání nejsou tráveny v tenkém střevě, jelikož se v tenkém střevě nenachází α -galaktosidáza štěpící tyto sacharidy (ke štěpení α -1,6 vazeb galaktózy). Beze změny tak prochází až do tlustého střeva kde jsou podrobeny bakteriální fermentaci. Tato fermentace je doprovázena tvorbou plynu (oxid uhličitý, vodík, případně metan), což způsobuje nadýmavost, někdy také osmotický průjem a abdominální bolesti. Jsou termostabilní a nejsou odstraněny zahříváním, jsou však vysoce rozpustné ve vodném roztoku. Klíčením, při kterém dochází k absorpci vody, se tak dá snížit nadýmavost luštěnin [23,335,38].

Klíčení zahrnuje komplexní enzymatické reakce, při kterých se rozkládají makromolekuly jako škrob, bílkoviny, komplexní lipidy a podobně na menší celky. Tento proces činí fazole lépe stravitelnými. Naklíčené fazole jsou lépe stravitelné i proto, že dochází k výraznému snížení obsahu antinutričních látek (lektiny, saponiny, aj.) [41,44].

Obsah hrubého proteinu po vyklíčení ve srovnání se syrovými fazolemi je nižší. Podle Mbiti-Mwikya a kol. [22] je tato ztráta připisována vyluhování rozpustných dusíkatých látek a dalších živin při klíčení. Obsah jednotlivých aminokyselin se při klíčení zvyšuje i snižuje, v důsledku působení proteolytických enzymů. Celkově ale dochází k poklesu obsahu aminokyselin způsobeného jejich degradací v průběhu klíčení [41,43,44].

Klíčením se zvyšuje obsah vitaminů, zejména vitaminu C, kyseliny listové a vitaminu E, jež svými antioxidačními účinky dále zvyšují zdravotní přínos luštěnin. Dobrým zdrojem draslíku a železa jsou především klíčky mungo a adzuki fazole. [20,35,47].

3 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ FAZOLÍ

V dalších podkapitolách jsou blíže popsány druhy fazolí použité pro analýzy v této diplomové práci.

3.1 Fazole strakatá velká

Peruánští indiáni je znali a pěstovali už před více než 10 000 lety, k nám se fazole dostaly až nějakou dobu po objevení Ameriky. Od té doby se staly důležitou součástí jídelníčku pro svůj obsah rostlinných bílkovin, vlákniny, vitaminů a minerálních látek. Navíc je každá z více než 500 pěstovaných odrůd přirozeně bezlepková. Strakaté velké fazole (viz Obrázek 4) se pro svou měkčí konzistenci výtečně hodí do salátů i jako příloha [47].



Obrázek 4 Fazole strakatá velká [48]

3.2 Fazole pinto

Fazole pinto (viz Obrázek 5) patří mezi středně velké strakaté fazole. Jejich chuť je pikantní a má moučnou konzistenci. Je vhodná pro široké použití. Fazole pinto je populární zejména ve Spojených státech amerických a Mexiku, kde patří mezi základní potraviny zdejších obyvatel [1,49].



Obrázek 5 Fazole pinto [50]

3.3 Fazole červená ledvina

Fazole červená ledvina (viz Obrázek 6) patří mezi oblíbené hlavně v oblastech jižní Ameriky. Je bohatá na bílkoviny, minerální látky a vitaminy. Z vitaminů je to především skupina B komplexu, zejména kyselina listová. Důležitou roli v organismu má i vláknina regulující hladinu cholesterolu v krvi a podporující peristaltiku střev. Významný je obsah železa [51].



Obrázek 6 Fazole červená ledvina [52]

3.4 Fazole mungo

Mungo (viz Obrázek 7) jsou malé, olivově zelené fazole. Z Indie se rozšířily na východ a do střední Asie, později i do Evropy. Mungo zrají velmi rychle, mají specifické a zajímavé aroma. Z nutričního hlediska jsou významné pro vysoký podíl vitaminů a proteinů (až 25 %).

V Indii stojí v popředí jednoznačně využití suchých Mungo fazolí, které jsou vařeny na tzv. dhal, což je kořeněná kaše, nebo orestovány s trochou tuku a nabízeny k čaji. V Číně jsou zase zpracovávány klíčky z mungo jako „fen-tiao“ nudle, což je pokrm připravovaný z nudlí a klíčků mungo fazole.

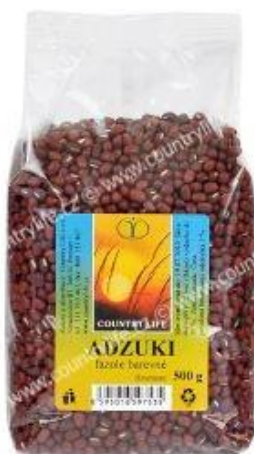
Mungo je ideální plodinou k naklíčování. Naklíčená semena obsahují mimořádně mnoho bílkovin, železa a téměř všechny hlavní vitaminy skupiny B. K zachování nutriční hodnoty je vhodné naklíčené mungo konzumovat syrové nebo se doporučuje po naklíčení krátce blanžirovat. Chutí připomíná zelený hrášek [53].



Obrázek 7 Fazole mungo [54]

3.5 Fazole adzuki

Fazole adzuki je drobnosemenná červenohnědá fazole. Svoji oblibu má hlavně v japonské kuchyni. Je bohatým zdrojem vlákniny, která pomáhá snižovat obsah cholesterolu. Je zdrojem mnoha minerálů jako hořčíku, draslíku, vápníku, fosforu, železa, zinku a mědi. Má velmi nízké procento tuků. Obsahuje také inhibitory proteáz, které potlačují růst nádorových buněk. Fazole adzuki (viz Obrázek 8) jsou velice dobře stravitelné a mají blahodárný vliv na činnost ledvin [49,55,56].



Obrázek 8 Fazole adzuki [57]

3.6 Fazole černé oko

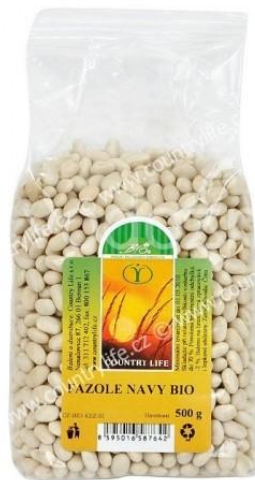
Pro fazoli černé oko (viz Obrázek 9) je charakteristická skvrna žluté nebo černé barvy na krémovém podkladu. Je typická jemnou chutí. Čím je však tmavší, tím má výraznější chuť. Je bohatým zdrojem kyseliny listové. U nás není ještě úplně rozšířená. Pochází z jižní Afriky, odkud byla dovezena s otroky až do Ameriky [1,49].



Obrázek 9 Fazole černé oko [58]

3.7 Fazole navy bio

Fazole navy (viz Obrázek 10) vyniká jemnou chutí. Je skvělým zdrojem bílkovin. Zároveň obsahuje hodně vlákniny a je tak vhodnou potravinou pro diabetiky, kterým vyrovnává hladinu krevního cukru. Fazole navy je také velmi dobrým zdrojem manganu, kyseliny listové a hořčíku. Díky výhodnému poměru obsahu draslíku a sodíku přispívá k prevenci vysokého krevního tlaku a aterosklerózy. Populární je zejména v USA, ve Velké Británii a ve Francii (kde je známá pod názvem Haricot). Za svůj název vděčí tomu, že byla jednou ze základních potravin amerického námořnictva na začátku dvacátého století [59].



Obrázek 10 Fazole Navy Bio [59]

4 ANALÝZA OBSAHU AMINOKYSELIN

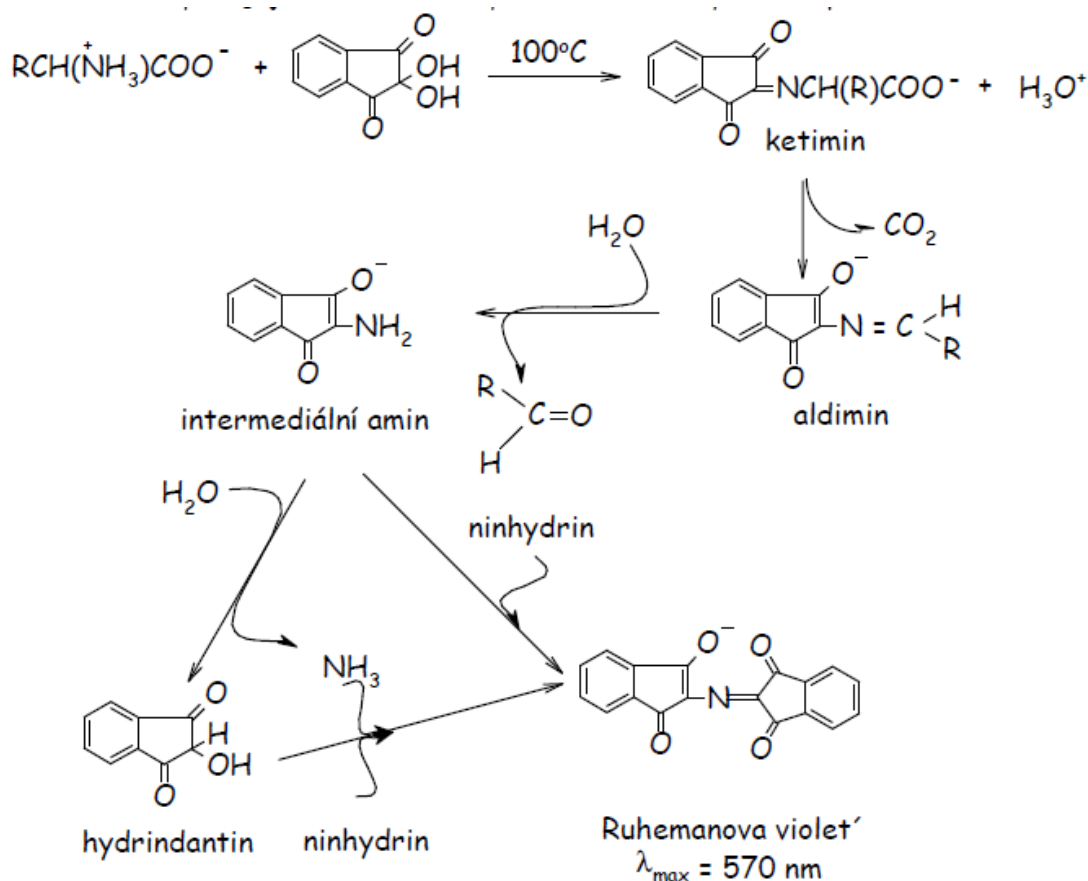
Nejvhodnějšími metodami pro dělení směsi aminokyselin jsou různé typy chromatografie. Hlavní rozdíly mezi aminokyselinami jsou v náboji a polaritě. Tyto difference lze využít při papírové, tenkovrstvé, iontoměničové, plynové a vysokotlaké kapalinové chromatografii. Aminokyseliny lze stanovit i spektrofotometricky. Vlastnímu stanovení aminokyselin předchází hydrolyza bílkovin a to buď kyselá, alkalická, enzymatická nebo působením mikrovlnného ohřevu [60,61,62].

4.1 Tenkovrstevná chromatografie TLC a papírová chromatografie PC

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC, thin layer chromatography) může být typu kapalina-kapalina nebo kapalina-tuhá látka. V obou případech je mobilní fází kapalina. Stacionární fází je v případě TLC chromatografie buď kapalina zakotvená v tenké vrstvě na podložním materiálu, nebo pevná látka (adsorbent) v podobě tenké vrstvy. Používanými mobilními fázemi jsou například: cyklohexan, isopropanol, aceton, voda, toluen apod. Stacionárními fázemi mohou být: silikagel, oxid hlinitý, iontoměniče apod. Jako podložní materiál se pro stacionární fáze používají skleněné desky nebo hliníkové fólie [61].

Na tenkou vrstvu nebo chromatografický papír se na startovní místo nanese kapka analyzované směsi. Tenká vrstva se jedním koncem ponoří do mobilní fáze, tak, aby startovní pozice kapek analytu zůstaly nad hladinou mobilní fáze. Mobilní fáze vzlíná tenkou vrstvou, přičemž dochází k transportu a dělení analyzované směsi. Analýza se ukončuje, když čelo mobilní fáze dorazí do blízkosti protilehlého konce tenké vrstvy. Čelo mobilní fáze se označí a tenká vrstva se vysuší. Vysušená vrstva, na které jsou patrné skvrny jednotlivých složek směsi v různé vzdálenosti od startu, představuje chromatogram. Detekce se provádí roztokem ninhydrinu, aminokyseliny s ním reagují za vzniku modrých až modrofialových skvrn. Oxidačně-redukční reakcí ninhydrinu (2,2-dihydroxy-1,3-indandion) s volnými amino- a imino- skupinami vznikají barevné produkty. Reakcí s primárními aminoskupinami modrofialový, který se nazývá Ruhemanova violeť ($\lambda_{\max} = 570 \text{ nm}$). Reakcí s iminoskupinami, např. u prolinu a jeho derivátů, žlutý ($\lambda_{\max} = 440 \text{ nm}$). V peptidech a proteinech, kde jsou aminokyseliny vázány peptidovou vazbou, reaguje pouze volná ϵ -aminoskupina lyzinu. Pro zvýšení citlivosti reakce se přidává do reakční směsi částečně redukovaný ninhydrin zvaný hydrindantin, který reaguje s uvolněným amoniakem za výrazného prohloubení zbarvení (schéma reakce viz Obrázek 11) [61,64].

Papírová chromatografie (PC) se provádí stejným způsobem s tím rozdílem, že místo tenké vrstvy je používán chromatografický papír [61].



Obrázek 11 Princip ninhydrinové reakce [61]

4.2 Vysokoučinná kapalinová chromatografie HPLC

HPLC je jednoduchá a rychlá metoda pro analýzu aminokyselin, je velmi důležitá v biologickém a biomedicínském výzkumu. Zkratka je odvozena od dvou přípustných názvů této techniky a to „high performance liquid chromatography“ (vysokoučinná kapalinová chromatografie) nebo „high pressure liquid chromatography“ (vysokotlaká kapalinová chromatografie). Je založena na klasické iontovýměnné chromatografii. Dnes je tato metoda nezbytná pro stanovení volných aminokyselin. Výhodou tohoto stanovení je jeho reprodukovatelnost, přesnost, rychlost a nízké provozní náklady [63].

Mobilní fází je v tomto případě kapalina (eluent). Stacionární fází je film příslušné látky zaktovený na povrchu nosiče nebo pevný adsorbent. Na horní vrstvu náplně se dávkuje vzorek, který je unášen mobilní fází, která postupuje kolonou, složky se od sebe separují a v různých časech opouští kolonu. Zrníčka sorbentu kladou kapalině odpor, proto se pracuje za vysokého tlaku. Vzhledem k rozdílným chemickým vlastnostem aminokyselin se k jejich separaci používá výhradně gradientová eluce o různém složení mobilních fází. K detekci se používají fluorescenční nebo UV detektory (338 nm a 266 nm). Mezi derivatizační činidla při stanovení aminokyselin lze zařadit ninhydrin, fenylizotiokyanát, naftylizotiokyanát, benzoylchlorid, 2,4-dinitro-1-fluorbenzen. Přístroj, na kterém se provádí HPLC analýzy se nazývá kapalinový chromatograf [61,62].

4.3 Plynová chromatografie GC

Plynová chromatografie používá jako mobilní fází plyn a jako stacionární fází kapalinu zaktovenou na povrchu pevné látky (GLC) nebo pevnou látku (GSC). Přístroj používaný pro plynovou chromatografii se nazývá plynový chromatograf [61].

Nosný plyn slouží v GLC chromatografii jako transportní médium pro plynnou směs, která je analyzována. Nosný plyn neinteraguje se stacionární fází ani se složkami analyzované směsi na rozdíl od kapalinové chromatografie, kde dochází k významné interakci mezi mobilní fází a analyzovanou směsí. Jako nosný plyn se používají plyny He, Ar, N₂, H₂, CO₂. Jako stacionární fáze bývají zpravidla používány polyetylglykoly, polypropylglykoly, polyetylglykoladipáty, metylpolysiloxany a další [61,63].

Separční kolona uvnitř termostatu je ohřívána na určitou teplotu, vhodnou pro danou analýzu, kterou udržuje nebo programovatelně mění termostat. Do kolony vchází nosný plyn o konstantní průtokové rychlosti. Výstup z kolony je zaveden do příslušného detektoru. Do proudu nosného plynu je přes nástřikový port nastříknut vzorek analyzované směsi (kapalný, plynný). Nosný plyn unáší plynnou směs analyzované látky a nosného plynu skrze kolonu kde nastává její dělení na jednotlivé složky. Principem dělení směsi na složky je v případě GC rozdílná rozpustnost těchto složek ve stacionární fází. Čím je daná složka směsi rozpustnější ve stacionární fází, tím více je kolonou její průchod zpomalován. Jednotlivé složky směsi pak vchází do příslušného detektoru, jehož signál je zaznamenáván a tisknut v podobě chromatogramu.

Aminokyseliny lze stanovovat plynovou chromatografií ve formě esterů. Obvykle se proto při stanovení provádí dvoustupňová derivatizace. V prvním kroku se provede esterifikace aminokyseliny alkoholem např. metanolem, propanolem, butanolem v prostředí kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 3 mol.dm^{-3} . Následuje acylace aminoskupiny esteru anhydridem kyseliny (např. octové, trifluoroctové, pentafluorpropanové, heptafluorbutanové). [61,63].

4.4 Iontově-výměnná chromatografie IEC

Iontově-výměnná chromatografie je metoda založená na vratné výměně iontů mezi mobilní a stacionární fází. Jednotlivé látky se vážou na ionex pouze tehdy, jestliže nesou náboj opačný než je náboj ionexu. Mohou být použity oba druhy iontoměníčů: anexy, které jsou kladně nabitě, a tedy vážou anionty, nebo katexy, které jsou nabitě záporně a vážou kationty. K separaci látek ze směsi dochází proto, že jednotlivé látky mají různou afinitu k ionexu, způsobenou rozdíly v nábojích. Síla vazby závisí na velikosti rozdílu v nábojích mezi ionexem a danou látkou [61,63].

V případě analýzy aminokyselin je kolona naplněná iontoměníčem s negativním nábojem (katexem). Na začátek kolony jsou při nízkém pH přivedeny aminokyseliny, které mají kladný náboj. Aby došlo k chromatografickému dělení, je potřeba kolonu promývat mobilní fází (citrátové pufr). Pufr umožňuje zvýšení pH a iontové síly, čímž je aminokyselina převedena do izoelektrického bodu, její ionty ztrácí přitažlivost k iontoměníči a opouští kolonu. Izoelektrické body jsou dosaženy v různých časech, díky čemuž dojde k dělení aminokyselin [61,64].

Na principu střednětlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou, postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí pracuje Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400. Tento přístroj je vhodný pro analýzu aminokyselin v hydrolyzátech bílkovin, peptidů, pro stanovení volných aminokyselin ve fyziologických roztocích a extraktech a pro stanovení biogenních aminů [63,64].

4.5 Hydrolýza bílkovin

Cílem hydrolýzy je rozštěpení makromolekul bílkovin na jednotlivé jednotky – aminokyseliny. Hydrolýza se provádí v kyselém či alkalickém prostředí, působením enzymů nebo mik-

rovninného ohřevu. Každá z metod má své určité výhody i nevýhody. Po hydrolýze následuje vlastní stanovení aminokyselin některou z výše uvedených metod [60].

4.5.1 Kyselá hydrolýza

Kyselá hydrolýza bílkovin bývá nejčastěji prováděna pomocí kyseliny chlorovodíkové. Používá se 6 mol.l⁻¹ HCl, hydrolýza pak probíhá při 110 °C, 20 až 24 hodin. Při kyselé hydrolýze však dochází k totální destrukci tryptofanu, částečné oxidaci cysteinu na cystin a hydrolýze amidových vazeb glutaminu a asparaginu na kyselinu glutamovou a asparagovou. Serin a treonin jsou částečně hydrolyzovány, obvykle asi z 10 a 5 %. Byly zjištěny ztráty i u tyrozinu, které jsou závislé na obsahu nečistot [60,65,66]. Jako ochranná činidla, mající snížit ztráty aminokyselin během hydrolýzy, bývají využívány např. fenol, tioglykolová kyselina, merkaptoetanol, indol a tryptamin, které se přidávají ve velmi malém množství k analyzovanému vzorku bezprostředně před hydrolýzou [60,65].

4.5.2 Alkalická hydrolýza

Alkalická hydrolýza je výhradně používána pro stanovení tryptofanu, který je v alkalických podmínkách poměrně stabilní, ale při kyselé hydrolýze dochází k jeho degradaci. Hlavní nevýhodou této metody je to, že serin, treonin, arginin a cystein jsou při hydrolýze zničeny a další aminokyseliny racemizovány. Pro alkalickou hydrolýzu se využívá nejčastěji NaOH, KOH, LiOH nebo Ba(OH)₂ [60,67].

4.5.3 Enzymatická hydrolýza

Enzymatická hydrolýza je používána především pro stanovení asparaginu a glutaminu. Nedochozí při ní k tak velikým ztrátám. Je šetrnější než kyselá a zásaditá hydrolýza a nedochází k tak velkým ztrátám. Nebývá moc často uplatňována v praxi, především kvůli specifitě proteáz a délce enzymatických reakcí, které dělají stanovení obtížnějším [60].

4.5.4 Stanovení cysteinu, metioninu a tryptofanu

Cystein a metionin nemůže být stanoven s úplnou přesností v důsledku jejich vedlejších reakcí při hydrolýze bílkovin a následném nedostatečném stanovení na analyzátoru aminokyselin. Proto se obvykle stanovuje po předběžné oxidaci vzorku kyselinou permravnění (směs kyseliny mravnění a peroxidu vodíku v poměru 1:9), čímž dochází ke konverzi sirných ami-

nokyselin. Cystein se oxiduje na cysteovou kyselinu a metionin na metioninsulfon. Při následné kyselé hydrolyze jsou pak tyto deriváty mnohem stabilnější. Jedná se o oxidativně-kyselou hydrolyzu [60,67].

Při stanovení tryptofanu je jedním z problémů jeho nízká stabilita, především v přítomnosti nebílkovinných složek (cukry). U bílkovin neobsahujících cukry lze tomuto problému předcházet přidáním merkaptosloučenin nebo aryl- a alkylsulfonových kyselin k hydrolyzačnímu činidlu [60]. Další možností stanovení tryptofanu je již zmíněná alkalická hydrolyza.

4.5.5 Mikrovlnný ohřev

Mikrovlnný ohřev je používán především pro zkrácení doby hydrolyzy a jako náhrada klasického ohřevu. Pro kapalnou fázi je to obvykle 1 – 30 minut a pro plynnou 20 – 45 minut. Výsledky jsou obdobné jako u běžné hydrolyzy. Substráty ať už v plynné či kapalně fázi mohou být hydrolyzovány HCl nebo jakýmkoliv jiným činidlem [60].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit aminokyselinové složení vybraných druhů fazolí v syrovém stavu a po 48 hodinovém klíčení. Po dosažení tohoto hlavního cíle byly stanoveny následující dílčí cíle:

- zpracovat literární rešerži zabývající se obecně fazolemi, jejich chemickým složením, morfologií, nutričním významem, charakteristikou vybraných druhů fazolí, popisem klíčení fazolí a analýzou obsahu aminokyselin
- u vybraných druhů fazolí v syrovém stavu a po 48 hodinovém klíčení stanovit celkový obsah dusíkatých látek a aminokyselin
- statisticky zhodnotit získané výsledky a diskutovat je s dostupnou odbornou literaturou

6 METODIKA

6.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

6.1.1 Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková, Ing. Petr Lukeš
- Kyselina mravenčí, Ing. Petr Lukeš
- Peroxid vodíku, Ing. Petr Lukeš
- Kyselina sírová, Lach-Ner s.r.o., Neratovice
- směsný katalyzátor $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ (poměr 10:1), Ing. Petr Lukeš
- Pufr pH 2,2
- Kyselina citronová, LACHNER
- Chlorid sodný, Ing. Petr Lukeš
- Thiodiglykol, ZMBD Chemik s.r.o.
- Azid sodný, ZMBD Chemik s.r.o.
- Citronan sodný, LACHNER
- Hydroxid sodný, PENTA
- Kyselina boritá, ZMBD Chemik s.r.o.
- Ninhydrin, ZMBD Chemik s.r.o.
- Methylcellosolv, ZMBD Chemik s.r.o.
- Hydrintantin, ZMBD Chemik s.r.o.
- Acetátový pufr, ZMBD Chemik s.r.o.
- Tashirův indikátor
- Standardy aminokyselin

6.1.2 Přístroje a pomůcky

- běžné laboratorní pomůcky a sklo
- analytické váhy (OHAUS)
- mineralizátor Bloc Digest 12 (J.P.Selecta)
- mineralizační zkumavky

- Parnas-Wagnerova a aparatura
- tyčový mixér MR 6560 MCA (BRAUN)
- elektrický mlýnek COMBI STAR (Waldner Biotech, GmbH)
- sušárna Venticell (BMT Medical Technology s.r.o.)
- vakuová rotační odparka LABOROTA 4010 DIGITAL (Heidolph)
- automatický aminokyselinový analyzátor AAA 400 (INGOS)
- termoblok
- olejová lázeň
- automatický titrátor

6.2 Analyzované vzorky

Analýzy byly provedeny na vybraných sedmi vzorcích fazolí, zakoupených v prodejně se zdravou výživou ve Zlíně, viz Tabulka 4.

Tabulka 4 Charakteristika analyzovaných vzorků fazolí

Označení vzorku	Druh fazole	Prodejce	Země původu	Obsah balení	Obal
1.	strakatá velká	Zdraví z přírody	Čína	500 g	PVC
2.	pinto	Zdraví z přírody	Kanada	500 g	PVC
3.	červená ledvina	Zdraví z přírody	Kanada	500 g	PVC
4.	mungo	Zdraví z přírody	Čína	500 g	PVC
5.	adzuki	Country Life, s.r.o.	Čína	500 g	PVC
6.	černé oko	Country Life, s.r.o.	USA	500 g	PVC
7.	navy bio	Country Life, s.r.o.	Čína	500 g	PVC

Všechny vzorky fazolí byly analyzovány jednak v syrovém stavu, a jednak po 48 hodinovém naklíčení. Fotografie fazolí po 48 hodinovém klíčení jsou přiloženy v Příloze P I. Syrové fazole byly před vlastní analýzou rozemlety pomocí elektrického mlýnku a dále uchovávány

v uzavřených nádobách v suchu a temnu. Klíčení probíhalo 48 hodin na navlhčené vatě, při pokojové teplotě a vzorky byly podle potřeby pravidelně oplachovány vodou. Před analýzou byly dělohy i s klíčky rozmixovány tyčovým mixérem.

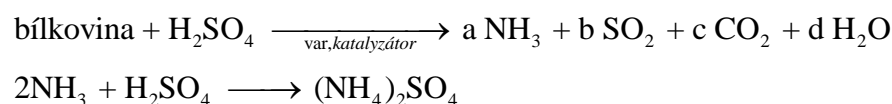
6.3 Principy použitých analýz

6.3.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek dle Kjeldahla

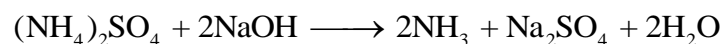
Princip:

Ke stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (hrubých bílkovin) v potravinách a potravinářských surovinách se nejčastěji používá metoda založená na stanovení množství přítomného dusíku podle Kjeldahla.

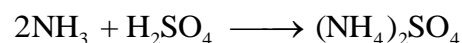
Dusíkaté látky organicky vázané se mineralizují mokrou cestou působením kyseliny sírové a převedou se na $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Rozklad se urychluje zvýšením teploty varu (např. K_2SO_4) a vhodným katalyzátorem, např. síranem draselným, síranem měďnatým a přísadkou selenu, titanu nebo mědi. Dusík, který byl v bílkovinách nebo aminokyselinách ve formě aminoskupiny nebo iminoskupiny se mineralizací převede na síran amonný:



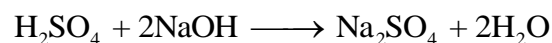
Ze síranu amonného se potom uvolní amoniak koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného a přehání se vodní parou v Parnas-Wagnerově destilační aparatuře (viz Obrázek 12):



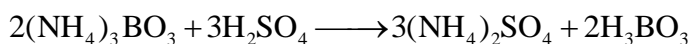
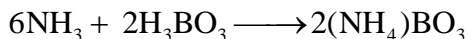
Vydestilovaný amoniak kondenzuje s vodní parou a jímá se v předloze se známým nadbytečným množstvím odměrného roztoku kyseliny sírové:



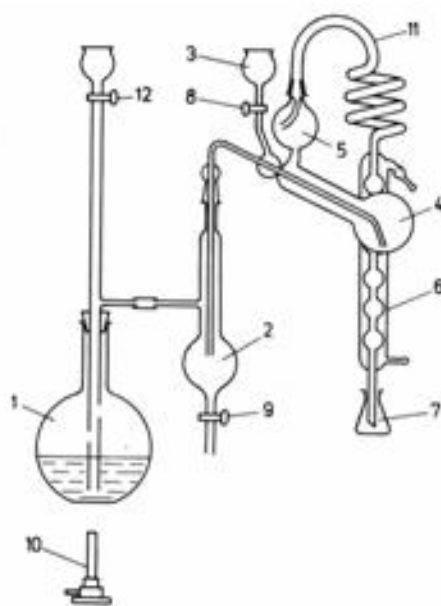
Nespotřebované množství kyseliny sírové se stanoví titračně odměrným roztokem hydroxidu sodného na vhodný indikátor (Tashirův indikátor nebo metylčerven):



V případě stanovení hrubých bílkovin Kjeldahlovou metodou v úpravě podle Winklera se uvolněný amoniak jímá do předlohy s 2% kyselinou boritou a vzniklý boritan amonný se titruje roztokem kyseliny sírové na Tashirův indikátor či metylčerven:



Obsah dusíku se vypočítá z množství spotřebovaného hydroxidu či kyseliny. Výsledek je nutno přepočítat na navážku a vynásobením faktorem 6,25 získáme % hrubé bílkoviny v analyzovaném vzorku [60,68].



Obrázek 12 Nákres Parnas-Wagnerovy aparatury [68]

- | | |
|----------------------------------------|-----------------------------|
| 1 – vyvíječ páry | 6 – chladič |
| 2 – přestupník s odkalovacím prostorem | 7 – předloha |
| 3 – přívod vzorku | 8, 9, 12 – skleněné kohouty |
| 4 – destilační baňka | 10 – kahan (topné hnízdo) |
| 5 – odlučovač kapek | 11 – přestupník |

Pracovní postup:

Vzorek byl navážen s přesností na čtyři desetinná místa do suché mineralizační zkumavky (0,5 g). Poté bylo ke vzorku přidáno 10 ml koncentrované kyseliny sírové, pár kapek peroxidu vodíku a lžička směsného katalyzátoru ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ v poměru 10:1). Zkumavka byla vložena do mineralizátoru a bylo nasazeno zařízení na jímání par. Byl zapnut vyhřívací blok a pračka plynů. Teplota temobloku byla 400 °C a mineralizace probíhala 1 hodinu, poté byl přístroj vypnut a zkumavky byly ponechány vychladnout ve stojanu se zapnutou pračkou par. Vznikl čirý roztok světle zelené barvy. Následně byl vzorek kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a doplněn po rysku destilovanou vodou.

Destilace probíhala v Parnas-Wagnerově aparatuře. Pod ústí chladiče byla umístěna titrační baňka s 50 ml 2% kyseliny borité a do destilační baňky bylo odpipetováno 10 ml vzorku a 20 ml 30% roztoku hydroxidu sodného. Destilace trvala od počátku varu 15 minut. Poté bylo ústí chladiče opláchnuto vodou. Do titrační baňky bylo přidáno několik kapek indikátoru Tashiro a ihned titrováno 0,025 mol.l⁻¹ roztokem kyseliny sírové do stálého růžovofialového zabarvení.

Každý vzorek byl 2x mineralizován a každý mineralizát pak 2x destilován (n = 4)

Obsah hrubé bílkoviny byl vypočítán pomocí vzorce:

$$\text{HB} = \frac{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot c_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot M \cdot f_t \cdot f_z \cdot f_{pr} \cdot 100}{n}$$

HB – množství hrubé bílkoviny (%)

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ – spotřeba odměrného roztoku (l)

$c_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ – koncentrace odměrného roztoku (0,0252 mol.l⁻¹)

M – molární hmotnost dusíku (14,01 g.mol⁻¹)

f_t – titrační faktor (2)

f_z – zředovací faktor (50/10 = 5)

f_{pr} – přepočítávací faktor (průměrný obsah dusíku v proteinech: 16 % $\Rightarrow \frac{100}{16} = 6,25$)

n – navážka vzorku (g)

6.3.2 Stanovení obsahu aminokyselin

Princip:

Pro zjištění celkového obsahu aminokyselin se vázané aminokyseliny ze vzorků uvolňují kyselou hydrolyzou. Sírné aminokyseliny (cystein a metionin) se před kyselou hydrolyzou oxidují na kyselinu cysteovou a metioninsulfon, protože při kyselé hydrolyze by docházelo k jejich rozkladu. Uvolněné aminokyseliny se analyzují pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie na Automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 (viz Obrázek 13) s využitím postkolonové ninhydrinové derivatizace a spektrofotometrické detekce (440 nm pro prolin a 570 nm pro ostatní aminokyseliny) [64,68].

Pracovní postup:

0,1 g vzorku bylo s přesností na 4 desetinná místa naváženo do vialek, do kterých bylo přidáno 15 ml 6 mol.l^{-1} HCl. Po odstranění vzduchu argonem byly vialky dobře uzavřeny a vloženy do termobloku. Hydrolyza probíhala 23 hodin při $115 \text{ }^\circ\text{C}$. Po ukončení hydrolyzy byla ze vzorků odpařena HCl, sirupovitý odparek byl rozpuštěn v sodno-citrátovém pufru o pH 2,2 a nakonec byl vzorek přefiltrován přes $0,45\mu\text{m}$ filtr. Takto připravený vzorek byl aplikován na kolonu. Pro analýzu cysteinu a metioninu byly vzorky před vlastní kyselou hydrolyzou oxidovány směsí HCOOH a H_2O_2 (9:1). Oxidace probíhala cca 16 hodin v lednici, další postup byl stejný jako u kyselé hydrolyzy.

Každý vzorek byl analyzován 3x ($n = 3$ pro kyselou hydrolyzu), resp. 2x ($n = 2$ pro oxidativně-kyselou hydrolyzu).



Obrázek 13 Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 [68]

6.3.3 Výpočet aminokyselinového skóre a indexu esenciálních aminokyselin

K hodnocení nutriční hodnoty proteinů je třeba stanovit jejich aminokyselinové složení. Používají se dvě kritéria, aminokyselinové skóre a index esenciálních aminokyselin.

Aminokyselinové skóre (AAS) se počítá pro každou esenciální aminokyselinu. Aminokyselina, jejíž AAS je nejnižší, určuje nutriční hodnotu proteinu a nazývá se limitující aminokyselina [25].

Vzorec pro výpočet AAS (%) [25]:

$$AAS = \frac{A_x}{A_r} \cdot 100$$

A_x – obsah aminokyseliny v testovaném proteinu,

A_r – obsah aminokyseliny v referenčním proteinu

Organizacemi FAO/WHO (Organizace pro výživu a zemědělství/Světová zdravotnická organizace) byl jako referenční protein určen protein, který má optimální složení esenciálních aminokyselin a hodnota AAS pro každou z nich je 100 % [25,21]. Tabulka 5 uvádí složení tohoto standardního proteinu a doporučenou denní potřebu esenciálních aminokyselin.

Tabulka 5 Obsah esenciálních aminokyselin ve standardním proteinu (v g.16g N⁻¹) a denní potřeba těchto aminokyselin (v g) [25]

Aminokyselina	Protein FAO/WHO	Denní potřeba
Valin	5,0	11 – 14
Leucin	7,0	11 – 14
Izoleucin	4,0	10 – 11
Metionin a cystein	3,5	11 – 14
Treonin	4,0	6 – 7
Lyzin	5,4	9 – 12
Fenylalanin a tyrozin	6,1	13 – 14
Tryptofan	1,0	3 – 3,5
Celkem	36,0	

Index esenciálních aminokyselin (EAAI) vypočítává geometrický průměr relativního zastoupení všech esenciálních aminokyselin (tedy AAS) [25].

Vzorec pro výpočet EAAI [25]:

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100x_{A_{x1}}}{A_{r1}}} \cdot \sqrt[n]{\frac{100x_{A_{x2}}}{A_{r2}}} \dots \sqrt[n]{\frac{100x_{A_{xn}}}{A_{rn}}}$$

n – počet EAA (obvykle 8), význam ostatních symbolů je stejný jako u AAS

6.3.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky stanovení obsahu hrubé bílkoviny a aminokyselin byly podrobeny statistickému hodnocení s použitím parametrického testu srovnávajícího střední hodnoty dvou nezávislých výběrů (Studentův t-test). Statistická analýza byla provedena pomocí programu StatK25 na hladině významnosti 5 %.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek

U vzorků bylo provedeno stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (obsah hrubé bílkoviny) metodou podle Kjeldahla (viz Kapitola 6.3.1). V Tabulce č. 6 jsou zaznamenány výsledky tohoto stanovení, a to jak v syrových fazolích, tak ve fazolích po 48h klíčení. Dále jsou změny v obsahu hrubé bílkoviny, v závislosti na klíčení, znázorněny na Obrázku 14.

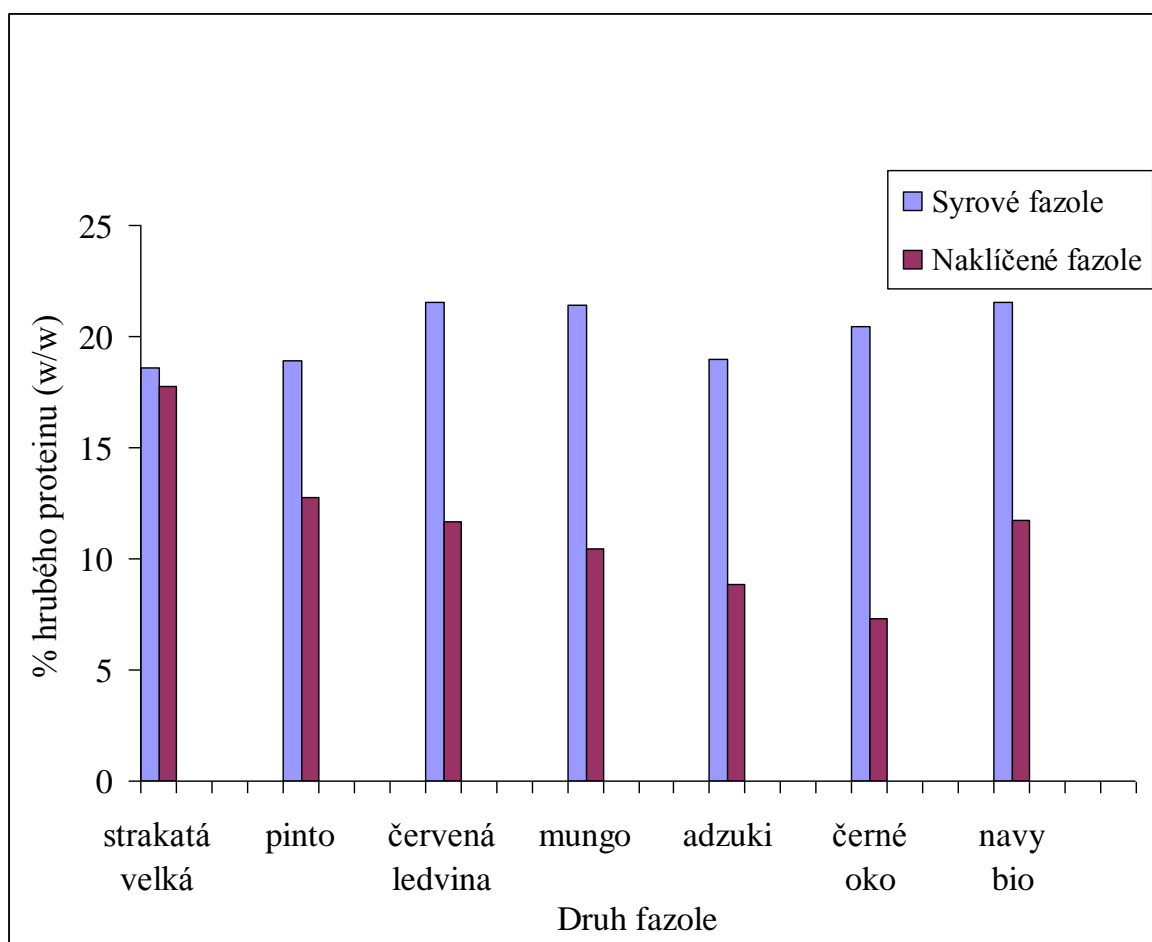
Tabulka 6 Obsah hrubé bílkoviny v syrových fazolích a fazolích po 48h klíčení
v % (w/w)

	Druh fazole	Syrové fazole	Naklíčené fazole
1	strakatá velká	18,60 ± 0,590 ^{a,c}	17,76 ± 2,815 ^a
2	pinto	18,93 ± 0,522 ^a	12,77 ± 1,069 ^b
3	červená ledvina	21,56 ± 0,109 ^{b,d}	11,65 ± 1,686 ^b
4	mungo	21,41 ± 2,385 ^{a,b,c}	10,44 ± 2,29 ^{b,c,d}
5	adzuki	18,95 ± 0,268 ^{a,c}	8,88 ± 0,528 ^c
6	černé oko	20,44 ± 0,526 ^{c,e}	7,30 ± 0,479 ^d
7	navy bio	21,53 ± 0,526 ^{d,e}	11,75 ± 0,058 ^b

Pozn. Obsah hrubé bílkoviny je uveden jako průměr ± SD (n = 4), průměrné hodnoty ve sloupcích s alespoň jedním stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$).

Obsah bílkovin ve fazolích se pohybuje v rozmezí 20 – 25 % v sušině [1]. Průměrný obsah hrubé bílkoviny stanovený u analyzovaných vzorků byl kolem 20,6 % a spadal tak do tohoto rozmezí. Většina zjištěných hodnot byla o 1 – 3 % nižší než údaje udávané v databázi USDA [17] (viz Tabulka 2), pouze u vzorku strakaté fazole byla stanovená hodnota podstatně nižší než udávaná databáze USDA a to 18,60 %, přestože v databázi je uveden obvyklý obsah bílkovin u tohoto druhu kolem 23 %. Obsah bílkovin ve fazolích je však závislý na druhu, odrůdě a podmínkách růstu, a proto je toto odchýlení možné.

Nejvyšší obsah hrubých bílkovin byl stanoven u vzorku červené ledviny, a to 21,56 %. Statisticky významně se obsah hrubé bílkoviny v tomto vzorku nelišil od fazolí navy bio (21,53 %) a mungo (21,41 %) ($P \geq 0,05$). Nejnížší obsah hrubé bílkoviny byl zjištěn u fazole strakaté velké (18,60), pinto (18,93 %) a adzuki (18,95%), které se obsahem příliš nelišily ($P \geq 0,05$). Z naklíčených fazolí obsahovala nejvíce dusíkatých látek fazole strakatá velká (17,76 %) ($P < 0,05$) následovaná fazolí pinto (12,77 %) a navy bio (11,75 %). Nejnížší množství hrubých bílkovin bylo analyzováno u naklíčené fazole černé oko (7,30 %) a adzuki (8,88 %).



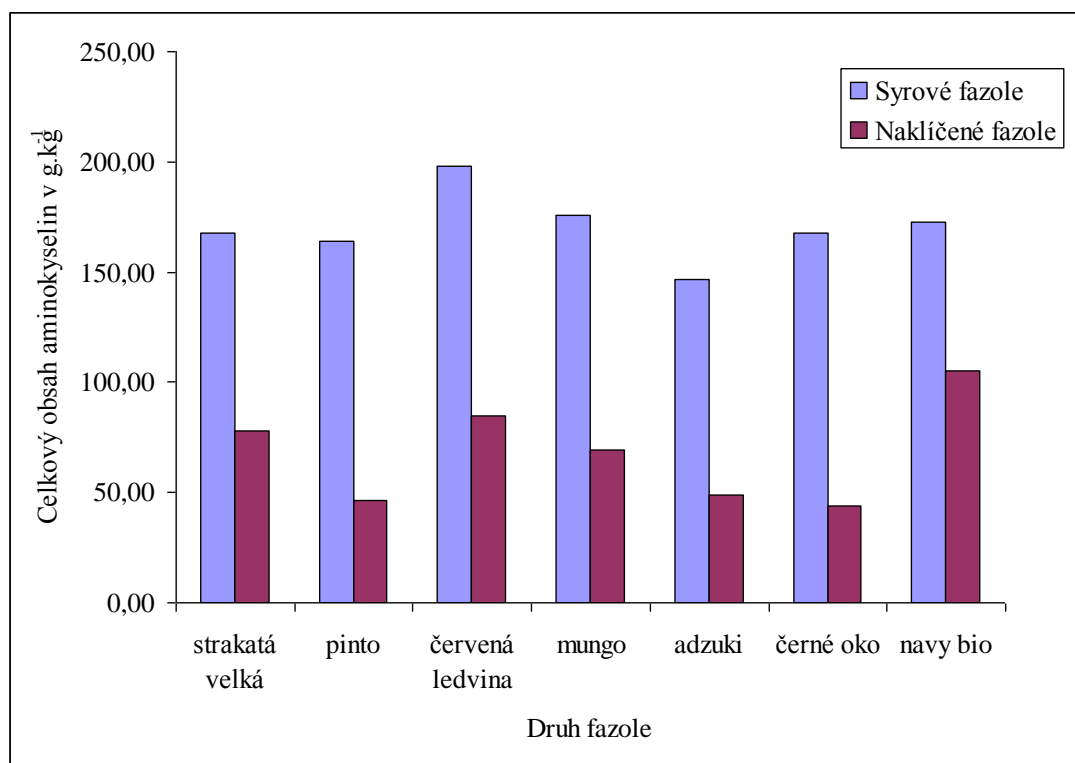
Obrázek 14 Srovnání obsahu hrubého proteinu v syrových fazolích a fazolích po 48h klíčení v % (w/w)

Obsah hrubé bílkoviny po vyklíčení ve srovnání se syrovými fazolemi byl u většiny vzorků statisticky významně nižší ($P < 0,05$), což je patrné z Obrázku 14. Největší změny v obsahu

hrubé bílkoviny byly zaznamenány u fazole černé oko (pokles o 64,3 %). Výjimkou byla fazole strakatá velká, kde nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v úbytku hrubé bílkoviny ($P \geq 0,05$). Rozdíl v obsahu byl u fazole strakaté ze všech vzorků nejnižší a činil pouze 4,5 %. U ostatních vzorků došlo po 48 hodinách klíčení k poklesu hrubé bílkoviny o cca 50 %. Podle Mbithi-Mwikya a kol. [22] je tato ztráta připisována vyluhování rozpustných dusíkatých látek a dalších živin při klíčení. V souvislosti s klíčením dochází také k enzymatickému rozkladu bílkovin a dalších makromolekul jako škrob, komplexní lipidy apod., z důvodu zvýšené metabolické aktivity a tím potřebné energie pro tyto procesy. Část bílkovin tak může být spotřebována při tomto procesu [22,43,44].

7.2 Stanovení obsahu aminokyselin

Obsah aminokyselin byl stanoven pomocí iontově výměnné chromatografie (viz Kapitola 6.3.2). Výsledky stanovení v $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ jsou uvedeny v Tabulce 7 (syrové fazole) a 8 (naklíčené fazole). Údaje o obsahu aminokyselin v $\text{g}\cdot 16 \text{ g N}^{-1}$ jsou uvedeny v příloze P II (syrové fazole) a P III (naklíčené fazole). Obsah aminokyselin v $\text{g}\cdot 16 \text{ g N}^{-1}$ byl vypočítán vydělením obsahu aminokyselin ($\text{g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$) obsahem hrubé bílkoviny (%) a vynásobením 100.



Obrázek 15 Celkový obsah aminokyselin ve fazolích syrových a po 48h klíčení
(v g.kg⁻¹)

Tabulka 7 Obsah aminokyselin ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) v syrových fazolích

AMK	Obsah aminokyselin ve vybraných vzorcích syrových fazolí [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]									
	strakatá velká	pítno	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio			
asp	20,71 ± 0,883 ^a	21,53 ± 0,763 ^{a,e}	25,89 ± 0,552 ^b	21,87 ± 1,006 ^{a,e}	17,54 ± 0,783 ^c	20,75 ± 1,668 ^{a,d}	22,23 ± 0,921 ^e			
thr	7,98 ± 0,241 ^a	7,71 ± 0,356 ^{a,e}	9,12 ± 0,459 ^b	6,03 ± 0,379 ^c	5,54 ± 0,186 ^c	6,69 ± 0,661 ^{c,d}	8,47 ± 0,269 ^{a,b,e}			
ser	10,88 ± 0,438 ^a	11,08 ± 0,377 ^{a,e}	13,72 ± 0,246 ^b	10,40 ± 0,748 ^a	8,35 ± 0,238 ^c	9,12 ± 0,692 ^d	11,82 ± 0,482 ^f			
glu	25,68 ± 1,042 ^{a,d}	25,91 ± 0,867 ^{a,d}	31,42 ± 0,674 ^b	31,24 ± 2,143 ^b	24,27 ± 0,925 ^a	29,50 ± 2,665 ^c	26,46 ± 1,360 ^d			
pro	9,71 ± 0,550 ^a	9,57 ± 0,548 ^a	10,93 ± 1,069 ^b	10,71 ± 0,214 ^b	6,52 ± 0,425 ^c	9,53 ± 0,454 ^a	7,42 ± 0,026 ^d			
gly	6,81 ± 0,193 ^{a,d}	6,72 ± 0,305 ^{a,c}	8,26 ± 0,147 ^b	6,91 ± 0,421 ^{a,d}	5,97 ± 0,131 ^c	6,83 ± 0,571 ^d	7,15 ± 0,253 ^{a,d}			
ala	7,08 ± 0,187 ^a	7,00 ± 0,466 ^a	8,50 ± 0,060 ^b	7,58 ± 0,403 ^a	6,48 ± 0,134 ^c	7,39 ± 0,666 ^a	7,53 ± 0,371 ^a			
val	7,19 ± 0,158 ^{a,d}	7,44 ± 0,377 ^{a,c}	9,12 ± 0,187 ^b	7,85 ± 0,540 ^c	7,03 ± 0,088 ^a	7,97 ± 0,524 ^{d,c,e}	8,51 ± 0,595 ^e			
ile	6,18 ± 0,103 ^a	6,11 ± 0,192 ^a	7,51 ± 0,217 ^b	6,21 ± 0,360 ^a	5,81 ± 0,075 ^a	6,57 ± 0,624 ^a	7,49 ± 0,529 ^b			
leu	12,53 ± 0,285 ^a	12,80 ± 0,555 ^a	15,77 ± 0,363 ^b	13,53 ± 0,773 ^c	11,45 ± 0,090 ^d	12,62 ± 1,061 ^a	14,02 ± 0,850 ^e			
tyr	5,67 ± 0,098 ^a	4,56 ± 0,128 ^{b,c}	5,69 ± 0,221 ^a	4,56 ± 0,220 ^b	5,01 ± 0,270 ^c	4,70 ± 0,250 ^{b,c}	6,09 ± 0,366 ^a			
phe	9,67 ± 0,398 ^a	9,50 ± 0,316 ^a	11,92 ± 0,365 ^b	11,25 ± 0,562 ^b	8,71 ± 0,143 ^c	9,67 ± 0,387 ^a	10,72 ± 0,693 ^d			
his	5,48 ± 0,147 ^a	5,40 ± 0,165 ^a	6,54 ± 0,173 ^b	5,82 ± 0,276 ^a	5,12 ± 0,078 ^a	5,71 ± 0,362 ^a	5,35 ± 0,159 ^a			
lys	12,04 ± 0,393 ^{a,c}	11,61 ± 0,391 ^{a,e}	14,16 ± 0,152 ^b	12,59 ± 0,809 ^c	11,08 ± 0,112 ^{d,e}	11,22 ± 0,777 ^e	11,59 ± 0,519 ^f			
arg	14,06 ± 0,659 ^a	11,83 ± 0,439 ^b	14,29 ± 0,260 ^a	14,06 ± 0,987 ^a	11,77 ± 0,417 ^b	13,61 ± 1,256 ^c	11,96 ± 0,865 ^b			
cys	3,70 ± 0,081 ^a	2,75 ± 0,045 ^{b,d}	2,70 ± 0,026 ^{b,d}	1,95 ± 0,001 ^c	2,93 ± 0,007 ^b	2,44 ± 0,149 ^b	2,95 ± 0,132 ^d			
met	2,43 ± 0,161 ^a	2,55 ± 0,007 ^a	2,74 ± 0,116 ^a	3,27 ± 0,025 ^b	3,23 ± 0,052 ^b	3,17 ± 0,143 ^b	2,76 ± 0,154 ^a			

Pozn. Obsah aminokyselin je uveden jako průměr ± SD ($n = 3$, cystein a metionin: $n = 2$), průměrné hodnoty v řádcích s alespoň jedním stejným horním indexem se statisticky neliší

($P \geq 0,05$).

Tabulka 8 Obsah aminokyselin ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) v naklíčených fazolích

AMK	Obsah aminokyselin ve vybraných vzorcích fazolí po 48h klíčení [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]									
	strakatá velká	pitno	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio			
asp	9,59 ± 0,369 ^a	5,60 ± 0,104 ^b	10,65 ± 0,583 ^c	8,66 ± 0,319 ^d	5,74 ± 0,254 ^b	5,06 ± 0,447 ^e	13,65 ± 0,299 ^f			
thr	3,32 ± 0,211 ^a	2,09 ± 0,011 ^{b,d}	3,74 ± 0,122 ^c	2,34 ± 0,038 ^b	1,84 ± 0,152 ^{d,e}	1,60 ± 0,065 ^e	4,72 ± 0,137 ^f			
ser	4,77 ± 0,304 ^a	2,95 ± 0,014 ^b	5,45 ± 0,297 ^c	3,92 ± 0,064 ^d	2,75 ± 0,174 ^b	2,19 ± 0,120 ^e	6,78 ± 0,202 ^f			
glu	13,13 ± 0,863 ^a	7,33 ± 0,106 ^b	13,23 ± 0,739 ^a	12,02 ± 0,189 ^c	7,44 ± 0,172 ^b	7,38 ± 0,596 ^b	17,41 ± 0,613 ^d			
pro	3,24 ± 0,244 ^{a,c}	2,26 ± 0,088 ^{b,d}	2,89 ± 0,169 ^{b,c}	3,15 ± 0,070 ^c	2,76 ± 0,026 ^b	2,04 ± 0,086 ^d	4,00 ± 0,026 ^e			
gly	2,82 ± 0,203 ^a	1,76 ± 0,096 ^b	3,50 ± 0,148 ^c	2,66 ± 0,045 ^a	1,96 ± 0,075 ^b	1,54 ± 0,093 ^b	4,17 ± 0,105 ^d			
ala	3,41 ± 0,251 ^a	2,16 ± 0,144 ^b	3,62 ± 0,137 ^a	2,97 ± 0,087 ^c	2,05 ± 0,093 ^b	1,70 ± 0,082 ^d	4,64 ± 0,119 ^e			
val	4,07 ± 0,275 ^a	2,13 ± 0,109 ^b	4,44 ± 0,149 ^c	3,55 ± 0,009 ^d	2,44 ± 0,140 ^b	2,08 ± 0,122 ^b	5,97 ± 0,193 ^e			
ile	3,45 ± 0,212 ^a	1,97 ± 0,069 ^b	3,84 ± 0,156 ^c	3,00 ± 0,018 ^d	1,97 ± 0,020 ^b	1,90 ± 0,132 ^b	5,19 ± 0,124 ^e			
leu	6,09 ± 0,394 ^a	3,59 ± 0,037 ^b	7,07 ± 0,278 ^c	5,63 ± 0,038 ^d	3,72 ± 0,087 ^b	3,57 ± 0,244 ^b	9,63 ± 0,145 ^e			
tyr	2,91 ± 0,176 ^a	1,93 ± 0,072 ^b	3,19 ± 0,127 ^a	2,29 ± 0,122 ^c	1,67 ± 0,112 ^b	1,68 ± 0,078 ^b	3,79 ± 0,183 ^d			
phe	6,47 ± 0,415 ^a	3,24 ± 0,0221 ^b	6,06 ± 0,378 ^c	5,15 ± 0,234 ^d	3,14 ± 0,207 ^b	3,43 ± 0,083 ^b	6,82 ± 0,196 ^d			
his	2,53 ± 0,191 ^{a,c}	1,49 ± 0,074 ^b	2,95 ± 0,121 ^{a,d}	2,25 ± 0,044 ^c	1,60 ± 0,025 ^b	1,43 ± 0,104 ^b	3,19 ± 0,091 ^d			
lys	5,02 ± 0,346 ^a	3,02 ± 0,127 ^b	6,05 ± 0,140 ^c	5,18 ± 0,172 ^a	3,62 ± 0,0191 ^b	2,89 ± 0,150 ^d	7,10 ± 0,197 ^e			
arg	4,52 ± 0,246 ^a	3,15 ± 0,188 ^b	5,17 ± 0,218 ^c	4,83 ± 0,147 ^{a,e}	4,01 ± 0,263 ^d	3,21 ± 0,101 ^b	5,17 ± 0,133 ^e			
cys	1,41 ± 0,114 ^a	0,97 ± 0,010 ^{b,c}	1,39 ± 0,013 ^a	0,73 ± 0,023 ^b	0,98 ± 0,019 ^b	1,01 ± 0,010 ^c	1,29 ± 0,049 ^a			
met	0,92 ± 0,063 ^a	0,88 ± 0,002 ^a	1,57 ± 0,065 ^b	1,27 ± 0,069 ^c	1,20 ± 0,057 ^c	1,32 ± 0,020 ^c	1,56 ± 0,104 ^b			

Pozn. Obsah aminokyselin je uveden jako průměr ± SD ($n = 3$, cystein a metionin: $n = 2$), průměrné hodnoty v řádcích s alespoň jedním stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$).

Při analýze aminokyselin bylo zjištěno, že nejbohatší na obsah jednotlivých aminokyselin je fazole červená ledvina, což je patrné i z jejich celkového obsahu (viz Obrázek 15). Dále ji následuje fazole mungo, navy bio, strakatá velká, černé oko a pinto. Nejmenší obsah celkových aminokyselin byl zaznamenán u fazole adzuki.

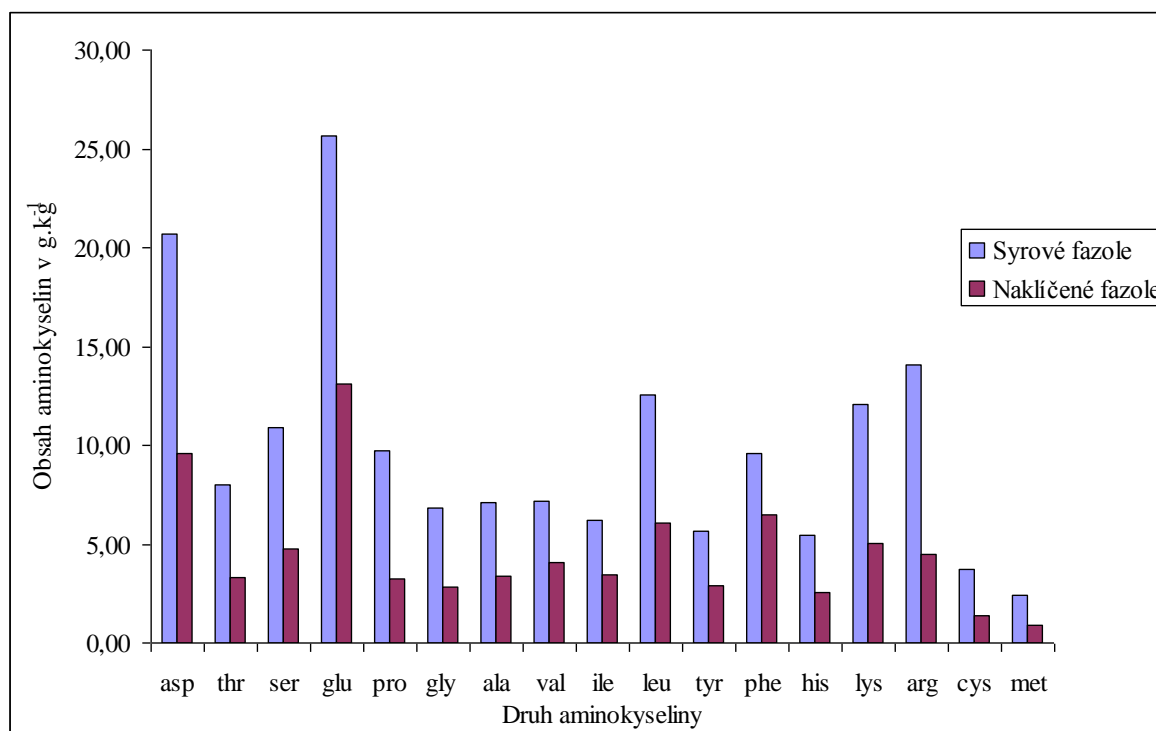
Dále z analýzy vyplynulo, že ve všech vzorcích fazolí byla nejvíce zastoupenou aminokyselinou kyselina asparagová a glutamová. Obsah kyseliny asparagové (společně s asparaginem) se pohyboval v rozmezí $17,54 \text{ g.kg}^{-1}$ (adzuki) – $25,89 \text{ g.kg}^{-1}$ (červená ledvina) ($P < 0,05$). Obsah kyseliny glutamové (s glutaminem) byl v rozmezí od $24,27 \text{ g.kg}^{-1}$ (adzuki) – $31,42 \text{ g.kg}^{-1}$ (červená ledvina) ($P < 0,05$). Obsah dalších nejvíce zastoupených aminokyselin byl následující: leucin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí od $11,45 \text{ g.kg}^{-1}$ (adzuki) – $15,77 \text{ g.kg}^{-1}$ (červená ledvina) ($P < 0,05$) a arginin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí od $11,77 \text{ g.kg}^{-1}$ (adzuki) – $14,29 \text{ g.kg}^{-1}$ (červená ledvina) ($P < 0,05$). Za zmínku stojí i poměrně vysoký obsah lyzinu s obsahem v rozmezí od $11,08 \text{ g.kg}^{-1}$ (adzuki) – $14,16 \text{ g.kg}^{-1}$ (červená ledvina) ($P < 0,05$). Lyzin je limitující aminokyselinou zejména v obilovinách, které naopak obsahují dostatek metioninu, kterého je ve fazolích málo, a proto jejich vhodnou kombinací můžeme dodat tělu plnohodnotné proteiny [18,19].

Limitujícími aminokyselinami jsou v případě fazolí, jak již bylo z části řečeno, sirné aminokyseliny metionin a cystein a tryptofan [21,22]. Naše výsledky toto tvrzení z části potvrzují. Obě sirné aminokyseliny byly obsaženy v nejmenším množství. Cystein byl zastoupen v rozsahu $1,95 \text{ g.kg}^{-1}$ (mungo) – $3,70 \text{ g.kg}^{-1}$ (strakatá velká) ($P < 0,05$) a metionin v rozsahu $2,43 \text{ g.kg}^{-1}$ (strakatá velká) – $3,27 \text{ g.kg}^{-1}$ (mungo) ($P < 0,05$). Tryptofan v rámci této diplomové práce stanoven nebyl, jelikož při kyselé hydrolyze dochází k jeho rozkladu [60,67], a proto nelze potvrdit ani vyvrátit tvrzení, že je jednou z limitujících aminokyselin. Získané výsledky korespondují s výsledky Doležala [21] a Stephen Mbithi-Mwikya a kol. [22] (viz Tabulka 3).

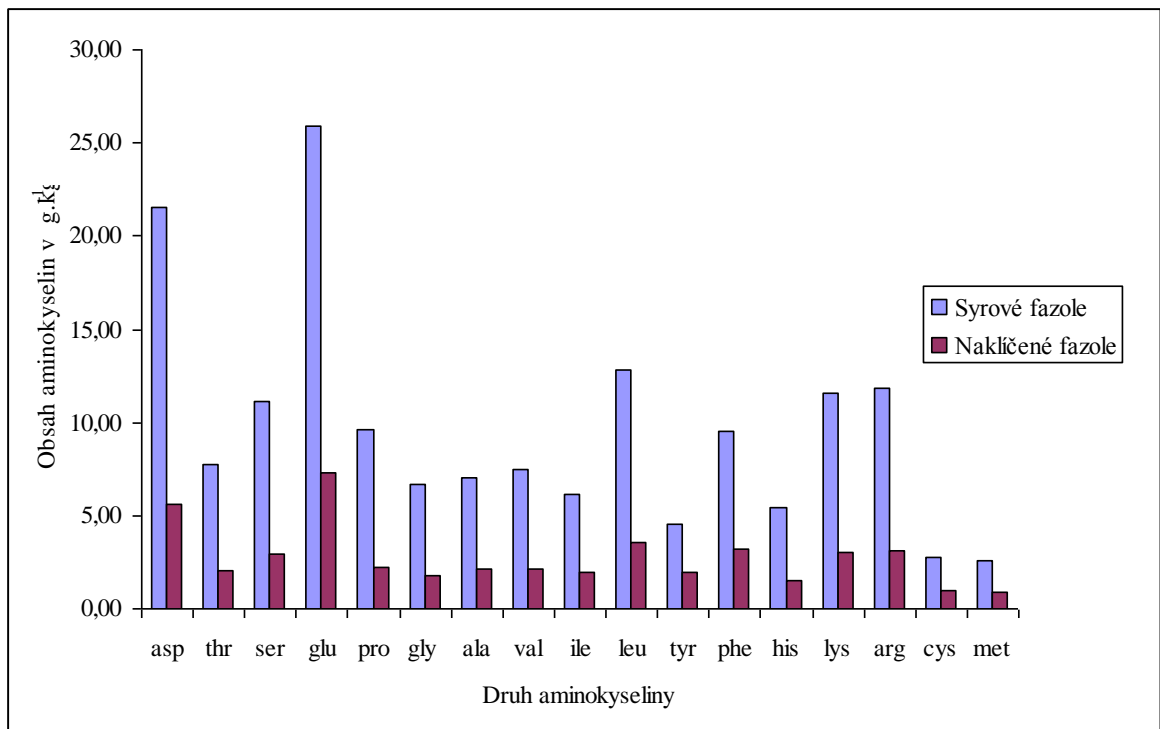
Při analýze bylo také zjištěno, že obsah jednotlivých aminokyselin se po 48 hodinovém klíčení u všech vzorků statisticky významně snížil ($P < 0,05$), viz Tabulka 8. Nejvyšší úbytek byl zpozorován u kyseliny glutamové, u které činil průměrně 60 % a asparagové, cca 61 %. Z toho největší ztráta těchto kyselin byla zaznamenána u fazole pinto, kde se obsah kyseliny asparagové snížil o 73,8 %, z původní hodnoty $21,35 \text{ g.kg}^{-1}$ na $5,60 \text{ g.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$) a černé oko, kde se obsah kyseliny glutamové snížil o 75 %, z $29,50 \text{ g.kg}^{-1}$ na $7,38 \text{ g.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$). U naklíčených fazolí došlo k poměrně velkému úbytku lyzinu a to

průměrně asi 60,6 %. Nejmenší rozdíly v obsahu aminokyselin byly zaznamenány u fazole navy bio, průměrně se obsah aminokyselin snížil asi o 40,2 %, z toho úbytek u kyseliny asparagové a glutamové činil 38,6 % a 34,2 %. Obsah aminokyselin se v průběhu klíčení mění v důsledku činnosti proteolytických enzymů. Celkově dochází ke snížení obsahu aminokyselin způsobeného jejich degradací v průběhu klíčení. Získané výsledky z větší části korespondují s výsledky Stephen Mbithi-Mwikya a kol. [22]. Obsah aminokyselin se v průběhu klíčení u většiny snižuje, pouze u prolinu, alaninu a serinu se podle Stephen Mbithi-Mwikya a kol. [22] obsah zvyšuje, na rozdíl od námi zjištěných hodnot, ovšem toto zvýšení není statisticky významné ($P < 0,05$). Tento rozdíl může být způsoben rozdílnými podmínkami během klíčení a použitým druhem fazolí.

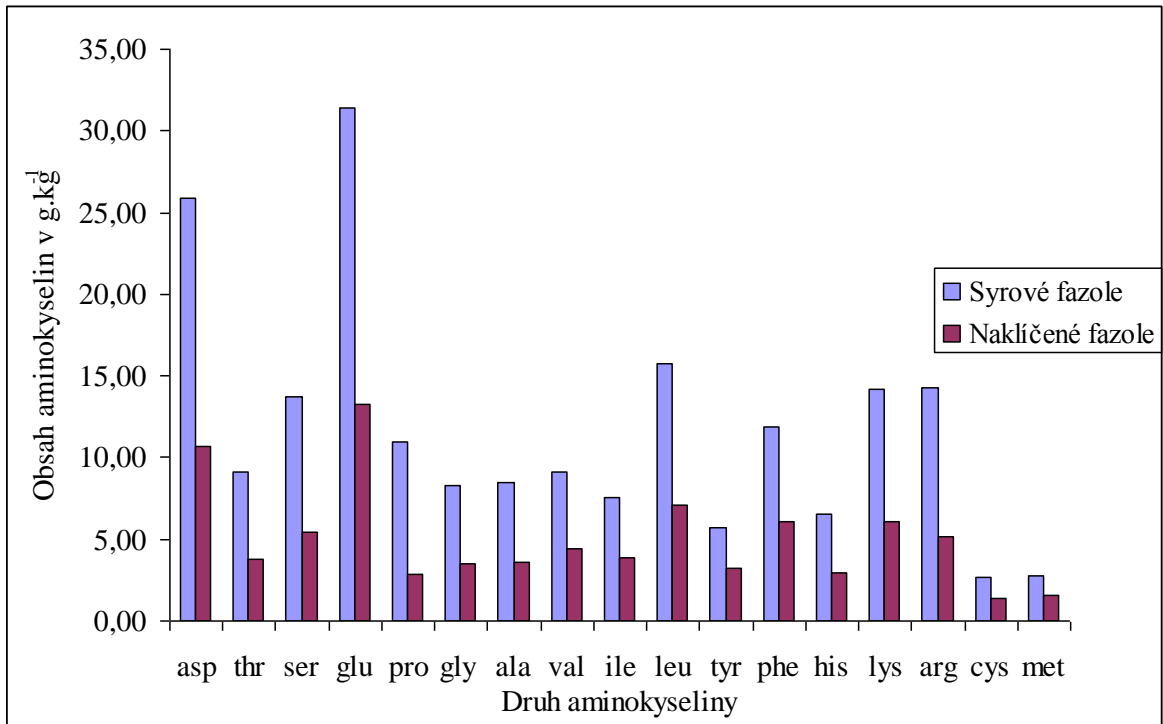
Na Obrázku 16 – 22 je graficky znázorněno srovnání obsahu aminokyselin ve vybraných druzích fazolí v syrovém stavu a po 48 hodinovém klíčení.



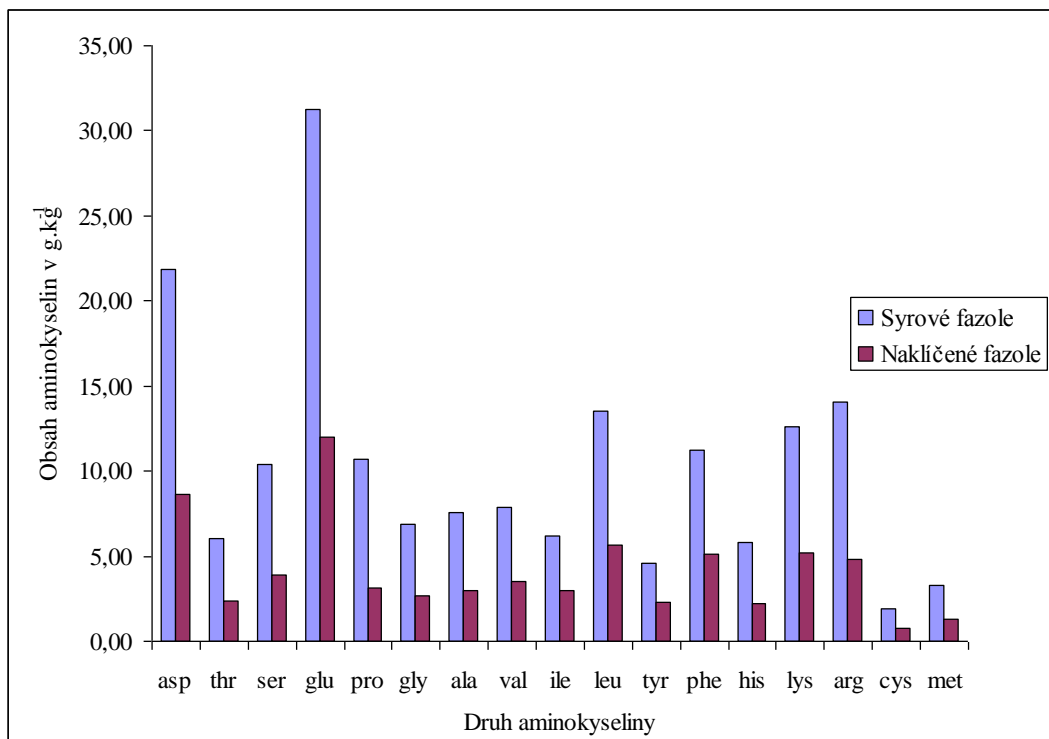
Obrázek 16 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli strakaté velké v syrovém stavu a po 48h klíčení



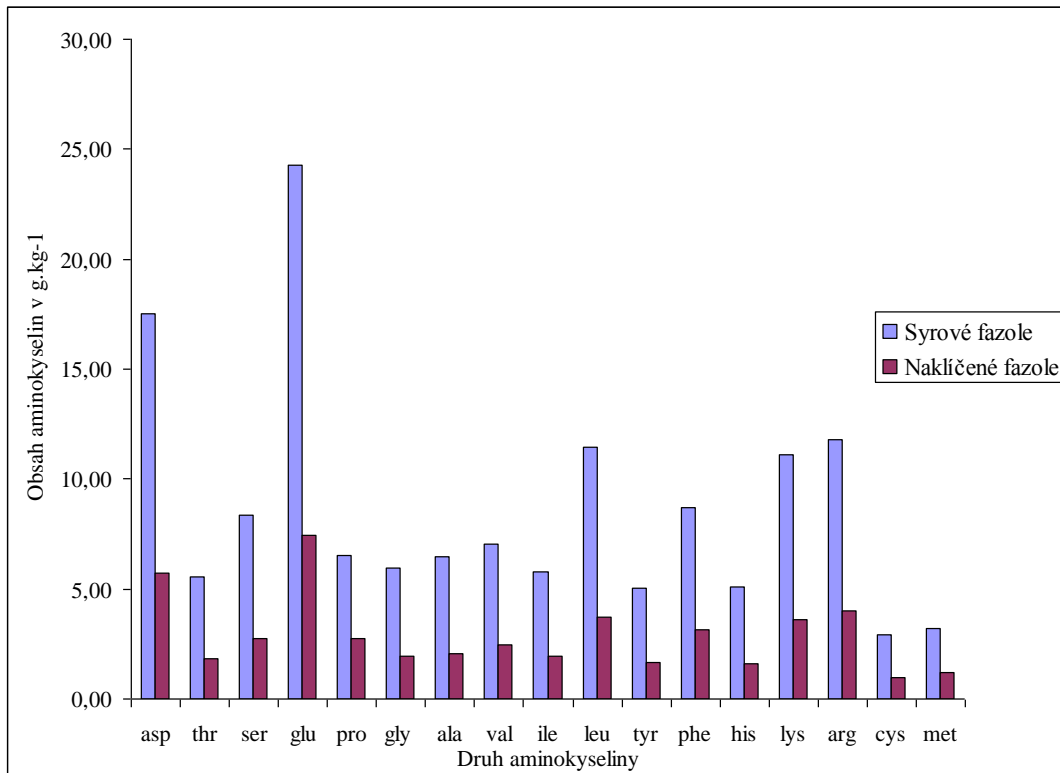
Obrázek 17 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli pinto v syrovém stavu a po 48h klíčení



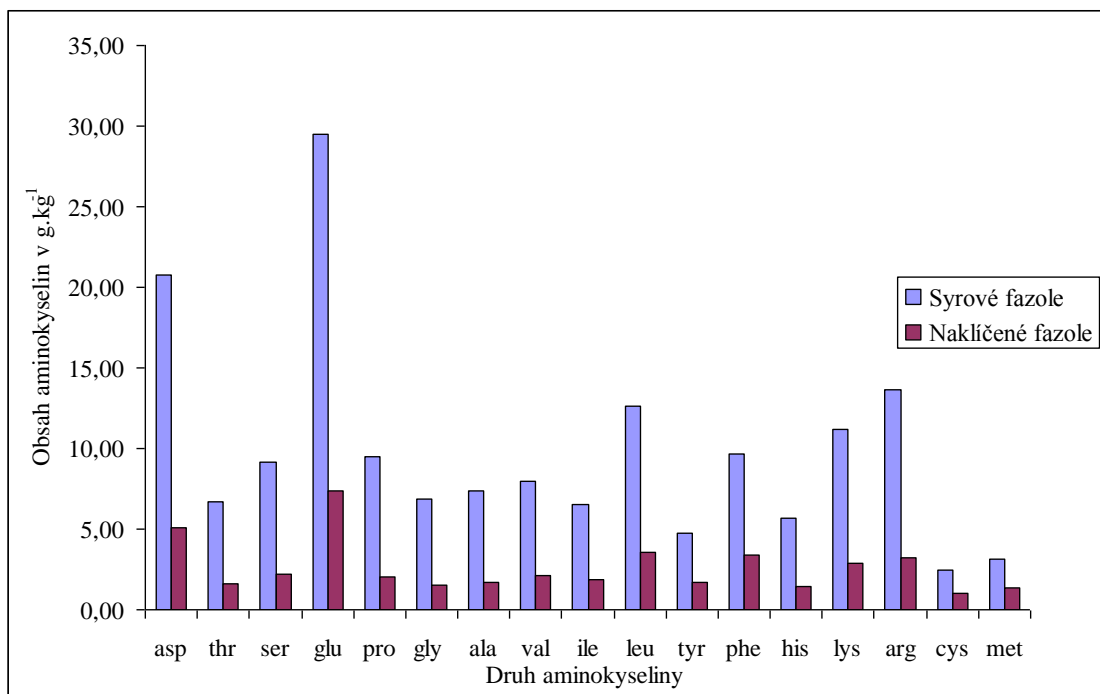
Obrázek 18 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli červená ledvina v syrovém stavu a po 48h klíčení



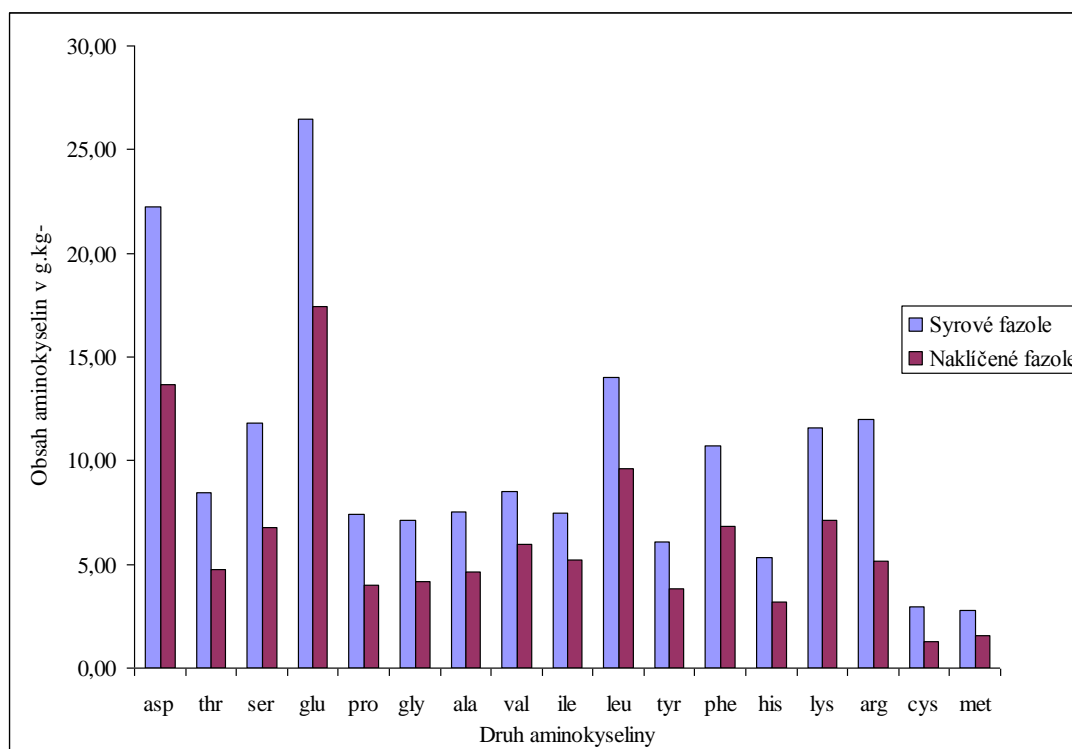
Obrázek 19 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli mungo v syrovém stavu a po 48h klíčení



Obrázek 20 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli adzuki v syrovém stavu a po 48h klíčení



Obrázek 21 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli černé oko v syrovém stavu a po 48h klíčení



Obrázek 22 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli navy bio v syrovém stavu a po 48h klíčení

Dále byly porovnávány jednotlivé druhy fazolí z hlediska jejich nutriční hodnoty. Byly vypočteny hodnoty AAS a EAAI (viz Tabulka 9 pro syrové fazole a Tabulka 10 pro naklíčené fazole).

Tabulka 9 Hodnoty AAS a EAAI v syrových fazolích

	strakatá velká	pinto	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio
AMK	AAS (%)						
val	77,35	78,63	84,65	73,29	74,13	78,02	79,05
leu	96,25	96,57	104,48	90,25	86,31	88,21	93,02
ile	83,04	80,71	87,12	72,55	76,56	80,31	86,99
met + cys	94,18	80,07	72,11	69,62	92,81	78,47	75,80
thr	107,28	101,82	105,80	70,44	73,03	81,86	98,32
lys	119,92	113,52	121,66	108,91	108,26	101,63	99,70
phe + tyr	134,34	121,70	133,89	121,09	118,70	115,30	128,05
EAAI (%)	56,28	53,69	55,93	48,58	50,55	50,39	52,84

Tabulka 10 Hodnoty AAS a EAAI ve fazolích po 48h klíčení

	strakatá velká	pinto	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio
AMK	AAS (%)						
val	45,79	33,41	76,19	67,98	55,64	56,93	101,63
leu	49,02	40,16	86,75	77,11	60,61	69,81	117,04
ile	48,61	38,52	82,50	71,80	56,07	65,14	110,36
met + cys	37,50	41,47	72,62	54,71	71,02	91,18	69,28
thr	46,80	40,87	80,31	56,10	52,55	54,90	100,41
lys	52,36	43,79	96,17	91,93	76,33	73,38	111,84
phe + tyr	86,65	66,35	130,12	116,86	89,82	114,67	148,01
EAAI (%)	31,07	26,64	50,11	43,31	38,51	42,62	59,21

Nejnižší aminokyselinové skóre ASS bylo u některých druhů syrových i naklíčených fazolí (mungo, červená ledvina a navy bio) stanoveno u limitujících aminokyselin metioninu a cysteinu, konkrétně u fazole mungo byla tato hodnota nejnižší a činila 69,62 %. Toto zjištění opět koresponduje s údaji o limitujících aminokyselinách uvedených výše v teoretické části diplomové práce [21,22]. U zbývajících fazolí vykazoval nejnižší ASS valin. Naopak nejvyšší AAS bylo vypočítáno u sumy aromatických aminokyselin fenylalaninu a tyrozinu a též u lyzinu. Naše výsledky tedy znovu odpovídají údajům uvedeným výše v textu, že fazole jsou bohatým zdrojem lyzinu a doporučuje se kombinovat je společně s obilovinami, které jsou naopak na tuto aminokyselinu chudé [18,19].

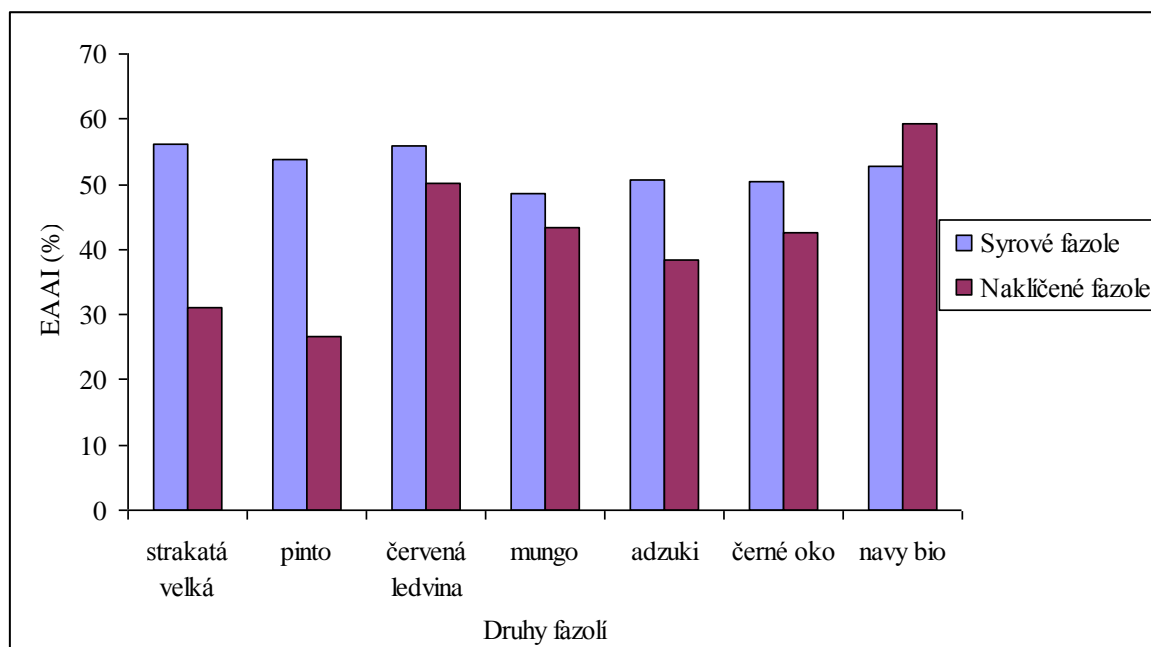
Index esenciálních aminokyselin EAAI byl v případě syrových fazolí nejvyšší u strakaté velké (56,28 %) a červené ledviny (55,93 %). Naopak nejnižší EAAI byl zaznamenán u mungo fazole (48,58 %). U naklíčených fazolí bylo dosaženo jiných výsledků – nejvyšší EAAI byl pozorován u fazole navy bio (59,21 %) a červená ledvina (50,11 %), naopak nejnižší u fazole pinto (26,64 %).

Klíčením se hodnoty AAS i EAAI u většiny vzorků snižovaly (průměrně o 20,9 %). Nejmarkantnější snížení EAAI bylo zjištěno u fazole pinto (50,4 %) a strakatá velká (44,8 %). Výjimkou byla fazole navy bio, u které byl pozorován nárůst všech AAS kromě metioninu a cysteinu a s tím spojené zvýšení EAAI (z původní hodnoty 52,84 % na 59,21 %).

Z nutričního hlediska se tedy jako nejvhodnější jeví fazole strakatá velká, následovaná červenou ledvinou, pinto fazolí a fazolí navy bio. Naopak nejméně vhodná je fazole mungo. Fazole byly ovšem analyzovány v syrovém stavu, po jejich uvaření lze očekávat jisté změny

v aminokyselinovém složení a tedy i v hodnotách AAS a EAAI. V případě naklíčených fazolí byla nutričně nejvýhodnější fazole navy bio a červená ledvina, nejméně výhodná pak fazole pinto. Poměrně zajímavé je zjištění, že mungo fazole nepatřila ani po naklíčení k fazolím s nejvyššími hodnotami AAS a EAAI, i když je podle mnoha zdrojů [1,38,54] k naklíčování velmi vhodná. Za další zajímavý výsledek lze považovat hodnoty EAAI u fazole strakaté velké. Zatímco v syrovém stavu vykazovala tato fazole nejvyšší EAAI, po naklíčení jen druhou nejnižší hodnotu. To mohlo být způsobeno tím, že i po 48h klíčení neměla tato fazole na rozdíl od ostatních druhů téměř žádné klíčky (viz fotografie v příloze P I).

Srovnání EAAI v syrových a naklíčených fazolích je graficky znázorněno na Obrázku 23.



Obrázek 23 Hodnoty EAAI pro jednotlivé druhy fazolí v syrovém stavu a po 48h klíčení

ZÁVĚR

Fazole jsou důležitým potravinovým zdrojem a hrají významnou roli v tradičním jídelníčku lidí po celém světě. Fazole patří mezi potraviny, které představují jeden z nejbohatších zdrojů bílkovin a aminokyselin v lidské výživě. Kromě vysokého podílu bílkovin obsahují semena fazolu vysoký podíl škrobu, vlákniny a malé množství tuků, stopové prvky a vitaminy.

V rámci zpracování této diplomové práce byly prováděny analýzy na vzorcích fazole strakaté velké, fazoli pinto, červené ledvině, mungo, adzuki, černé oko a navy bio zakoupených v běžné obchodní síti. U všech vzorků byl stanoven obsah hrubé bílkoviny metodou dle Kjeldahla s úpravou podle Winklera a obsah aminokyselin pomocí iontové výměnné chromatografie v syrovém stavu a po 48 hodinovém klíčení.

Průměrný obsah hrubé bílkoviny stanovený u analyzovaných vzorků byl kolem 20,6 %, což odpovídá skutečnému obsahu bílkovin ve fazolích, který se pohybuje v kolem 20 – 25 %. Nejvyšší obsah hrubých bílkovin byl stanoven u vzorku červené ledviny, a to 21,56 %. Nejnižší obsah hrubých bílkovin byl stanoven u fazole strakaté velké (18,60 %). Při stanovení obsahu hrubé bílkoviny u naklíčených fazolí bylo zjištěno, že se klíčením se obsah snižuje, a to průměrně o cca 50 %. K největším změnám po naklíčení došlo u fazole černé oko (pokles o 64,3 %). U fazole strakaté velké byl stanoven průměrný obsah hrubých bílkovin v syrovém stavu jako nejvyšší, po naklíčení však nedošlo v obsahu bílkovin ke statisticky významným změnám (pokles o 4,5 %). Jedním z důvodů, proč se obsah hrubého proteinu statisticky významně nezměnil, mohlo být, že po 48 hodinovém klíčení se u fazole neobjevily klíčky ani další změny naznačující klíčení a nedošlo u ní k významným ztrátám způsobeným vyluhování dusíkatých látek a dalších živin při klíčení.

Při stanovení aminokyselin bylo zjištěno, že nejbohatší na obsah aminokyselin je fazole červená ledvina, následovaná fazolí mungo, navy bio, strakatou velkou, červenou ledvinou a pinto. Nejvyšší celkový obsah aminokyselin byl stanoven u fazole adzuki. Z analýzy vyplynulo, že nejvíce zastoupenou aminokyselinou ve fazolích je u všech druhů kyselina asparagová (a asparagin) a glutamová (a glutamin). Další nejvíce zastoupenou aminokyselinou byl leucin, arginin a lyzin. Díky poměrně vysokému obsahu lyzinu jsou fazole vhodné ke kombinování s obilovinami, které jsou na tuto aminokyselinu chudé, ale zároveň obsahují dostatek metioninu, který je nedostatečný u fazolí. Vhodnou kombinací tak můžeme získat pokrm obsahující plnohodnotné proteiny. Kromě metioninu jsou fazole chudé na tryptofan a cys-

tein, což se v průběhu stanovení zčásti potvrdilo. Metionin a cystein byl nejméně zastoupenou aminokyselinou.

V důsledku klíčení došlo k poklesu obsahu jednotlivých aminokyselin, což je způsobeno především jejich degradací vlivem proteolytických enzymů v průběhu klíčení. Největší průměrný úbytek byl zaznamenán u kyseliny asparagové (asparaginu, pokles o 60 %) a glutamové (glutaminu, pokles o 61 %). Byl zaznamenán vysoký úbytek lyzinu (pokles o 60,6 %).

Dále bylo stanoveno aminokyselinové skóre ASS. Nejnižší hodnota ASS (mungo, červená ledvina a navy bio) byla stanovena u metioninu a cysteinu. U zbývajících fazolí bylo nejnižší ASS vypočítáno u aminokyseliny valin. Nejvyšší ASS bylo stanoveno u aromatických aminokyselin fenylalaninu, tyrozinu a lyzinu. Index esenciálních aminokyselin EAAI byl u syrových fazolí nejvyšší u strakaté velké a červené ledviny. Přestože fazole strakatá velká patřila mezi vzorky s nejnižším obsahem hrubého proteinu, v syrovém stavu je bohatá na esenciální aminokyseliny a z nutričního hlediska se jeví jako nejvhodnější. Klíčením se však EAAI u fazole strakaté velké výrazně snížilo. Z nutričního hlediska se jeví jako další nejvhodnější fazole červená ledvina, u které bylo stanoveno jedno z nejvyšších EAAI jak v syrovém stavu, tak po naklíčení. Celkově byl tento vzorek nejbohatší jak na obsah hrubé bílkoviny, tak na obsah jednotlivých aminokyselin.

Následují je fazole pinto a navy bio, které byly v syrovém stavu nutričně nejbohatší. Naopak nejméně vhodná je fazole mungo. V případě naklíčených fazolí byla nutričně nejvýhodnější fazole navy bio a červená ledvina, nejméně výhodná pak fazole pinto. Překvapivé je zjištění, že fazole mungo nepatřila ani po naklíčení mezi fazole s vysokými hodnotami ASS a EAAI, přestože jsou považovány za druh vhodný k naklíčování. Klíčením se hodnoty AAS i EAAI u většiny vzorků snižovaly (průměrně o 20,9 %). Výjimkou byla fazole navy bio, u které byl zpozorován nárůst všech AAS (kromě metioninu a cysteinu) a s tím spojené zvýšení EAAI. Je však nutné zvážit hodnocení v syrovém stavu, po uvaření lze očekávat změny jak v ASS tak EAAI.

Závěrem lze doporučit, aby byly v příštích výzkumech zabývajících se klíčením luštěnin analyzovány i samotné klíčky a dělohy. Proces klíčení by tak byl pravděpodobně lépe monitorován.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PAMPLONA ROGER, Jorge D. *Encyklopedie léčivých potravin*. Praha: Advent-Orion, 2004, 385 s. ISBN 80-717-2542-0
- [2] DEBOUCK, Daniel a Rigoberto HIDALGO. Morphology of the Common Bean Plant *Phaseolus Vulgaris*[online]. Colombia: CIAT, 1986 [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: http://books.google.com.co/books?id=0TI0awmpNs0C&printsec=frontcover&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false
- [3] BUREŠ, Petr. *Fazole* [online]. [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/sci/UAntrBiol/el/encyklopedie/terms/f/fazol.txt>
- [4] BULKOVÁ, Věra. Rostlinné potraviny. 1. vyd. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2011. 162 s. ISBN 978-80-7013-532-7 2
- [5] HOUBA, Miroslav a kol. Luskoviny: pěstování a užití. 1. vyd. České Budějovice: Kurent, 2009. 133 s. ISBN 978-80-87111-19-2.
- [6] STROSSEROVÁ, Alena a Jana DOSTÁLOVÁ. Luštěniny. *Výživa a potraviny*, 2009, 5, s. 66 – 67. ISSN 1211-846X.
- [7] KORBELÁŘ, Jaroslav a Zdeněk ENDRIS . *Naše rostliny v lékařství*. Praha: Avicenum, 1981, 501 s. ISBN 80-201-009-1
- [8] ŽĎÁRSKÝ, Josef a Vladimír BENDA. *Biologie II*. Praha: VŠCHT, 1992. ISBN 80-7080-168-9.
- [9] PRUGAR, Jaroslav. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., 2008. 327 s. 327, ISBN 978-808-6576-282
- [10] Odbor rostlinných komodit Mze ČR. *Situační a výhledová zpráva luskoviny*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 2007. ISBN 978-80-7084-609-4.
- [11] AKIBODE, Comlanvi Sitou. Trends in the Production, Trade, and Consumption Of Food-Legume Crops in Sub-Saharan [online]. 2011 [cit.2013-04-04]. Dostupné z: <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/114247/2/Final%20draft%20submitted%20to%20the%20AFRE.pdf>

- [12] OJOKOH, Anthony O a Wei YIMIN. Effect of Fermentation on Chemical Composition and Nutritional Quality of Extruded and Fermented Soya Products. *International Journal of Food Engineering*. roč.7, č. 4, s. 298-306, ISSN 1556-3758
- [13] Český statistický úřad. Bilance rostlinných výrobků za 2. pololetí 2012. [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/p/2108-12>
- [14] LAHOLA, Josef. Luskoviny: pěstování a využití. Praha: SZN, 1990, 223 s. ISBN 80-209-0127-2
- [15] STRÍDA, Josef a kol. Pěstování luskovin. Státní zemědělství, Praha: 1962. 236s.
- [16] SAI, S., S. KETNAWA, P. CHAIWUT a S. RADWKUEN. Biochemical and functional properties of proteins from red kidney, navy and adzuki beans. *Asian Journal of Food and Agro-industry*. 2009, s. 493-504, ISSN 1906-3040.
- [17] USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24 [online]. 2011 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z: <http://ndb.nal.usda.gov>
- [18] RAATZ, Suzan. Nutritional Value of Dry Beans. *The Bean Institute* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://beaninstitute.com/health-benefits/nutritional-value-of-dry-beans/>
- [19] Potravinářská technologie I [online]. 2007 [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0001_potravinarska_tehnologie_I/distancni_text/M0001_potravinarska_tehnologie_I_distancni_text.pdf
- [20] SATHE, S. K., S. S. DESHPANDE, N. R. REDDY, D. E. GOLL a D. K. SALUNKHE. Effects of Germination on Proteins, Raffinose Oligosaccharides, and Antinutritional Factors in the Great Northern Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). [online]. [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1983.tb05087.x>
- [21] DOLEŽAL, Marek. Aminokyseliny, peptidy a bílkoviny. *VŠCHT* [online]. 2007 [cit. 2013-04-22]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/dolezala/CHPP/4%20Aminokyseliny.pdf>
- [22] MBITHI-MWIKYA, Stephen, Wilfried OOGHE a kol. Amino Acid Profiles After Sprouting, Autoclaving, and Lactic Fermentation of Finger Millet and Kidney Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. roč. 48, č. 8, s. 3081-3085. ISSN 0021-5661.

- [23] AGUILERA, Yolanda a kol. Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, 22, s. 678 – 683.
- [24] HUMA, Nuzhat a kol. Effect of soaking and cooking on nutritional quality and safety of legumes. *Nutrition & Food Science*. 2008, roč. 38, č. 6, s. 570 - 577.
- [25] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. 2. rozšířené vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 344 s. ISBN 80-86659-00-3.
- [26] Minerální látky. *Vitalion* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://hledani.vitalion.cz/?cx=001981364544604185879%3Azqju2zyyu6w&cof=FORID%3A9&ie=UTF-8&q=miner%C3%A1ln%C3%AD+I%C3%A1tky&sa.x=-925&sa.y=-40>
- [27] COMBS, Gerald F. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. 3rd ed. Boston: Elsevier Academic Press, 2008, 583 s. ISBN 01-218-3493-X.
- [28] DANG, Jenifer a Jayashree ARCOT. Folate retention in selected processed legumes. *Food Chemistry*, 2000, 68, s. 295-298.
- [29] DENTER, Juta a Hans Jurgen REHM. Changes in the contents of fat-soluble vitamins and provitamins during tempe fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 45, s. 129-134.
- [30] SOUTH PACIFIC COMMISSION. Legumes: exciting new foods (South Pacific foods leaflet; 16). Auckland: South Pacific Commission, 87 s. 1991, ISBN 982-203-440-7.
- [31] MORIYAMA, Michie a Kazuko OBA. Comparative study on the vitamin C contents of the food legume seeds. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2008, 54, s. 1-6.
- [32] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis, 368 s. 2002. ISBN 80-866-59-02-X.
- [33] Luskoviny. *Veterinární a farmaceutická univerzita Brno* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/luskoviny.htm>
- [34] LALLES, Jean-Paul. Nutritional and antinutritional aspects of soyabean and field pea proteins used in veal calf production. *Livestock Production Science*. 1993, roč. 34, č. 3-4, s. 181-202

- [35] CHAMP, Martine M. Non-nutrient bioactive substances of pulses. *British Journal of Nutrition*. 2002, 88, s. 307–319.
- [36] ISANGA, Joel a Guo-Nong ZHANG. Soybean Bioactive Components and their Implications to Health – A Review. *Food Reviews International*. 2008, 24, s. 252-276.
- [37] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 344 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [38] MESSINA, Mark J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of clinical nutrition*. 1999, 70, s. 439–450.
- [39] TRINIDAD, T.P. a kol. The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *British Journal of Nutrition*. 2010, 103, s. 569-574.
- [40] SANDBERG, Ann-Sofie. Bioavailability of minerals in legumes. *British Journal of Nutrition*. 2002, 88, s. 281-285.
- [41] Semeno. *Masarykova Univerzita Brno* [online]. 2012 [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/Bi1180/um/morfologie_8_semeno.pdf
- [42] AFIFY, Abd El-Moneim a kol. Protein Solubility, Digestibility and Fractionation after Germination of Sorghum Varieties. *PloS ONE*. roč. 7, č. 2, 6 s. ISSN 1932-6203
- [43] MBTHI-MWIKYA, Stephen a kol. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans. *European Food Research and Technology*. roč. 212, č. 2, s. 188-191. ISSN 1438-2377
- [44] LEE, Cheang Kuan a Raquel KARUNANITHY. Effects of germination on the chemical composition of Glycine and Phaseolus beans. *Journal of the Science and Agriculture*. roč. 51, č. 4, s. 437-445. ISSN 00225142
- [45] KHALIL, Abdul Wajid, Aurang ZEB, Fazal MAHMOOD, Saima TARIQ, Amal Badshah KHATTAK a Hamidullah SHAH. Comparison of sprout quality characteristics of desi and kabuli type chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. roč. 51, č. 4, s. 437-445. ISSN 00225142
- [46] Fazole velké strakaté. *Lagris* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.lagris.cz/produkty/lusteniny/fazole/fazole-purpurove-velke>

- [47] Fazole velké strakaté. *Biokamo* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.biokamo.cz/www-biopurus-cz/eshop/13-1-Susene-plody/0/5/562-Fazole-strakata-velka-500g/description>
- [48] POREBSKÁ, Hana, Jana STRÝČKOVÁ a Kamila TESLÍKOVÁ. *Pod pokličkou 2*. Praha: XYZ, 2006, 213 s. ISBN 80-868-6475-8.
- [49] Fazole pinto. *Biokamo* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.biokamo.cz/www-biopurus-cz/eshop/13-1-Susene-plody/0/5/573-Fazole-pinto-500g>
- [50] Fazole červená ledvina. *CountryLife* [online]. [cit. 2012-01-08]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/fazole-cervena-ledvina-500-g-country-life>
- [51] Fazole červená ledvina. *Biokamo* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.biokamo.cz/www-biopurus-cz/eshop/0/3/5/557-Fazole-cervena-ledvina-500g>.
- [52] LI, Wenhao, Chang SHU, Shuqin YAN a Qun SHEN. Characteristics of sixteen mung bean cultivars and their protein isolates. *International Journal of Food Science*. 2010, roč. 45, č. 6, s. 1205-1211. ISSN 09505423.
- [53] Fazole mungo. *Biokamo* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.biokamo.cz/www-biopurus-cz/eshop/0/3/5/542-Mungo-fazole-barevna-250g>
- [54] HAIGHOVÁ, Charlotte. *100 nej potravin pro imunitu. Jak si chránit zdraví*. Praha: Slovart, 2007, 127 s. ISBN 978-80-7391-011-2.
- [55] MANDŽUKOVÁ, Jarmila. *Potravinový průvodce zdravou výživou od A do Z*. Praha: Vyšehrad, 2007. 125 s. ISBN 978-80-7021-865-5.
- [56] Fazole adzuki. *CountryLife* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/fazole-adzuki-500-g-country-life>
- [57] Fazole černé oko. *CountryLife* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/fazole-cerne-oko-500-g-country-life>
- [58] Fazole navy bio. *CountryLife* [online]. [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/fazole-navy-500-g-bio-country-life>
- [59] FOUNTOULAKIS, Michael a kol. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A*. 1998. roč. 826, č. 2, s. 109-134. ISSN 00219673.

- [60] PEČ, Pavel. *Laboratorní cvičení z biochemie* [online] 2008 [cit. 2013-04-13]. Dostupné z: http://biochemie.upol.cz/doc/skripta/bchc/Pec_skripta2008.pdf
- [61] YOKOYAMA, Yukio a kol. Separation and determination of amino acids, creatine, bioactive amines and nucleic acid bases by dual-mode gradient ion-pair chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1996. roč. 826, č. 2, s. 109-134. ISSN 00219673.
- [62] FRIEDMAN, Mendel. Application of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2004. roč. 1, č. 1, s. 385-406. ISSN 2319-2402
- [63] KOPLÍK, Richard. *Stanovení aminokyselinového složení bílkovin* [online] 2001 [cit. 2013-04-13]. Dostupné z: http://web.vscht.cz/koplikr/%8C4%8C%A1stB2_2.pdf
- [64] WEISS, Martin a kol. Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography A*, 1998, roč.2, č. 795, s. 263-275. ISSN 0889-1575
- [65] JOURANVILLE, Jean a kol. Glycerol affects the quantification of aspartate and glutamate in acid-hydrolyzed proteins, *Amino Acids*, 1998, roč. 3, č. 15, s. 253-262. ISSN 0939-4451
- [66] VALORAN, P. HANKO a JEFFREY S. ROHRER. Direct determination of tryptophan using high-performance anion-exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection, *Analytical Biochemistry*, 2002, roč. 2, č. 308, s. 204-209. ISSN 94088-3603
- [67] *Chemie a analýza potravin* [online]. 2007 [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distančni_text_II/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distančni_text_ii.pdf
- [68] *Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400* [online]. [cit. 2013-4-10]. Dostupné z: <http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzatoraminokyselin-aaa-400>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAA	Automatický analyzátor aminokyselin
AAS	Amino Acid Score (aminokyselinové skóre)
AMK	Aminokyseliny
ATP	Adeninotriřfosfát
EAAI	Essential Amino Acid Index (index esenciálních aminokyselin)
FAO	Food and Agriculture Organization (Organizace pro výživu a zemědělství)
GC	Gas chromatography (plynová chromatografie)
HPLC	High-performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
IEC	Ion exclusion chromatography (iontoměničová chromatografie)
SD	Směrodatná odchylka
PC	Paper chromatography (papírová chromatografie)
PHA	Fytohemaglutinin
TLC	Thin layer chromatography (tenkovrstvá chromatografie)
USDA	The United States Department of Agriculture (Americké ministerstvo zemědělství)
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 <i>Phaseolus vulgaris</i> L. [7].....	13
Obrázek 2 Průřez semenem fazolu [38].....	24
Obrázek 3 Klíčení fazolu [38]	24
Obrázek 4 Fazole strakatá velká [45]	26
Obrázek 5 Fazole pinto [47]	27
Obrázek 6 Fazole červená ledvina [49].....	27
Obrázek 7 Fazole mungo [51].....	28
Obrázek 8 Fazole adzuki [54]	29
Obrázek 9 Fazole černé oko [55]	29
Obrázek 10 Fazole Navy Bio [56].....	30
Obrázek 11 Princip ninhydrinové reakce [58].....	32
Obrázek 12 Nákres Parnas-Wagnerovy aparatury [65]	42
Obrázek 13 Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 [66]	44
Obrázek 14 Srovnání obsahu hrubého proteinu v syrových fazolích a fazolích po 48h klíčení v % (w/w)	48
Obrázek 15 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli strakaté velké v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	54
Obrázek 16 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli pinto v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	55
Obrázek 17 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli červená ledvina v syrovém stavu a po 48h klíčení	56
Obrázek 18 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli mungo v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	56
Obrázek 19 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli adzuki v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	57
Obrázek 20 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli černé oko v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	57
Obrázek 21 Srovnání obsahu aminokyselin ve fazoli navy bio v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	58
Obrázek 22 Hodnoty EAAI pro jednotlivé druhy fazolí v syrovém stavu a po 48h klíčení.....	60

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Spotřeba luštěnin v kg na obyvatele za rok v České republice [13].....	12
Tabulka 2 Chemické složení fazolí (na 100 g) analyzovaných v diplomové práci [upraveno podle 17]	15
Tabulka 3 Obsah aminokyselin ve fazolích podle Doležala [68] (1) a Stephen Mbithi- Mwikya a kol. [39] (2) v g 16g N ⁻¹	Chyba! Záložka není definována.
Tabulka 4 Charakteristika analyzovaných vzorků fazolí.....	40
Tabulka 5 Obsah esenciálních aminokyselin ve standardním proteinu (v g.16g N ⁻¹) a denní potřeba těchto aminokyselin (v g) [67].....	45
Tabulka 6 Obsah hrubé bílkoviny v syrových fazolích a fazolích po 48h klíčení v % (w/w)	47
Tabulka 7 Obsah aminokyselin ve vybraných vzorcích syrových fazolí	51
Tabulka 8 Obsah aminokyselin ve fazolích po 48h klíčení.....	52
Tabulka 9 Hodnoty AAS a EAAI v syrových fazolích	58
Tabulka 10 Hodnoty AAS a EAAI ve fazolích po 48h klíčení.....	59

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I Fotografie fazolí po 48 hodinovém klíčení

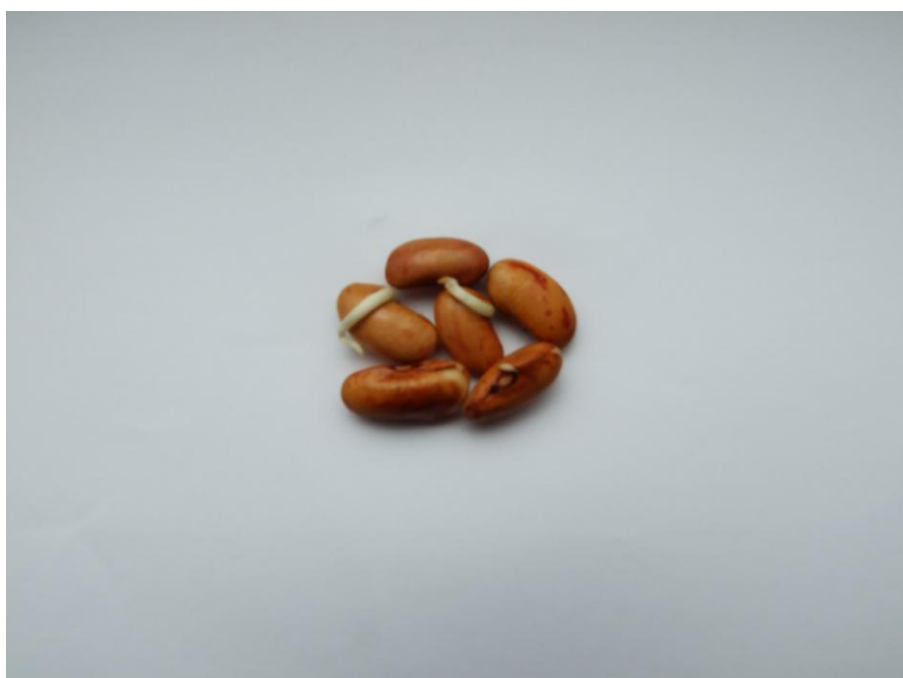
Příloha PII Obsah aminokyselin (v g.16 g N⁻¹) v syrových fazolích

Příloha PIII Obsah aminokyselin (v g.16 g N⁻¹) v naklíčených fazolích

Příloha P I Fotografie fazolí po 48 hodinovém klíčení



Fazole strakatá velká



Fazole pinto



Fazole červená ledvina



Fazole mungo



Fazole adzuki



Fazole černé oko



Fazole navy bio

Příloha PII Obsah aminokyselin (v g.16 g N⁻¹) v syrových fazolích

	Obsah aminokyselin v syrových fazolích (v g/16g N)						
AMK	strakatá velká	pinto	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio
asp	11,14	11,37	12,01	10,21	9,25	10,15	10,33
thr	4,29	4,07	4,23	2,82	2,92	3,27	3,93
ser	5,85	5,85	6,36	4,86	4,40	4,46	5,49
glu	13,81	13,69	14,58	14,59	12,80	14,44	12,29
pro	5,22	5,06	5,07	5,00	3,44	4,66	3,45
gly	3,66	3,55	3,83	3,23	3,15	3,34	3,32
ala	3,80	3,70	3,94	3,54	3,42	3,61	3,50
val	3,87	3,93	4,23	3,66	3,71	3,90	3,95
ile	3,32	3,23	3,48	2,90	3,06	3,21	3,48
leu	6,74	6,76	7,31	6,32	6,04	6,17	6,51
tyr	3,05	2,41	2,64	2,13	2,64	2,30	2,83
phe	5,14	5,02	5,53	5,26	4,60	4,73	4,98
his	2,95	2,85	3,04	2,72	2,70	2,79	2,48
lys	6,48	6,13	6,57	5,88	5,85	5,49	5,38
arg	7,56	6,25	6,63	6,57	6,21	6,66	5,56
cys	1,99	1,45	1,25	0,91	1,54	1,19	1,37
met	1,31	1,35	1,27	1,53	1,71	1,55	1,28
Celkem	90,18	86,67	91,98	82,13	77,45	81,96	80,13

Příloha PIII Obsah aminokyselin (v g.16 g N⁻¹) v naklíčených fazolích

AMK	Obsah aminokyselin ve fazolích po 48h klíčení (v g/16g N)						
	strakatá velká	pinto	červená ledvina	mungo	adzuki	černé oko	navy bio
asp	5,40	4,39	9,14	8,30	6,54	6,94	11,61
thr	1,87	1,63	3,21	2,24	2,10	2,20	4,02
ser	2,69	2,31	4,68	3,75	3,13	3,01	5,77
glu	7,39	5,73	11,35	11,51	8,48	10,12	14,81
pro	1,82	1,77	2,48	3,02	3,14	2,80	3,40
gly	1,59	1,38	3,00	2,55	2,23	2,11	3,55
ala	1,92	1,69	3,10	2,84	2,33	2,32	3,95
val	2,29	1,67	3,81	3,40	2,78	2,85	5,08
ile	1,94	1,54	3,30	2,87	2,24	2,61	4,41
leu	3,43	2,81	6,07	5,40	4,24	4,89	8,19
tyr	1,64	1,51	2,74	2,19	1,90	2,30	3,23
phe	3,64	2,54	5,20	4,93	3,57	4,69	5,80
his	1,43	1,17	2,53	2,15	1,82	1,96	2,71
lys	2,83	2,36	5,19	4,96	4,12	3,96	6,04
arg	2,54	2,47	4,44	4,62	4,56	4,40	4,40
cys	0,79	0,76	1,19	0,70	1,12	1,38	1,10
met	0,52	0,69	1,35	1,21	1,37	1,81	1,32
Celkem	43,74	36,43	72,80	66,67	55,70	60,35	89,40