

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Naklíčené potraviny
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla Strnádková**
Osobní číslo: **C20088**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Naklíčené potraviny**
Téma práce anglicky: **Sprouted foods**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši zabývající se potravinami vhodnými k naklíčení. Zaměřte se na charakterizaci vybraných naklíčených potravin, na podmínky klíčení, obsahové látky a následně na možnosti a metody jejich stanovení v naklíčených potravinách.
2. Dále se věnujte benefitům a potenciálním rizikům při jejich konzumaci.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Naklíčené potraviny jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2023

Adéla Strnádková

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce panu doc. Tomášovi Bajerovi, Ph.D. za ochotu a čas, který mi věnoval, přátelský přístup a cenné rady, které mi poskytoval v průběhu psaní této práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za velikou podporu v průběhu celého mého studia.

ANOTACE

V rámci této bakalářské práce byla vypracována literární rešerše na téma Naklíčené potraviny. První část je zaměřena na seznámení s touto problematikou. Vysvětluje jednotlivé pojmy, popisuje, jak klíčení probíhá, jaké jsou vhodné podmínky pro klíčení a jaké druhy semen je možné použít. Druhá část je zaměřena na analýzu jednotlivých složek naklíčených semen. Rozebírá obsahy těchto komponent a představuje techniky a konkrétní metody pro jejich stanovení.

KLÍČOVÁ SLOVA

Semena, klíčky, klíčení, potraviny

TITLE

Sprouted foods

ANNOTATION

In this bachelor thesis a literature research was done on the topic of sprouted foods. The first part is focused on the introduction to this issue. It explains the different terms, describes how germination takes place, what are the suitable conditions for germination and what types of seeds can be used. The second part is focused on the analysis of the individual components of germinated seeds. It discusses the contents of these components and presents techniques and specific methods for their determination.

KEYWORDS

Seeds, sprouts, sprouting, food

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: A) fazolový výhonek, B) naklíčené semeno fazole mungo.....	15
Obrázek 2: Stavba obilného zrna	18
Obrázek 3: Řezy semeny luštěnin.....	19
Obrázek 4: Nakličovací sklenice	26
Obrázek 5: Naklíčená semena fazolí mungo	29
Obrázek 6: Chemická struktura kyseliny fytové.....	36
Obrázek 7: Základní struktura flavonoidů a hlavní typy flavonoidů.....	41
Obrázek 8: Soxhletův extraktor	44
Tabulka 1: Optimální podmínky klíčení pro vybrané druhy semen	20
Tabulka 2: Změny v obsahu celkového škrobu, amylózy a amylopektinu během klíčení kukuřice (v g/100 g sušiny)	31
Tabulka 3: Chemické změny během klíčení ovsa (v hmotnostních %)	33
Tabulka 4: Minerální látky v suchých a naklíčených semenech amarantu (g/100 g sušiny) ...	34
Tabulka 5: Změny v obsahu minerálních látek v naklíčených semenech pseudoobilovin.....	34
Tabulka 6: Obsah kyseliny fytové a taninu v suchých a naklíčených semenech čočky a cizrny (g/100 g sušiny)	36
Tabulka 7: Změny antioxidační kapacity a změny v obsahu fenolů v semenech pseudoobilovin	39

SEZNAM ZKRATEK

AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid
AAS	atomová absorpční spektrometrie (atomic absorption spectrometry)
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonová kyselina
ATP	adenosintrifosfát
C16	kyselina palmitová
C22	kyselina behenová
CZE	kapilární zónová elektroforéza (capillary zone electrophoresis)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EU	Evropská unie
FCM	Folin-Ciocalteu Method
FDA	Úřad pro potraviny a léčiva (Food and Drug Administration)
FRAP	Ferric Reducting Antioxidant Potencial
GABA	kyselina γ -aminomáselná
GAE	kyselina gallová
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
ICP	indukčně vázané plazma (inductively coupled plasma)
mRNA	informační ribonukleová kyselina (messenger RNA)
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acids)
NACMCF	Národní poradní výbor o mikrobiologických kritériích pro potraviny (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods)
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PA	kyselina fytová (phytic acid)
PBM	Price and Butler Method
PET	polyethylentereftalát

PUFA	polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
RDS	rychle stravitelný škrob (rapidly digestible starch)
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
RS	rezistentní škrob (resistant starch)
SDS	pomalu stravitelný škrob (slowly digestible starch)
SFA	nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids)
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TPC	celkový obsah polyfenolů (total phenolic content)

OBSAH

ÚVOD	13
1 NAKLÍČENÉ POTRAVINY	14
1.1 Význam klíčení	14
1.2 Terminologie – pojem naklíčené semeno, výhonek a klíček	14
1.3 Historie naklíčených potravin	15
1.4 Pokrmy a výrobky z naklíčených semen.....	16
2 STAVBA SEMENE	17
2.1.1 Stavba a složení obilného zrna.....	18
2.1.2 Stavba a složení semene luskoviny.....	19
3 KLÍČENÍ SEMEN	20
3.1 Faktory ovlivňující klíčení	20
3.1.1 Teplota.....	20
3.1.2 Voda	20
3.1.3 Kyslík.....	21
3.1.4 Světlo	21
3.1.5 Chemické látky	21
3.2 Proces klíčení	22
3.3 Postup při nakličování semen.....	24
3.3.1 Sterilizace.....	24
3.3.2 Namáčení	24
3.3.3 Klíčení a proplachování	24
3.3.4 Sklizeň	25
3.3.5 Skladování naklíčených semen.....	25
3.4 Pomůcky pro nakličování.....	26
4 SEMENA VHODNÁ KE KLÍČENÍ.....	27
4.1 Vybrané druhy semen ke klíčení – nejčastěji používané.....	27
4.1.1 Obiloviny	27
4.1.2 Pseudoobiloviny (pseudocereálie)	28
4.1.3 Luštěniny	29
5 OBSAHOVÉ LÁTKY V NAKLÍČENÝCH SEMENECH	30
5.1 Škrob	30
5.1.1 Změny v obsahu škrobu.....	31
5.2 Tuky	31
5.2.1 Změny v obsahu tuku.....	32

5.3	Bílkoviny.....	32
5.3.1	Změny v obsahu bílkovin	33
5.4	Vláknina	33
5.4.1	Změny v obsahu vlákniny.....	33
5.5	Minerální látky Ca, K, Fe, Mg, Zn, Mn	34
5.5.1	Změny v obsahu minerálních látek.....	34
5.6	Antinutriční látky	35
5.6.1	Kyselina fytová.....	35
5.6.1.1	Změny v obsahu kyseliny fytové	36
5.6.2	Taniny	36
5.6.2.1	Změny v obsahu taninů	37
5.6.3	Oligosacharidy	37
5.7	Antioxidanty.....	38
5.7.1	Antioxidační kapacita	38
5.7.1.1	Změny v antioxidační kapacitě	39
5.7.2	Kyselina γ -aminomáselná (GABA).....	39
5.7.2.1	Změny v obsahu GABA.....	39
5.7.3	Fenolické sloučeniny	40
5.7.3.1	Změny v obsahu fenolických látek	41
5.7.4	Vitamíny.....	42
5.7.4.1	Změny v obsahu vitamínů.....	42
6	ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ.....	43
6.1	Stanovení obsahu škrobu.....	43
6.2	Stanovení obsahu tuků	43
6.3	Stanovení obsahu bílkovin	44
6.4	Stanovení obsahu vlákniny	45
6.5	Stanovení celkového obsahu fenolických látek	45
6.5.1	Metoda FCM.....	46
6.5.2	Metoda PBM (Price-Butlerova metoda).....	46
6.6	Stanovení antioxidační kapacity	46
6.6.1	Metoda používající ABTS (metoda TEAC).....	47
6.6.2	Metoda používající DPPH	47
6.6.3	Metoda FRAP	47
6.6.4	Metoda ORAC	48
6.7	Stanovení kyseliny γ -aminomáselné a vitamínů metodou HPLC.....	48

6.7.1	HPLC	48
6.8	Stanovení obsahu minerálních látek.....	49
7	RIZIKA SPOJENÁ S KONZUMACÍ NAKLÍČENÝCH SEMEN	50
7.1	Jak předcházet mikrobiální kontaminaci?	50
8	ZÁVĚR	52
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	53

ÚVOD

Konzumace naklíčených potravin je moderním trendem ve stravování. Naklíčené potraviny jsou klíčící semena, která jsou připravena k růstu semenáčků. Během klíčení v semeni některé látky degradují a jiné naopak vznikají. Bylo prokázáno, že procesem klíčení se zvyšují obsahy zdraví prospěšných látek a živiny v naklíčených semenech jsou v přímo využitelné podobě. Také proto se stává naklíčování semen stále oblíbenějším i v domácích podmínkách. Nejen že tato semena dobře chutnají, ale také nejsou náročná na přípravu. Během klíčení je nutné dodržovat zejména hygienické podmínky, které předcházejí riziku kontaminace či vzniku plísní.

Cílem této práce je shrnout informace o přípravě naklíčených semen, jejich obsahových látkách, účincích na lidský organismus a potenciálních rizicích při konzumaci.

1 NAKLÍČENÉ POTRAVINY

1.1 Význam klíčení

Klíčení je dobrým a jednoduchým způsobem, jak zlepšit zdravotní přínosy jedlých semen. Jedlá semena obsahují mnoho látek prospěšných pro lidské zdraví a mají mnoho biologických funkcí jako např. antioxidační, antidiabetické a protinádorové účinky [1]. Během klíčení prochází semeno změnami od molekulárních struktur až po makroskopické a ty mají za následek významné nutriční, chuťové a texturní výhody oproti semenům nenaklíčeným. Klíčení reaktivuje metabolismus semen, což vede ke katabolismu a degradaci makroživin, antinutričních sloučenin a biosyntéze sekundárních metabolitů s potenciálními zdravotními přínosy [2]. Klíčení proto může být metodou ekologického potravinářského inženýrství a naklíčené potraviny lze konzumovat jako funkční potraviny pro prevenci chronických onemocnění [1; 2].

1.2 Terminologie – pojem naklíčené semeno, výhonek a klíček

Označení naklíčené semeno a výhonek se někdy v cizojazyčném názvosloví shodují. V české populárně naučné literatuře je možné se dočíst, že se tyto termíny rozlišují, a to podle doby klíčení, avšak v některých dalších populárně naučných zdrojích nejsou tyto termíny jasně rozlišovány, jelikož oficiální definice pro tyto pojmy nebyla zavedena [3]. Legislativa definuje pouze pojem klíček a toto označení platí pro všechna vývojová stadia [4].

Naklíčené semeno

Naklíčená semena jsou označením pro semena s krátkým klíčkem, která klíčí po dobu 24 až 72 hodin. Během této doby dochází k základní změně, jako je přeměna škrobu na jednodušší cukry a zvyšování aktivity enzymů hydroláz a proteáz. V němčině se používají označení Keimpflanze, Keime, angekeimte Samen, Samenkeimlinge. V angličtině se používají pojmy sprouts nebo seedlings [3].

Výhonek

Jako výhonek se označuje mladá rostlina stará 4 až 12 dní. Rostlina již vyčerpala zásobní látky ze semene a je zde vyšší enzymatická aktivita spojená s rychlým růstem. Mladé výhonky obsahují mimo cukrů, bílkovin a vlákniny také chlorofyl. Neobsahují žádné toxické produkty a jsou stravitelnější. Německy se výhonky označují jako Sprosse, Sprossefrischkeimlinge nebo Grünkraut. Anglicky se výhonky označují jako sprouts [3].

Klíček

Podle Prováděcího nařízení Komise (EU) č. 208/2013 se pod pojmem „klíčky“ rozumí následující:

„produkty získané naklíčením semen a jejich vývojem ve vodě nebo jiném médiu, sklizené před vytvořením pravých listů, které jsou určeny ke konzumaci celé včetně semene.“ [4]



Obrázek 1: A) fazolový výhonek, B) naklíčené semeno fazole mungo [5]

1.3 Historie naklíčených potravin

Poprvé se o výhoncích a jejich pozitivním působení na lidský organismus zmiňuje čínský císař Sheng Nung ve své knize o léčivých bylinách, a to 3000 let př. n. l. Číňané už tehdy pravidelně konzumovali naklíčenou zelenou sóju (fazole mungo) [3; 6]. Věřili, že klíčky a výhonky pomáhají s potížemi při nadýmání, poruchami trávení a také se ztrátou nervové citlivosti nebo svalovými křečemi. Léčivými účinky semen se zabýval také Li Shin Chen, který po více než dvaceti šesti letech dokončil knihu o čínském lékařství, kde zmiňuje naklíčená semena jako lék pro potlačování zánětů, léčbu edémů a revmatismu a pro celkové posílení imunity [6]. Také Féničané si během dlouhých námořních plaveb nechávali vyklíčit semena a jejich konzumací tak předcházeli kurdějím, nemoci z nedostatku vitamínu C. Takto se snažili kurdějím předcházet i lidé během první světové války, kdy byl katastrofální nedostatek potravin. Lidé začali více konzumovat klíčky po tragédii v Černobyli roku 1986, kdy měli obavy z kontaminace polní zeleniny a dávali tak přednost produktům vypěstovaným v kontrolovaných podmínkách. V Asii je hlavním zdrojem bílkovin rostlinná strava, a to zejména naklíčená semena zelené sóji, což začalo inspirovat především některé země Evropy, kde se naklíčená semena stala velice oblíbenou zdravou součástí mnoha pokrmů [3].

1.4 Pokrmy a výrobky z naklíčených semen

Mezi jeden z nejstarších tradičních pokrmů z naklíčených semen patří postní pokrm pučálka, což je naklíčený hrách, který se nejprve praží, následně se ochucuje solí, pepřem a česnekem [3; 7]. Obdobou pučálky je pražma, která se připravuje z naklíčeného obilí [7]. Naklíčená semena je možné koupit balená v obchodech, lze se s nimi setkat také v některých restauracích, kde je využívají ke zdobení pokrmů [8]. Jsou výborná jako příloha, je možné je přidávat do salátů, pomazánek či polévek. Po upražení jsou výbornou křupavou pochoutkou. Mohou se také spařit nebo dusit. Nejlepší je však konzumovat semena čerstvá, neboť je zachována jejich výživová hodnota [7; 8].

V současné době se kvůli vysoké poptávce po zdravých potravinách mnoho výrobců snaží obohacovat své výrobky naklíčenými semeny, aby zvýšili jejich nutriční hodnotu a bioaktivní vlastnosti. Například pekárny se zaměřují na výrobu funkčních pekařských výrobků, kdy klasickou mouku nahrazují moukou z naklíčeného obilí, které vykazuje lepší sensorické vlastnosti, propůjčuje výrobkům příjemnou chuť a vůni. Klíčením se zvyšuje obsah redukujících cukrů a aminokyselin, které při pečení pozitivně ovlivňují profil produktů vznikajících Maillardovou reakcí. Do těsta se mimo naklíčené obiloviny přidávají také jiná naklíčená semena např. luštěniny, sezamová semínka, pohanka a další [7; 9].

Velice populární je také výroba domácích čerstvých šťáv z osení [8].

2 STAVBA SEMENE

Semeno je mnohobuněčný rozmnožovací útvar semenných rostlin. Vzniká a vyvíjí se na mateřské rostlině z oplozeného vajíčka [10]. Stavba semene závisí na jeho stupni vývoje a také na jakém druhu rostliny se vyvíjí. Rozlišují se rostliny nahosemenné a krytosemenné, ke klíčení se využívají semena rostlin krytosemenných. U jednotlivých druhů se mohou vyskytovat drobné rozdíly, jako například výskyt endospermu u jednoděložných rostlin, zatímco u většiny dvouděložných rostlin chybí [11]. Obecně ale platí, že většina zralých plně vyvinutých semen se skládá ze tří základních struktur a těmi jsou embryo, osemení a endosperm. Embryo neboli zárodek, někdy také nazýváno jako klíček, je nejmladším vývojovým stadiem rostliny a vzniká oplozením vaječné buňky (oosféry) jedním z jader pylové láčky [10; 12]. Již v první polovině 18. století bylo embryo definováno jako „základ rostliny obsažený v semeni“ [13]. Je umístěno centrálně nebo bočně v semeni a zahrnuje kořínek (*radikula*), podděložní stonkový článek (*hypokotyl*), dělohy (*cotyledones*) a pupen (*plumula*) [10; 11]. U jednoděložných rostlin je jedna děloha a pupen je po jejím boku, u dvouděložných jsou dělohy dvě a pupen je mezi nimi. Embryo obklopuje ochranný obal neboli testa, někdy také nazýván osemení. [10; 12]. Je to struktura značného významu, vytváří se z obalů vajíčka a tvoří bariéru mezi embryem a jeho bezprostředním okolím. Poskytuje nejen strukturální a ochranné funkce, ale má také rozhodující roli v načasování klíčení semen, protože reguluje příjem vody [12]. Živné pletivo vnitřní neboli endosperm je tkáň, která se vyvíjí z centrálního jádra zárodečného vaku, vyplňuje vnitřní prostor mezi embryem a osemením a poskytuje živiny rostoucímu embryu [10; 11]. Je omezeného trvání, u většiny semen dvouděložných rostlin je totiž zcela absorbován vyvíjejícím se embryem a zásobní látky jsou uloženy přímo v embryu. I přesto je endosperm pro vývoj embrya velice důležitý a při poruchách vývoje endospermu může docházet k poruchám vývoje embrya. U většiny jednoděložných rostlin, zejména obilnin, endosperm v různé míře přetrvává i v dospělých semenech. Obsahuje zásobní látky jako polysacharidy, proteiny a lipidy, které se spotřebovávají až během klíčení [13].

Velikost a tvar semen je velmi variabilní. Od nejmenších semen orchidejí, která mohou mít pouhých 0,18 mm a vážit 0,3 μg , až po největší semena palmy *Lodoicea maldivica*, která dorůstají do obrovských rozměrů a běžně váží více než 10 kg [14]. Tvar může být kulovitý, vejcovitý, ledvinovitý, válcovitý a další. Semena mohou mít různé barvy od bílé až po skvrnitou a různé struktury povrchu od hladké po dolíčkovanou, nebo naopak ostnitou, mohou být holá nebo porostlá trichomy [10].

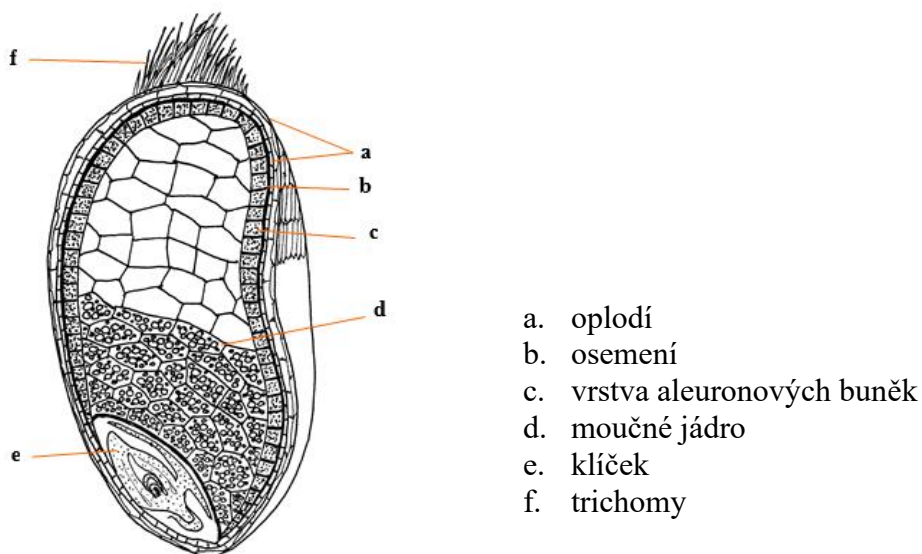
Podle počtu děloh se rozlišují rostliny jednoděložné a dvouděložné. Mezi jednoděložné patří například obilniny. Mezi dvouděložné rostliny se řadí například luskoviny [10].

2.1.1 Stavba a složení obilného zrna

Obalové vrstvy jsou hlavním zdrojem vlákniny a vitamínů skupiny B v obilných zrnech. Jsou tvořeny vnějším oplodím a vnitřním osemením, které spolu srůstají. S tloušťkou a vývinem oplodí souvisí množství vlákniny, které je vyšší zejména u semen ovsa a ječmene, jelikož mají oplodí více vyvinuté. Naopak tenké oplodí mají pšenice, žito a kukuřice a z toho důvodu také nižší obsah vlákniny. Mezi nejvíce zastoupené vitamíny skupiny B v obalových vrstvách patří thiamin, riboflavin, niacin a kyselina pantothenová.

Endosperm je složen z jedné vrstvy aleuronových buněk a z moučného jádra. Aleuronová vrstva je hlavním zdrojem bílkovin, avšak s relativně nízkou biologickou hodnotou z důvodu nízkého zastoupení aminokyseliny lysin, která je žádoucí. Bílkoviny jsou dvojího druhu. Protoplasmatické bílkoviny s příznivým aminokyselinovým složením, kam se řadí albuminy a globuliny, jsou v obilovinách zastoupeny v malém množství. Výjimkou je oves, u kterého tyto bílkoviny převažují. Zásobní bílkoviny, někdy nazývány lepková frakce, jsou tvořeny prolaminou a gluteninou a v obilovinách jejich zastoupení převládá. Obsahují velké množství prolinu a glutaminu, což je nepříznivé aminokyselinové složení, mají ale význam v pekárenství. Buňky aleuronové vrstvy obsahují mimo bílkovin také tuky. Moučné jádro je zdrojem škrobu, který je ve formě škrobových zrn. Zrna mají pro každý druh obiloviny typický tvar.

Klíček představuje nejmenší část zrna, tvoří 1,5–4 %, u kukuřičného zrna až 10 %. Je zde v největším množství zastoupený tuk a v něm rozpuštěný vitamín E [15].



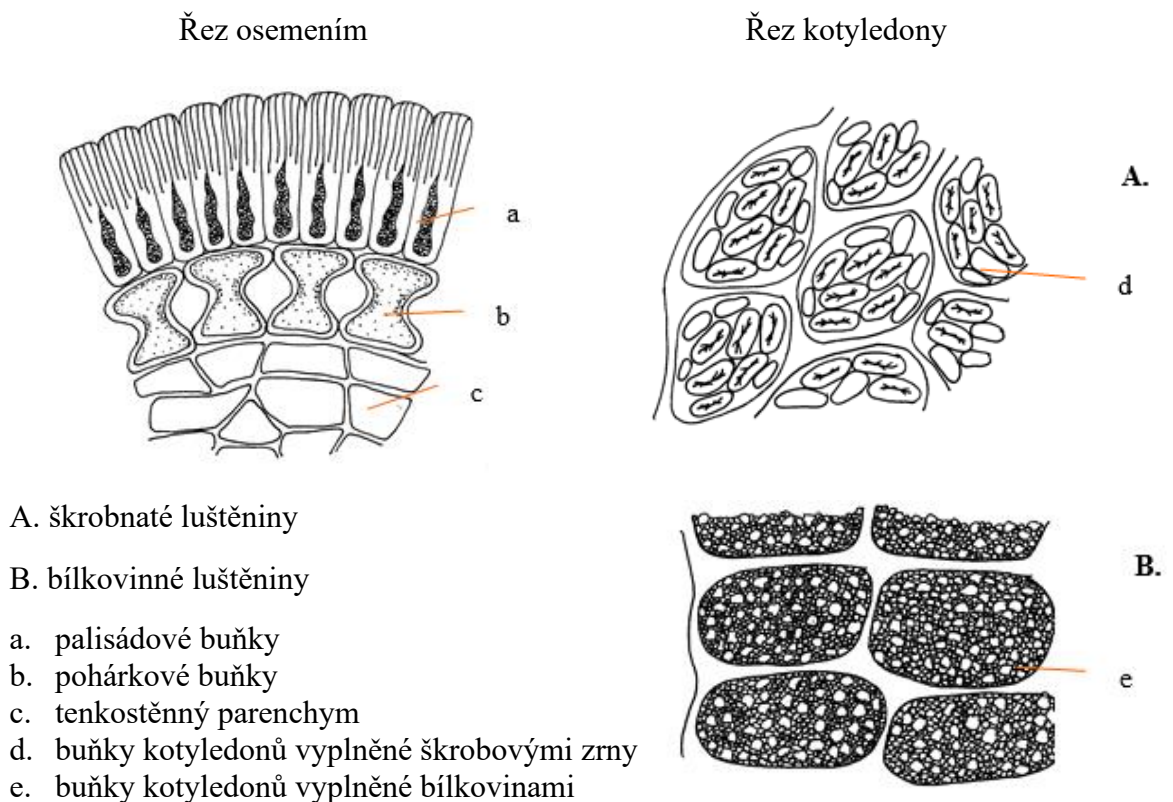
Obrázek 2: Stavba obilného zrna [15]

2.1.2 Stavba a složení semene luskoviny

Osemení je většinou kožovité a je kryto tenkou blankou tzv. kutikulou. Pod kutikulou se nachází vrstva palisádových buněk, což jsou buňky sloupkovitého tvaru poskládané těsně vedle sebe dodávající slupce pevnost. Mohou obsahovat barviva, která jsou zdrojem barvy semene. Pod palisádovými buňkami tvoří vrstvu buňky pohárkové, které mají rozšířené konce, takže mezi nimi vznikají mezibuněčné prostory. To má za následek pružnost slupky. Pod vrstvou pohárkových buněk se nachází tenkostěnný parenchym s cévními svazky.

Endosperm je přítomný pouze u bílkovinných luštěnin a nachází se pod parenchymem. Rozlišuje se endosperm plně vyvinutý, který je složený z vnějších buněk aleuronových a vnitřních většinou slizových, nebo může být zachován pouze jeho zbytek.

Kotyledony zastupují největší část zrna a podle jejich obsahu se rozlišují luštěniny škrobnaté a luštěniny bílkovinné. Většina luštěnin se řadí do skupiny škrobnatých, jako například fazole, čočka, hrách nebo bob. Jejich kotyledony jsou vyplněny vzájemně si podobnými škrobovými zrny, která mají oválný tvar a šterbinu ve tvaru S uprostřed. Bílkovinné luštěniny mají kotyledony vyplněné bílkovinami, zatímco škrobová zrna zde nejsou zastoupena skoro vůbec [15].



Obrázek 3: Řezy semeny luštěnin [15]

3 KLÍČENÍ SEMEN

3.1 Faktory ovlivňující klíčení

Semena mohou začít klíčit až tehdy, jsou-li jim vytvořeny vhodné podmínky, a to zejména optimální teplota, zajištění dostatku vody a kyslíku. Některá semena vyžadují světlo, jiná naopak tmu [3]. Aby semeno vyklíčilo, musí být také zohledněn samotný stav semene. Klíčivost semene závisí na jeho stáří, na způsobu skladování nebo zda bylo chemicky ošetřeno [7; 16].

3.1.1 Teplota

Teplota, při které semena klíčí, velmi výrazně ovlivňuje délku trvání klíčení. Rozlišují se termíny teplotní minimum, teplotní optimum a teplotní maximum. Teplotní optimum se u různých druhů semen liší, avšak nejlépe se většina klíčků vyvíjí při teplotách od 20 do 30 °C [3]. Při vyšších teplotách hrozí riziko růstu bakterií a plísní a samotné klíčky usychají. Při nižších teplotách přijímají semena méně vody a rostou pomaleji [16]. Optimální teploty a některé další parametry pro klíčení některých vybraných druhů semen jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Optimální podmínky klíčení pro vybrané druhy semen [3; 17]

Druh	Doba máčení (hodiny)	Množství vody přijaté semeny a nutné ke klíčení (%)	Teplotní optimum při klíčení (°C)	Doba klíčení (dny)
hrách	4–8	106–114	30	2–3
čočka	8–12	96	30	2–3
pohanka	0,5–1	47	23	1–3
slunečnice	1–3	56	28	1–2
vojtěška	6–10	56	30	4–6
pšenice	4–12	45–47	25	2–3
ječmen	6–12	48–57	20	2–3
žito	6–12	57–64	25	2–3
oves	1–4	65	25	1–3

3.1.2 Voda

Ve chvíli, kdy se semena dostanou do kontaktu s vodou, přecházejí z období klidu do období aktivity. Aktivují se enzymy a semeno společně s vodou přijímá další důležité látky [3]. Voda hraje nejdůležitější roli v celém procesu naklíčování a je tedy důležité používat vodu co nejčistší [16], musí splňovat normu pro pitnou vodu [3]. Proto se doporučuje kohoutkovou vodu raději přefiltrovat pro předcházení kontaminace bakteriemi nebo znehodnocení

zbytkovými chemikáliemi [16]. Během klíčení je důležité udržovat semena stále vlhká, ale neměla by ve vodě plavat. Také se doporučuje minimálně dvakrát denně semena proplachovat čistou vodou [7; 16].

3.1.3 Kyslík

Dostatek kyslíku zajišťuje intenzivní dýchání semene. Pokud je ho nedostatek, semeno nemůže klíčit a v případě, že se v jeho blízkosti nahromadí CO_2 , může dokonce uhynout. To může nastat, pokud jsou semena trvale namočena ve vodě [3]. Špatný přístup vzduchu v klíčidle by také mohl vést ke kažení semen. I proto je třeba klíčidla plnit doporučeným množstvím semen, aby měl dostatečný přísun kyslíku každý klíček [16].

3.1.4 Světlo

Světlo ve většině případů nebývá podmínkou, u některých druhů semen klíčení urychluje a tma na klíčení působí inhibičně tj. růst tlumí, zpomaluje [3]. Některé druhy naopak tmou při klíčení vyžadují a přívod světla potřebují až tehdy, když jsou vidět děložní lístky, aby se mohly vytvářet vitální látky a chlorofyl [16]. Uvádí se, že klíčení semen ve tmě má za následek snížení obsahu organických sloučenin síry. Pokud semeno klíčí na světle, obsah těchto sloučenin se nemění [3].

3.1.5 Chemické látky

Působením chemických látek jsou semena podrážděna, ve vyšších koncentracích poškozena. Nutná je opatrnost při dezinfekci semen chlornanem sodným nebo formalinem. Nepříznivé účinky má také zvýšený obsah solí ve vodě. Vhodnou dezinfekcí před začátkem klíčení je kyselina citrónová, která se přidává v malém množství do máčecí vody pro eliminaci bakterií [3].

3.2 Proces klíčení

Klíčení je komplexní proces, při kterém semeno prochází fyziologickými a biochemickými změnami [11; 18]. Semeno se musí co nejrychleji fyzicky zotavit z dozrávacího sušení, obnovit bazální metabolismus a dokončit základní buněčné děje, které vedou k expanzi embrya a připravují ho na následný růst semenáčku [18].

Tento proces zahrnuje absorpci vody, změnu subcelulární struktury, tvorbu enzymového systému, zlepšení dýchání, degradaci a změnu zásobních látek, růst kořene a pupenu [11].

Semena jsou ve zralém suchém stavu metabolicky neaktivní. Klíčení začíná, když se suché semeno dostane do styku s vodou a je schopné ji za vhodných podmínek přijímat. Příjem vody semeny je trojfázový [11; 18].

Ve fázi I dochází k počátečnímu rychlému nasávání vody, dokud nejsou veškeré matrice a obsah buněk plně hydratovány. Semena bobtnají a mění svůj tvar. Tento proces je řízen vodním potenciálem. Suchá semena ho mají velmi nízký, a proto jsou schopna na počátku přijmout velké množství vody. Zatímco příjem vody semenem je rychlý, obnovení metabolismu je pozvolnější. Během rehydratace suchých semen je na jejich buňky kladen velký tlak, což vede k dočasnému poškození membrány a úniku nízkomolekulárních metabolitů a buněčných solutů ze semene. Membránová struktura je však velice rychle opravena a je zahájena řada fyziologických procesů, včetně syntézy proteinů ze stávající mRNA a obnovení respiračních aktivit. S tím souvisí zvýšená spotřeba kyslíku a uvolňování CO₂ [19]. Životně důležité orgány, mitochondrie, které zajišťují buněčné dýchání a energetický metabolismus, jsou poškozeny vlivem sušení zralých semen a je tedy nutné je opravit a replikovat. Jejich funkci prozatím (na několik hodin) zastupují funkční enzymy z Krebsova cyklu a terminální oxidázy, které pravděpodobně poskytují dostatek ATP, který je zdrojem energie pro klíčení. Poškozená je také DNA, kterou velice rychle opravuje enzym DNA ligáza, která se aktivuje ihned po nasávání vody. V této fázi převládá syntéza enzymů a sloučenin, které slouží k opravování poškozených buněk [18; 19], nicméně se aktivují také další enzymy. Protože semena nemohou během klíčení získávat energii z vnějšího světa, musí degradovat své vlastní zásobní látky. Enzymy rozkládají složité (vysokomolekulární) látky na jednodušší (nízkomolekulární), které jsou pro embryo dostupnější [11]. Škroby a neškrobové polysacharidy jsou hydrolyzovány na redukující cukry, bílkoviny na peptidy a aminokyseliny [3; 9; 12; 17]. Zároveň dochází k uvolňování nerozpustných fenolických sloučenin, které jsou kovalentně vázány na polysacharidy buněčných stěn [9]. S prodlužující se dobou klíčení se začínají množit buňky s novými buněčnými stěnami [1; 17].

Následuje fáze II, kdy se rychlost příjmu vody semenem zpomalí. Opravy stávající DNA a mitochondrií stále pokračují a zároveň se syntetizují nové mitochondrie a proteiny. Semeno je již dost stabilní na to, aby mohla být zahájena expanze embrya [19]. Embryo sílí, prodlužuje se a dochází k ruptuře varlat. V okamžiku, kdy kořínek proráží obal semene, přechází semeno do poslední fáze příjmu vody, do fáze III [12; 18; 19].

Ve fázi III se opět zvyšuje příjem vody, což je způsobeno mobilizací zásobních látek uložených v zásobních orgánech, v obilovinách je to endosperm. Dochází k buněčnému dělení, syntéze DNA a prodlužování kořínku, to spouští růst semenáčku [19].

Fáze příjmu vody časově nedefinují metabolické děje probíhající v klíčícím semeni, jelikož se vzájemně prolínají [18].

3.3 Postup při nakličování semen

Strategie klíčení lze provádět několika jednoduchými postupy. Nejčastěji se provádí nejprve sterilizace, poté se semena namáčejí a následně se nechají klíčit za vhodných podmínek. V závislosti na druhu semene se strategie klíčení mohou lišit, nicméně základní principy a postupy jsou obecně konzistentní [1].

3.3.1 Sterilizace

Provádí se před namáčením semen za účelem zabránění růstu mikroorganismů. Nejčastěji používanými sterilizačními činidly jsou roztoky chlornanu sodného (NaClO) o různých koncentracích, zejména se používá 0,07% roztok NaClO. Sterilizace se provádí při pokojové teplotě po dobu 5–30 minut přičemž poměr hmotnosti semen (g)/objem roztoku (ml) je 1 : 5 nebo 1 : 6 [20]. Kromě toho je možné ke sterilizaci použít etanol [21]. Může být použit 70% etanol, přičemž doba sterilizace by neměla přesahovat 3 minuty a semena se musí následně opláchnout vodou [22]. Sterilizace není pro klíčení semen nutným krokem, a to, zda by se měla provádět, závisí na stavu semen a frekvenci výměny vody během klíčení [1].

3.3.2 Namáčení

Semena se v závislosti na druhu před samotným klíčením namáčejí v různém množství vody po různě dlouhou dobu, aby se dostatečně rehydratovala [1; 7]. Při namáčení je potřeba zohlednit teplotu, dobu a poměr hmotnosti semen (g)/objem vody (ml). Semena se namáčejí při pokojové teplotě (20–30 °C), s dobou namáčení od několika hodin do 24 hodin [1]. Obiloviny se namáčejí 6–12 hodin a poměr semen a vody by měl být 1 : 3, luštěniny o něco déle, většinou 12–15 hodin, kdy poměr semen a vody by měl být 1 : 4. Malá semena se namáčejí na kratší dobu, a to 4–6 hodin [7], někdy i méně např. pohanku stačí namáčet někdy i 30 minut [17] viz tabulka č. 1 – kapitola 3.1 Faktory ovlivňující klíčení. Tyto rozdíly v podmínkách namáčení semen souvisí s vnitřními vlastnostmi různých druhů semen, jako je schopnost absorbovat vodu, tloušťka semenných obalů a velikost semen [1].

3.3.3 Klíčení a proplachování

Po namáčení se semena vkládají do nádob na klíčení. Při klíčení je třeba brát v úvahu faktory, které již byly zmíněny v kapitole 3.1 Faktory ovlivňující klíčení – teplota, vlhkost, světlo. Semena musí být ve vlhku ale ne ve vodě, proto by se měla zalévat každý den a voda by se měla měnit alespoň dvakrát denně, aby se odstranily metabolity nakličovaných semen a zabránilo se růstu mikroorganismů. Doba klíčení závisí na účelu klíčení, ale obecně nejrychleji klíčí obiloviny, a to 2 až 3 dny, luštěniny většinou o něco déle [1; 7]. Z různých

zdrojů bylo zjištěno, že vojtěška může klíčit od 3 dnů až do 6 dnů [7; 17]. Nejpomaleji klíčí sója, většinou 4 dny a více [3; 7]. To, jak rychle semena budou klíčit, také výrazně ovlivňuje jejich stáří [7; 16]. Doba klíčení pro některé vybrané druhy semen je uvedena v tabulce č. 1 v kapitole 3.1 Faktory ovlivňující klíčení.

3.3.4 Sklizeň

Klíčky se sklízají v závislosti na druhu semene většinou po 3–5 dnech [7]. Po sklizení a před konzumací by se měly klíčky vždy důkladně očistit [16]. U některých klíčků se odstraňují nestravitelné slupky, protože pak chutnají lépe a mohou se delší dobu skladovat např. fazole mungo a adzuki, vojtěška, zelí, jetel, pískavice řecké seno nebo ředkvičky. Naklíčená semena se přemístí do nádoby a proplachují se čistou studenou vodou. Následně se klíčky opatrně promíchají a slupky vyplavou buď ke hladině, nebo klesnou na dno nádoby [6]. Slupky se odstraní, semena se osuší a takto jsou připravena ke konzumaci [16]. Naklíčená semena nelze dlouho skladovat, proto je nejlepší je konzumovat čerstvá [7].

3.3.5 Skladování naklíčených semen

Naklíčená semena by se měla skladovat v ideálním případě při teplotě 5 °C, při vyšších teplotách se mohou kazit [16]. Většina zdrojů uvádí, že by se naklíčená semena měla skladovat v uzavíratelných, vzduchotěsných nádobách [8; 23; 24], Angelika Fürstler ve své knize tvrdí, že je lepší semena skladovat v prodyšných sáčkách, skleněných nebo keramických nádobách, jelikož ve vzduchotěsných nádobách nevydrží klíčky tak dlouho. Před uložením naklíčených semen do nádob se může provést dezinfekce, která zlikviduje choroboplodné zárodky. Naklíčená semena se vloží na 5 až 15 minut do vodní lázně s přidanou citronovou šťávou nebo jablečným octem v poměru 1 : 20 (1 díl octa/citronové šťávy a 20 dílů vody). Zbylé slupky semen se shromáždí na hladině nebo na dně nádoby a čistá naklíčená semena se oddělí a nechají se okapat v sítku nebo se osuší papírovými kuchyňskými utěrkami. Takto ošetřené klíčky se mohou skladovat i několik dní [16].

3.4 Pomůcky pro nakličování

Semena se nechávají nakličovat ve speciálních klíčících nádobách nebo inkubátorech, což jsou nádoby a přístroje navrženy tak, aby semenům vytvořily co nejlepší podmínky pro klíčení [1; 16; 23]. Nakličovací misky mohou být různých tvarů, mohou být plastové nebo z neglazované keramiky tzv. terakotové misky. Terakota je velice dobrý materiál, který absorbuje vlhkost a chová se podobně jako půda. Tyto misky mohou být i vícepatrové. Je důležité, aby nádoby měly děrované dno pro odtok přebytečné vody, jinak by semena mohla zahnívat a důležitý je také přívod vzduchu a zajištění jeho cirkulace [3; 6; 16; 23]. Mimo nakličovacích misek se používají nakličovací sklenice se stojánky, do kterých se vkládají předem namočená semena. Sklenice se uzavírá děrovaným víčkem nebo sítkem a otáčí se ústím dolů pod úhlem 45 °, tento systém využívá skleníkového efektu [3; 6; 16]. Oblíbenými pomůckami jsou také konopné nebo lněné sáčky, jejichž materiál je prodyšný a umožňuje semenům dobře dýchat [3; 23]. Absolutní špičkou mezi pomůckami pro nakličování semen je automatické klíčidlo, které používá patentovaný zvlhčovací systém, zavlažuje semena v pravidelných intervalech, reguluje teplotu podle potřeby a také semena provzdušňuje. Odpadá tedy veškerá práce s proplachováním [3; 6; 16; 23].

Mimo speciálních nádob určených ke klíčení, je možné použít pomůcky vyrobené z dostupného materiálu [3]. Klíčení semen na textilií nebo vatě je vhodné pro drobná semena a semena tvořící šlem. Tyto materiály je vhodné vložit do klíčících nádob s děravým dnem [16]. Místo nakličovacích sklenic je možné použít zavařovací sklenice, kterým se vytvoří vhodná opora [3; 6]. Asi nejdostupnější nádobou, vhodnou pro nakličování zejména luštěnin, jsou PET láhve, do kterých se vytvoří několik malých otvorů [3].

Semena je nutné proplachovat minimálně dvakrát denně, nejlépe studenou vodou a nechat je dobře okapat. Nádoby by se měly plnit přiměřeným množstvím semen, která by se měla rovnoměrně rozprostřít, aby byla umožněná cirkulace vzduchu. Nádoby je nutné po každém použití řádně vyčistit a vydezinfikovat, aby nevznikalo riziko mikrobiální kontaminace. Takto ošetřené nádoby lze používat opakovaně [3; 6; 16; 23].



Obrázek 4: Nakličovací sklenice [25]

4 SEMENA VHODNÁ KE KLÍČENÍ

Pro naklíčování je možné zvolit širokou škálu semen, nicméně je důležité hlídat si určité parametry. Semena by měla být dobré kvality, to znamená, že by neměla být nijak poškozena. Poškozená semena je třeba odstranit, protože by při klíčení mohla být zdrojem růstu mikroorganismů. Měla by se používat semena celá a čistá, s vysokým procentem klíčivosti. Životaschopnost semen závisí na podmínkách skladování. Nejlepšími podmínkami jsou nízká teplota, nízká vlhkost a vysoká koncentrace oxidu uhličitého. Ty zajistí nízkou metabolickou aktivitu semen a jejich vyšší procento klíčivosti. Také je třeba vybírat semena, která nejsou chemicky ošetřena [26]. Je nutné si dávat pozor na mořená semena, která se prodávají v zahradnických potřebách, ta jsou určena pouze pro pěstování rostlin [24].

Semena vhodná ke klíčení se řadí do následujících skupin:

- obiloviny – pšenice, ječmen, žito, oves, špalda
- bobovité – skupina luštěnin – fazole mungo (zelená sója), fazole adzuki, hrách, čočka, cizrna, vojtěška
- olejniny – dýně, slunečnice, sezam
- brukvovité – brokolice, červené zelí, ředkvička, ředkev, hořčice
- liliovité – pór, česnek
- semena různých botanických čeledí – tykev, len, proso, pohanka, amarant [3]

4.1 Vybrané druhy semen ke klíčení – nejčastěji používané

Mezi nejoblíbenější a nejčastěji volená semena ke klíčení patří různé druhy obilovin a také nejrůznější semena luštěnin. Zrna obilovin se dají pěstovat také jako osení [8].

Semena olejin např. dýně, sezam nebo slunečnice nebudou v této kapitole dále rozebírána. Některé zdroje uvádějí, že tato semena není třeba naklíčovat a jsou vhodná ke konzumaci již po několika hodinách namáčení, kdy se deaktivují inhibitory, které brání vstřebávání některých důležitých látek pro lidský organismus [24].

4.1.1 Obiloviny

Obilovina, nebo také obilka, je plodem a hlavním produktem obilnin. Je to suchý jednosemenný plod a může být buď pluchatá, nebo nahá. Plucha je tvořena z obalů kvítku. Pluchaté obilky mají obilniny jako ječmen, oves, proso a některé čiroky. Do skupiny obilnin se řadí rostliny z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) a také druhy z jiných čeledí s podobnými

vlastnostmi a využitím, ty se nazývají pseudoobilniny. Mezi pseudoobilniny patří například pohanka nebo amarant [15].

Obilná zrna poskytují základní živiny v lidské stravě již sedm tisíc let. Přestože nejsou nutričně dokonalými potravinami a strava složená výhradně z obilovin není nutričně kompletní, přispívají významným množstvím kalorií, bílkovin, vitamínů a minerálů [27]. Z největší části jsou tvořena sacharidy, převážně škrobem, a to ze 60–70 %. Škrob slouží zrnu při klíčení jako zdroj energie. Obsah dusíkatých látek je 6–12 % a je závislý na počasí a úrovni výživy obilniny. Podle obsahu bílkovin se posuzuje kvalita zrn, a to jak nutriční, tak technologická. Požadavky na obsah bílkovin se liší podle způsobu využití (potravinářské účely x krmné obilí). V malém množství jsou v obilovinách zastoupeny tuky, u většiny obilovin okolo 2 %. Zrna kukuřice a ovesa obsahují až 5 % tuku. Vitamíny jsou v obilovinách zastoupeny v malém množství, vyšší je obsah vitamínů skupiny B a vitamín E. Obsah minerálních látek není konstantní. Do jisté míry je ovlivněn obsahem minerálií v půdě a formou hnojení obilnin. Ve větším množství je zastoupen fosfor a draslík. Z mikroelementů hrají roli zinek, mangan a železo [15].

Obilná zrna mohou nabídnout mnohem více, pokud se nechají naklíčit. Než totiž začne z výhonku vznikat stéblo, obsahují semena vysoké koncentrace živin, které potřebují pro následnou tvorbu klasu. Koncentrace těchto živin jsou v ideálních poměrech a jsou pro lidské tělo snadno vstřebatelné [27]. Nakličovat se mohou různé druhy pšenice (např. pšenice špalda, pšenice ozimá, pšenice kamut), dále ječmen (např. ječmen bezpluchý jarní), oves (oves bezpluchý), nebo také žito (žito seté) [24].

4.1.2 Pseudoobiloviny (pseudocereálie)

Pseudoobiloviny, nazývány také jako pseudocereálie, jsou dvouděložná bezlepková zrna, která se často využívají jako náhrada za pravé obiloviny. Protože neobsahují lepek jsou výrobky z pseudoobilovin vhodné pro osoby trpící alergií na lepek (celiakie). Ve srovnání s obilovinami mají také vysoký nutriční profil. Pseudoobiloviny mají vysoký obsah škrobu, jsou bohaté na vlákninu a fenolické sloučeniny. Kvalita a kvantita bílkovin je v pseudoobilovinách mnohem lepší, než je tomu u obilovin, proto se právem řadí mezi funkční potraviny. Také obsah aminokyselin, zejména lysinu, tryptofanu a histidinu, a nenasycených mastných kyselin, především kyselina linolenová, je u pseudoobilovin vyšší. Obsah minerálních látek je v pseudoobilovinách asi dvakrát vyšší než v obilovinách.

Mezi známé celosvětově rozšířené pseudoobiloviny patří amarant (*Amaranthus hypochondriacus*), pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum*) a quinoa (*Chenopodium quinoa*).

Všechny tyto druhy pseudoobilovin jsou vhodné ke klíčení, přičemž zájem o jejich naklíčování stále roste, zejména pro jejich příznivé účinky na lidský organismus [28; 29; 30].

4.1.3 Luštěniny

Podle komoditní vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 329/1997 Sb. k zákonu o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb. se luštěninami rozumí:

„vyluštěná, suchá, čištěná a tříděná zrna luskovin.“ [31]

Luskoviny patří do čeledi bobovitých (*Fabaceae*) a jejich plodem je lusk [15]. Nezralé plody jako fazolové lusky nebo zelený hrášek se řadí mezi zeleninu, protože mají odlišné chemické složení a liší se i jejich způsobem použití [32].

Luštěniny hrají celosvětově důležitou roli v lidské výživě, protože mají vysoký obsah bílkovin, vitamínů, minerálů a vlákniny. [1] Zrna luštěnin obsahují přibližně 50 % sacharidů, z toho největší část tvoří škrob. Obsah dusíkatých látek se pohybuje mezi 20–35 %. Jelikož luštěniny obsahují více lysinu a méně sirných aminokyselin, mají bílkoviny luštěnin vyšší biologickou hodnotu, než je tomu u obilovin [12; 15]. Luštěniny obecně obsahují méně tuku než obiloviny. Většinou je obsah tuku okolo 1,5 %, jsou však výjimky jako např. sója, která obsahuje až 20 % tuku. Obsah vitamínů je vyšší u vitamínů skupiny B, v menším množství je zastoupen vitamín C a D. Minerální látky jsou v luštěninách zastoupeny ve větším množství než u obilovin, zejména co se týká vápníku. Dalšími makroprvky jsou fosfor a draslík, z mikroprvků se sleduje zejména obsah železa, zinku a manganu [15; 33]. Luštěniny také obsahují ve větším množství (až 10 %) nestravitelné α -galaktosidy neboli oligosacharidy, které způsobují nadýmání [32].

Pro naklíčování je možné použít semena hrachu, čočky, sóji, cizrny nebo také některé druhy fazolí jako např. mungo fazole a fazole adzuki. Ostatní semena fazolí jsou po naklíčení jedovatá [8; 24].



Obrázek 5: Naklíčená semena fazolí mungo [34]

5 OBSAHOVÉ LÁTKY V NAKLÍČENÝCH SEMENECH

Naklíčená semena jsou rostlinné potraviny bohaté na mnoho biogenních sloučenin. Při klíčení se v tkáních semene částečně spotřebovává škrob a zvyšuje se tak podíl vlákniny a bílkovin, které jsou lépe stravitelné. Naklíčené potraviny obsahují více nutričních složek včetně aminokyselin, bílkovin, mastných kyselin, vitamínů, cukrů, makro a mikroprvků. Zejména bílkoviny a některé minerální látky jsou po naklíčení zrn lépe vstřebatelné pro lidské tělo. Zvyšuje se také využitelnost vitamínů a enzymů a snižuje se množství antinutričních faktorů, mezi které patří některé inhibitory enzymů, fytáty, taniny a oxaláty, což jsou látky, které zabraňují vstřebání zejména tělu prospěšných látek, jako jsou některé minerální látky. Velký význam mají fenolické látky, které jsou zodpovědné za žádoucí antioxidační účinky [7; 9; 35]. Je důležité zmínit, že stupeň veškerých změn závisí na podmínkách klíčení [9; 36].

5.1 Škrob

Škrob je polysacharid složený z amylózy a amylopektinu a je hlavním zdrojem živin jedlých semen. Během klíčení se aktivují růstové regulátory jako je kyselina gibberelová a kinetin, které indukují amylázy, enzymy odpovědné za hydrolýzu škrobu [11]. Škrob je hydrolyzován na jednoduché cukry glukózu, maltózu a limitní dextrin, které jsou využívány jako zdroj energie pro podporu růstu embrya. Nedávné studie uvádějí, že klíčící zrna mají intenzivnější fyziologickou metabolickou aktivitu než semena nenaklíčená. Bylo zjištěno, že celkový obsah škrobu, amylózy a amylopektinu se postupem klíčení výrazně snížil viz tabulka č. 2, zatímco obsah redukujících cukrů se postupně zvýšil [37; 38]. To lze přičíst zvýšené aktivitě α -amylázy a β -amylázy, které jsou aktivovány klíčením [11].

Škrob tvoří hlavní podíl sacharidů v lidské stravě a je hlavním zdrojem energie. Tento polysacharid lze na základě charakteristik jeho stravitelnosti, tedy podle rychlosti uvolňování glukózy a její absorpce v gastrointestinálním traktu, rozdělit do tří kategorií. Rychle stravitelný škrob (RDS) je rychle tráven v tenkém střevě a způsobuje náhlé zvýšení hladiny glukózy v krvi po požití. Pomalu stravitelný škrob (SDS) může být zcela stráven v tenkém střevě, ale pomaleji v porovnání s RDS. Rezistentní škrob (RS) nemůže být tráven v tenkém střevě, ale může být zcela nebo částečně fermentován v tlustém střevě [37; 39]. Škrob, který je hydrolyzován do 20 minut se klasifikuje jako RDS, mezi 20 a 180 minutami jako SDS a pokud trvá hydrolýza více než 180 minut, jako RS [39; 40].

Bylo zjištěno, že s prodlouženou dobou klíčení se zvyšují hodnoty RDS, zatímco SDS a RS klesají, to má za následek lepší stravitelnost škrobu. Tento proces je připisován

amylotickým enzymům, které škrob degradují [37; 40]. Stravitelnost škrobu se stanovuje nejčastěji *in vitro* pomocí metod využívajících např. prasečí pankreatickou α -amylázu, kdy se sleduje rychlost hydrolýzy [39; 40].

5.1.1 Změny v obsahu škrobu

Tian a kol. [38] dokazují, že obsah škrobu v naklíčeném ovsu se značně snížil, a to z 60 % na 20 %, zatímco obsah redukujících a rozpustných cukrů se zvýšil. Pokles obsahu celkového škrobu, amylozy a amylopektinu během klíčení sledovali Chung a kol. [40] u hnědé rýže. Byla prokázána lepší stravitelnost po naklíčení. Obsah RDS se klíčením zvýšil ze 47,3 % na 57,7 %, obsah SDS se snížil ze 40,8 % na 39,1 % a obsah RS se snížil z 11,9 % na 3,2 %. Změny v obsahu škrobu v kukuřici po naklíčení jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka 2: Změny v obsahu celkového škrobu, amylozy a amylopektinu během klíčení kukuřice (v g/100 g sušiny) [37]

Dny klíčení	Celkový obsah škrobu	Amylóza	Amylopektin
0	69,21 ± 0,17	15,53 ± 0,08	53,68 ± 0,19
1	64,77 ± 0,21	14,36 ± 0,54	50,42 ± 0,74
2	57,35 ± 0,10	12,52 ± 0,47	44,83 ± 0,52
3	47,45 ± 0,19	9,91 ± 0,46	37,54 ± 0,57
4	41,88 ± 0,25	8,53 ± 0,36	33,35 ± 0,51
5	36,34 ± 0,10	7,22 ± 0,37	29,12 ± 0,40

Pozn. jednotlivé hodnoty jsou uvedeny v hmotnostních procentech (g/100 g sušiny)

5.2 Tuky

Tuky jsou energetickou rezervou zastoupenou zejména v semenech obilí a luštěnin, a to ve formě triacylglycerolů. Během klíčení jsou triacylglyceroly degradovány enzymy lipázami na glycerol a volné mastné kyseliny, aby podpořily růst sazenic. Volné mastné kyseliny jsou dále degradovány prostřednictvím β -oxidace a glyoxylátového cyklu. Následuje glukoneogeneze, jejíž finálním produktem je glukóza, která je přenášena přes absorpční scutellum, aby dodala energii rostoucímu embryu. Z toho vyplývá, že během klíčení se v semenech snižuje obsah tuku, což prokázaly mnohé studie [41].

Postupem klíčení se mění také obsah jednotlivých mastných kyselin, kdy obsah nasycených mastných kyselin (SFA) se snižuje, obsah mononenasycených (MUFA) a polynenasycených mastných kyselin (PUFA) se zvyšuje. Snížení obsahu SFA je způsobeno redukcí palmitových (C16) a behenových (C22) kyselin, což je důsledek lipolytické aktivity a rozkladu triacylglycerolů a polárních lipidů na jednodušší sloučeniny. Nárůst MUFA a PUFA

poté souvisí s úbytkem SFA a závisí také na době a podmínkách klíčení [42]. Obsah a profil jednotlivých mastných kyselin se mění v závislosti na podmínkách klíčení. Bylo zjištěno, že klíčení semen při vyšších teplotách (20–25 °C) po delší dobu může zvýšit obsah esenciálních mastných kyselin, jako je kyselina linolová (ω -6) a kyselina α -linolenová (ω -3), a vytvořit tak zdravou rovnováhu mezi omega-6 a omega-3 mastnými kyselinami [43].

5.2.1 Změny v obsahu tuku

Mnoho studií prokázalo, že z důvodu zvýšené aktivity lipolytických enzymů dochází postupným klíčením semen k úbytku tuků [28; 44; 45; 46]. Další studie poskytují opačné informace, např. Jiménez a kol. [42] tvrdí ve své studii, že se obsah tuků po naklíčení výrazně neliší. Khalil a kol. [47] dokonce prokázali nárůst obsahu lipidů během klíčení u některých druhů luštěnin. Tato studie odůvodňuje toto zjištění tak, že nárůst lipidů souvisel s úbytkem sušiny vlivem spotřeby sacharidů při dýchání během klíčení. Z toho vyplývá, že obsah hrubých tuků v naklíčených semenech závisí především na genotypu semene a na podmínkách klíčení.

5.3 Bílkoviny

Bílkoviny jsou materiálním základem všeho života a hrají klíčovou roli v životních činnostech buněk a organismů. Během klíčení jsou zásobní proteiny hydrolyzovány enzymy zvanými proteázy na aminokyseliny nebo na nízkomolekulární peptidy, čímž se zlepšuje biologická dostupnost živin. Bylo zjištěno, že obsah hrubých bílkovin se obecně u obilovin a luštěnin během klíčení zvyšuje, což lze přičíst úbytku sušiny vlivem spotřeby sacharidů při dýchání semen během klíčení [9; 11; 46]. Vyšší teplota a delší doba klíčení mají za následek větší ztrátu suché hmotnosti klíčků, a tedy výraznější zvýšení obsahu bílkovin. Dalším vysvětlením zvyšování obsahu bílkovin by mohlo být, že po nasávání dochází k opětovnému probuzení syntézy proteinů [46].

Klíčení má pozitivní vliv na obsah aminokyselin, ačkoliv se rozsah změn jednotlivých aminokyselin liší v závislosti na druhu semene. Jednou z nejvýznamnějších a nejvíce sledovaných aminokyselin v naklíčených semenech je lysin, který zlepšuje kvalitu proteinu. Tato esenciální limitní aminokyselina je syntetizována z dusíku, který poskytují kyselina glutamová a prolin, produkty degradace prolaminu [48]. Lysin je důležitý pro zvýšení imunity organismu, podporuje také léčbu některých srdečních onemocnění. Na lysin jsou bohatší luštěniny, zatímco tryptofan, další důležitá aminokyselina, je hojněji zastoupena v obilných klíčcích. Tyto aminokyseliny jsou termolabilní a při teplotách vyšších než 45 °C degradují [3].

5.3.1 Změny v obsahu bílkovin

Obsah proteinů se u ovesných zrn v průběhu klíčení mírně zvýšil z 18,98 % na 22,02 % viz tabulka č. 3. Obsah volných aminokyselin se během klíčení zvyšoval, kdy na konci klíčení dosáhl 0,37 %, což bylo téměř 10krát více než v suchém semeni. Toto zvýšení je odůvodněno tak, že bílkoviny v syrových semenech ovsu byly po vyklíčení degradovány na aminokyseliny. Obsah lysinu se na konci klíčení zvýšil téměř o 30 % [38].

Tabulka 3: Chemické změny během klíčení ovsu (v hmotnostních %) [38]

Vzorek	Proteiny	Škrob	Volné cukry	TPC	PA
Suché semeno	18,98 ± 0,19	59,80 ± 3,05	5,23 ± 0,39	0,20 ± 0,01	0,35 ± 0,02
Namočené semeno	19,76 ± 0,11	56,00 ± 2,09	4,06 ± 0,28	0,19 ± 0,01	0,32 ± 0,01
Naklíčené semeno					
24 hodin	20,73 ± 0,11	52,89 ± 0,54	4,95 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,03
48 hodin	21,05 ± 0,17	48,89 ± 1,48	7,94 ± 0,59	0,27 ± 0,03	0,26 ± 0,01
72 hodin	21,29 ± 0,08	37,46 ± 0,55	9,73 ± 0,41	0,42 ± 0,11	0,24 ± 0,02
96 hodin	21,72 ± 0,13	33,55 ± 0,64	20,64 ± 0,83	0,71 ± 0,08	0,17 ± 0,01
120 hodin	21,84 ± 0,11	22,46 ± 2,71	25,84 ± 0,37	0,90 ± 0,15	0,16 ± 0,03
144 hodin	22,02 ± 0,33	20,87 ± 0,48	28,11 ± 1,88	0,91 ± 0,13	0,11 ± 0,01

TPC – celkový obsah polyfenolů (ekvivalent kyseliny gallové)

PA – obsah kyseliny fytové

5.4 Vlákna

Vlákna zahrnuje strukturální sacharidy, které jsou přítomné v buněčných stěnách rostlinných buněk. Vlákna se rozumí směs celulózy, hemicelulózy a nestrávitelných látek jako je lignin, kutin a křemičitany, kdy na základě poměru mezi sacharidy (celulóza a hemicelulózy) a ligninem se mění její stravitelnost [49]. V naklíčených semenech je vlákna obsažena především ve slupkách, a proto je dobré slupky neodstraňovat. Vlákna je důležitou součástí vyvážené a pestré stravy a její dostatek snižuje hladinu cholesterolu. Zároveň čistí střeva od těžkých kovů a jiných odpadních látek tak, že je na sebe naváže a následně jsou společně vyloučené z organismu ven [24].

5.4.1 Změny v obsahu vlákniny

Koehler a kol. [36] uvádí, že obsah vlákniny v naklíčených semenech souvisí s teplotními podmínkami, kdy při vyšších teplotách je nárůst vlákniny vyšší. Nejprve se během 48 hodin obsah celkové dietní vlákniny snížil, následně se začal zvyšovat, zejména při vyšších teplotách. Při 25 °C se obsah vlákniny zvýšil o více než 25 %. Sharma a kol. [50] zjistili, že celkový obsah

vlákniny prosa se klíčením zvýšil z 35,3 % na 38,4 %, kdy tento nárůst byl odůvodněn jako důsledek rozsáhlé biosyntézy buněčné stěny semen, což vedlo k produkci nové vlákniny.

5.5 Minerální látky Ca, K, Fe, Mg, Zn, Mn

Minerální látky jsou anorganické prvky, které jsou pro správnou činnost organismu velice důležité, ač jsou v těle obsaženy jen v malých nebo pouze stopových množstvích. Jsou nezbytné pro celou řadu životních procesů, jako je správná stavba kostí, normální srdeční činnost nebo správná funkce zažívacího traktu. Některé minerální látky působí preventivně proti vzniku nádorových onemocnění nebo jiných chronických onemocnění čili mají antioxidační účinky. Jejich denní příjem je pro udržení zdravého organismu nezbytný, proto je třeba minerální látky přijímat v potravě nebo formou potravinových doplňků [51]. Jedny z nejlepších zdrojů minerálních látek a stopových prvků jsou naklíčená semena a mořské řasy. Nejvíce je v nich zastoupen vápník, hořčík a fosfor a jelikož jsou vázány na enzymy, jsou snadno vstřebatelné. Základními a nejvíce sledovanými biogenními prvky v naklíčených semenech jsou vápník, draslík, železo, hořčík a fosfor. Sledují se také stopové prvky jako mangan nebo zinek. Obsahy všech těchto prvků po naklíčení obecně stoupají, v tabulce č. 4 je uveden příklad amarantu [3].

Tabulka 4: Minerální látky v suchých a naklíčených semenech amarantu (g/100 g sušiny) [3]

Semena amarantu/ hodnota v mg/ 100 g	Vápník	Draslík	Fosfor	Železo	Hořčík	Zinek
Suché semeno	270	470	620	3,8	250	26
Naklíčené semeno	360	600	720	5,7	280	27

5.5.1 Změny v obsahu minerálních látek

Thakur a kol. [28] uvádí ve své studii změny v obsahu železa, zinku, manganu a mědi v naklíčených pseudoobilovinách (amarant, pohanka a quinoa) jak je uvedeno v tabulce č. 5.

Tabulka 5: Změny v obsahu minerálních látek v naklíčených semenech pseudoobilovin [28]

Druh semene	Obsah minerálních látek (mg/kg)			
	Železo	Zinek	Mangan	Měď
Amarant				
Nenaklíčené	127,92 ± 0,45	30,50 ± 0,18	31,67 ± 0,21	8,88 ± 0,45
Naklíčené	135,83 ± 0,05	34,65 ± 0,08	32,70 ± 0,05	10,60 ± 0,08
Pohanka				
Nenaklíčené	67,88 ± 0,58	28,51 ± 0,76	18,00 ± 0,46	6,10 ± 0,13
Naklíčené	134,18 ± 0,08	46,02 ± 0,48	24,25 ± 0,15	15,48 ± 0,20
Quinoa				
Nenaklíčené	107,17 ± 0,87	69,82 ± 1,59	14,30 ± 0,30	6,55 ± 0,05
Naklíčené	155,61 ± 0,83	88,47 ± 0,10	16,2 ± 0,05	8,87 ± 0,08

Ve studii Ghavidela a kol. [52] bylo zjištěno, že klíčením se zvýšilo procento biologicky dostupného železa v naklíčených semenech čočky o 81,3 %, v naklíčených semenech cizrny o 64,6 %. Bylo prokázáno, že dostupnost železa souvisí s obsahem kyseliny fytové a taninu v obalech semen.

5.6 Antinutriční látky

Antinutriční látky (anti-nutrients) jsou rostlinné sloučeniny, které působí proti výživovým funkcím. Váží na sebe enzymy nebo jiné látky, které slouží k výživě, např. některé minerální látky, a brání tak jejich biologické dostupnosti. Zároveň jsou to látky, které si rostliny vytvářejí jako obranný mechanismus před požitím zvířaty. Tradičně jsou sice tyto látky považovány za škodlivé kvůli jejich potenciálu omezovat biologickou dostupnost živin, nicméně mají také příznivé účinky, např. chrání organismus před rakovinou [3; 53]. Touto problematikou se zabývají četné studie [53]. Mezi antinutriční látky patří inhibitory enzymů amylázy a proteázy, fytáty (kyselina fytová), taniny (trísloviny), oligosacharidy, oxaláty (šťavelany), saponiny a další. Mezi nejvíce sledované antinutrienty v naklíčených semenech patří kyselina fytová a taniny, zejména u luštěnin pak také oligosacharidy [3; 53].

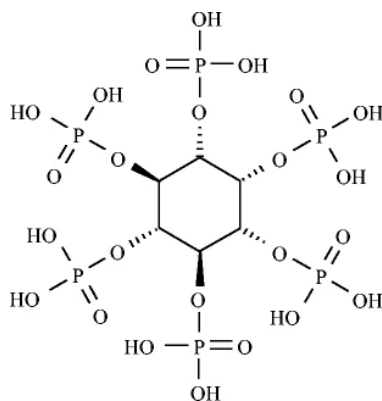
5.6.1 Kyselina fytová

Fytát neboli kyselina fytová (myo-inositolhexafosfát) je přírodní rostlinná sloučenina tvořená jednoduchým kruhovým sacharidem se šesti fosfátovými skupinami připojenými ke každému uhlíku viz obr. č. 6. Tato jedinečná struktura s 12 vyměnitelnými protony a vysokou hustotou negativně nabitých fosfátových skupin umožňuje vytvářet velice stabilní komplexy s vícemocnými kovovými kationty, zejména Zn^{2+} , Ca^{2+} a Fe^{3+} , které jsou nerozpustné. Tyto zmíněné stopové prvky jsou poté špatně biologicky dostupné, proto se kyselina fytová řadí do skupiny antinutričních látek. Nedostatek minerálních látek může způsobovat řadu onemocnění, což může být problémem zejména v rozvojových zemích, kde je rostlinná strava hlavním zdrojem potravy [11; 54; 55].

Kyselina fytová je hlavní zásobní formou fosforu v obilovinách, luštěninách, ořechách atd., přičemž může tvořit až 80 % celkového obsahu fosforu v semenech. Nachází se v aleuronové vrstvě obilí, u kukuřice v klíčku. U luštěnin v proteinových těliscích embrya nebo v endospermu. Běžně tvoří 0,2–2 % sušiny. Řada studií prokázala, že klíčením dochází ke zvýšení aktivity fytázy, která má za následek snížení obsahu kyseliny fytové v jedlých semenech, čímž se zlepšuje biologická dostupnost minerálních látek. Při klíčení se působením

fyfázových enzymů degraduje fyfát na inositol a fosfát, který je poskytován rostoucímu semenáčku [11; 54; 55; 56].

Tato kyselina zdůrazňována také pro její příznivé účinky na lidské zdraví, kdy v malých množstvích působí preventivně proti diabetu, Parkinsonově nemoci, rakovině tlustého střeva, metastatické rakovině plic a prsu [55].



Obrázek 6: Chemická struktura kyseliny fyfové [56]

5.6.1.1 Změny v obsahu kyseliny fyfové

Ve studii Tiana a kol. [38] bylo zjištěno, že obsah kyseliny fyfové během klíčení ovesných zrn klesl z 0,35 % na 0,11 % viz tabulka č. 3 v kapitole 5.3.1 Změny v obsahu bílkovin. Toto snížení je připisováno zvýšené aktivitě fyfázy. Pakfetrat a kol. [57] uvádí, že obsah kyseliny fyfové se během 14 dnů klíčení snížil v pšeničných klíčcích o 63 %, v naklíčeném ovsu až o 98 %, v žitných klíčcích o 84 %, v ječmenných o 58 % a v naklíčené hnědé rýži až o 60 %. To také souviselo se zvýšením obsahu železa. Snížení obsahu kyseliny fyfové v semenech čočky a cizrny je uvedeno v tabulce č. 5.

Tabulka 6: Obsah kyseliny fyfové a taninu v suchých a naklíčených semenech čočky a cizrny (g/100 g sušiny) [52]

Druh semene		Kyselina fyfová	Tanin
Čočka	Nenaklíčená	0,19 ± 0,01	0,75 ± 0,01
	Naklíčená	0,15 ± 0,02	0,61 ± 0,01
Cizrna	Nenaklíčená	0,48 ± 0,02	0,53 ± 0,01
	Naklíčená	0,38 ± 0,02	0,44 ± 0,01

5.6.2 Taniny

Taniny, jinak označovány jako třísloviny, jsou skupinou hořkých fenolických látek, které se vyznačují svíravou chutí. Jsou to vysokomolekulární látky vyskytující se v pletivech rostlin ve vakuolách. Jelikož jsou hořké, jsou spojeny s obrannými mechanismy proti požírání zvířaty. Mají schopnost vázat se na bílkoviny a tvořit s nimi rozpustné nebo nerozpustné

komplexy. Bílkoviny jsou poté pro tělo špatně dostupné, proto jsou taniny považovány za antinutriční látky [58]. Nejvíce se však tento nežádoucí jev projevuje na špatném vstřebávání esenciálních aminokyselin jako jsou zejména methionin a lysin. Kromě bílkovin reagují s trávicími enzymy, což vede ke zhoršení stravitelnosti také u dalších složek tráveniny. Při příjmu vysokých dávek může docházet k podráždění výstelky střev, neboť reagují také s bílkoviny stěny [15].

Většina taninů je rozpustná ve vodě při 20–35 °C, což také souvisí s jejich uvolňováním při namáčení a klíčení semen [58]. To vede ke snížení obsahu taninů v naklíčených semenech, jak také potvrdily mnohé studie [28; 52].

5.6.2.1 Změny v obsahu taninů

Ve studii Thakura a kol. [28] bylo zjištěno, že klíčením se v semenech amarantu snížil obsah taninů z 0,065 % na 0,044 %, což znamená pokles o 32,31 %. Odůvodnění je takové, že během namáčení se taniny vyluhují ve vodě. Také v pohance byl pozorován pokles obsahu taninů z 0,222 % na 0,089 % po 72 hodinách klíčení, to je snížení o 59,91 %. Tento úbytek prý může být způsoben navázáním těchto fenolických látek na bílkoviny nebo sacharidy přítomné v semenech. Hejazi a kol. [59] tvrdí, že pokles obsahu taninů může být způsoben vysokou aktivitou polyfenoloxidázy a dalších katabolických enzymů během klíčení. Snížení obsahu taninů bylo pozorováno také u semen čočky a cizrny, jak je uvedeno v tabulce č. 5.

5.6.3 Oligosacharidy

Jak již bylo zmíněno v kapitole 4.1.3 Luštěniny, zejména luštěniny se vyznačují vyšším obsahem nestravitelných oligosacharidů. Oligosacharidy neboli α -galaktosidy jsou nestravitelné sacharidy, které nepodléhají enzymatickému štěpení v tenkém střevě, neboť lidský organismus není schopný si tento enzym (α -galaktosidasu) vytvořit. Dostávají se až do tlustého střeva, kde jsou rozkládány střevní mikroflórou za vzniku plynů vodíku, oxidu uhličitého a methanu. Z tohoto důvodu způsobují luštěniny nepříjemné nadýmání [15; 33; 60].

Oligosacharidy jsou však látky rozpustné ve vodě, tudíž je lze částečně odstranit namáčením a klíčením. Klíčením se zároveň spotřebovávají a slouží jako zdroj energie klíčícímu semeni. Obsah oligosacharidů se klíčením může snížit až o 80 %, přičemž se naklíčená semena stávají stravitelnější a nenadýmají [15; 24; 33; 60].

5.7 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které chrání lidské tělo před procesem zvaným oxidace. Neutralizují tělu škodlivé látky tzv. volné radikály, což jsou velmi nestálé a velmi reaktivní částice [51; 61]. Termín „volný radikál“ je z chemického hlediska jakákoliv molekula, atom nebo iont s nepárovými elektrony ve valenční vrstvě, který je schopný alespoň na krátkou dobu samostatně existovat. Volné radikály kyslíku, kterým se správně říká reaktivní formy kyslíku, z anglického spojení reactive oxygen species (ROS), jsou meziprodukty redukce kyslíku na vodu [62]. Jsou přirozeně produkovány v metabolických procesech organismů při oxidačních reakcích, při dýchání. Dýchací řetězec mitochondrií je generátorem superoxidu $O_2^{\cdot-}$, který přechází na peroxid vodíku H_2O_2 , který je sám o sobě stabilní, ale ochotně reaguje s redukovánými redoxně aktivními přechodnými kovy, jako jsou železo nebo měď. Této reakci se říká Fentonova reakce a vzniká při ní velice reaktivní a pro člověka nejvíce nebezpečný hydroxylový radikál $\cdot OH$. Tento volný radikál se stabilizuje vytržením elektronu z jiné struktury, čímž vzniká další radikál a řetězová reakce pokračuje. Tyto ROS mohou napadat a poškozovat DNA, lipidy, proteiny nebo mohou poškozovat buňky [62; 63]. Nadbytek těchto radikálů v organismu vede k tzv. oxidačnímu stresu, který zvyšuje riziko celé řady onemocnění. Je známo, že volné radikály způsobují stárnutí, různé druhy rakoviny, autoimunitní choroby, Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu chorobu a další [61; 63; 64]. Tělo se těmto nebezpečným radikálům brání produkcí endogenních antioxidantů jako jsou antioxidační enzymy např. superoxidodismutáza, glutathionperoxidáza nebo kataláza. Mimo to je také důležité přijímat antioxidanty z potravy, to jsou tzv. exogenní antioxidanty. Zdrojem těchto antioxidantů je zdravá vyvážená strava a konzumace potravin bohatých na tyto látky. Mezi takové potraviny patří právě naklíčená semena, jak bylo potvrzeno v mnoha studiích a výzkumech [61; 63]. Termín „antioxidant“ tedy definuje látku, která je schopná oddálit, zabránit nebo odstranit oxidační poškození cílové molekuly. Tato schopnost se označuje jako antioxidační kapacita a nejvíce sledovanými látkami s touto schopností v naklíčených semenech jsou zejména kyselina γ -aminomáselná, fenolické látky a vitamíny [1; 62].

5.7.1 Antioxidační kapacita

Antioxidační kapacita je nejrozsáhleji zkoumanou bioaktivitou v naklíčených semenech. Jsou prováděny četné výzkumy zabývající se antioxidační kapacitou naklíčených semen a všechny se shodují, že klíčení semen může značně zvýšit jejich antioxidační kapacitu. Tyto studie také potvrzují, že zvýšení antioxidační kapacity probíhá v důsledku zvýšení obsahu antioxidačních látek, jako jsou především fenolické látky nebo vitamíny [1]. Antioxidační

schopnost může být ovlivněna obsahem bílkovin, kdy čím vyšší je obsah bílkovin, tím nižší je antioxidační kapacita [65].

5.7.1.1 Změny v antioxidační kapacitě

Rico a kol. [46] uvádí, že proces klíčení vedl ke zvýšení celkové antioxidační kapacity ječmene, přičemž antioxidační kapacita je závislá na čase a s prodlužující se dobou klíčení roste také antioxidační kapacita. Pro hodnocení byla použita metoda FRAP, ORAC, DPPH, TEAC, přičemž všechny potvrdily zvýšení antioxidační kapacity. Tyto výsledky jsou připisovány uvolňování fenolických látek ze složek buněčné stěny během klíčení a také zvýšenému obsahu vitamínu C. Thakur a kol. [28] potvrdili zvýšení antioxidační kapacity vlivem klíčení v semenech pseudoobilovin. Změny jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Tabulka 7: Změny antioxidační kapacity a změny v obsahu fenolů v semenech pseudoobilovin [28]

Druh semene	Antioxidační kapacita (% inhibice)	Celkový obsah fenolů (mg GAE/100 g)
Amarant		
Nenaklíčené	18,75 ± 0,10	32,68 ± 0,06
Naklíčené	35,15 ± 0,27	74,06 ± 0,58
Pohanka		
Nenaklíčené	31,69 ± 0,68	210,31 ± 0,28
Naklíčené	88,22 ± 0,54	473,87 ± 0,87
Quinoa		
Nenaklíčené	46,41 ± 1,08	48,07 ± 0,16
Naklíčené	62,60 ± 0,27	82,47 ± 0,19

Pozn. GAE – kyselina gallová

5.7.2 Kyselina γ -aminomáselná (GABA)

Kyselina γ -aminomáselná (GABA) je neproteinová aminokyselina o čtyřech uhlících, která se vyskytuje v prokaryotických a eukaryotických organismech ve volném stavu. Funguje jako inhibiční neurotransmitter v mozku a míše savců, může také regulovat krevní tlak a srdeční frekvenci, zmírňovat bolest a úzkost a zvyšovat sekreci inzulínu ze slinivky břišní [1; 11; 66]. GABA může být v rostlinách syntetizována různými signálními cestami, z nichž dvě patří mezi hlavní, a to biochemická dráha zvaná GABA-shunt a dráha, která se nazývá degradace polyaminů [11; 46].

5.7.2.1 Změny v obsahu GABA

Cáceres a kol. [67] uvádí, že obsah GABA závisí z veliké části na podmínkách klíčení, kdy nejlepších výsledků bylo dosaženo během klíčení při teplotě 34 °C po dobu 96 hodin. Z této studie také vyplývá, že aktivita glutamátdekarboxylázy roste s rostoucí teplotou od 20 do 40 °C.

Rico a kol. [46] se zabývali obsahem GABA v naklíčeném ječmeni. V této studii bylo zjištěno, že klíčením se obsah GABA zvýšil z původních 54 mg/100 g dm (dm – suchá hmota) na hodnoty mezi 81 až 186 mg/100 g dm v závislosti na podmínkách klíčení. Toto zvýšení bylo způsobeno částečnou hydrolyzou zásobních proteinů na oligopeptidy a volné aminokyseliny a následnou aktivací enzymu gludekarboxylázy, který přeměňuje kyselinu glutamovou na GABA. Dalším vysvětlením může být také zvýšená aktivita diaminoxidázy klíčením a následná syntéza GABA z polyaminů.

5.7.3 Fenolické sloučeniny

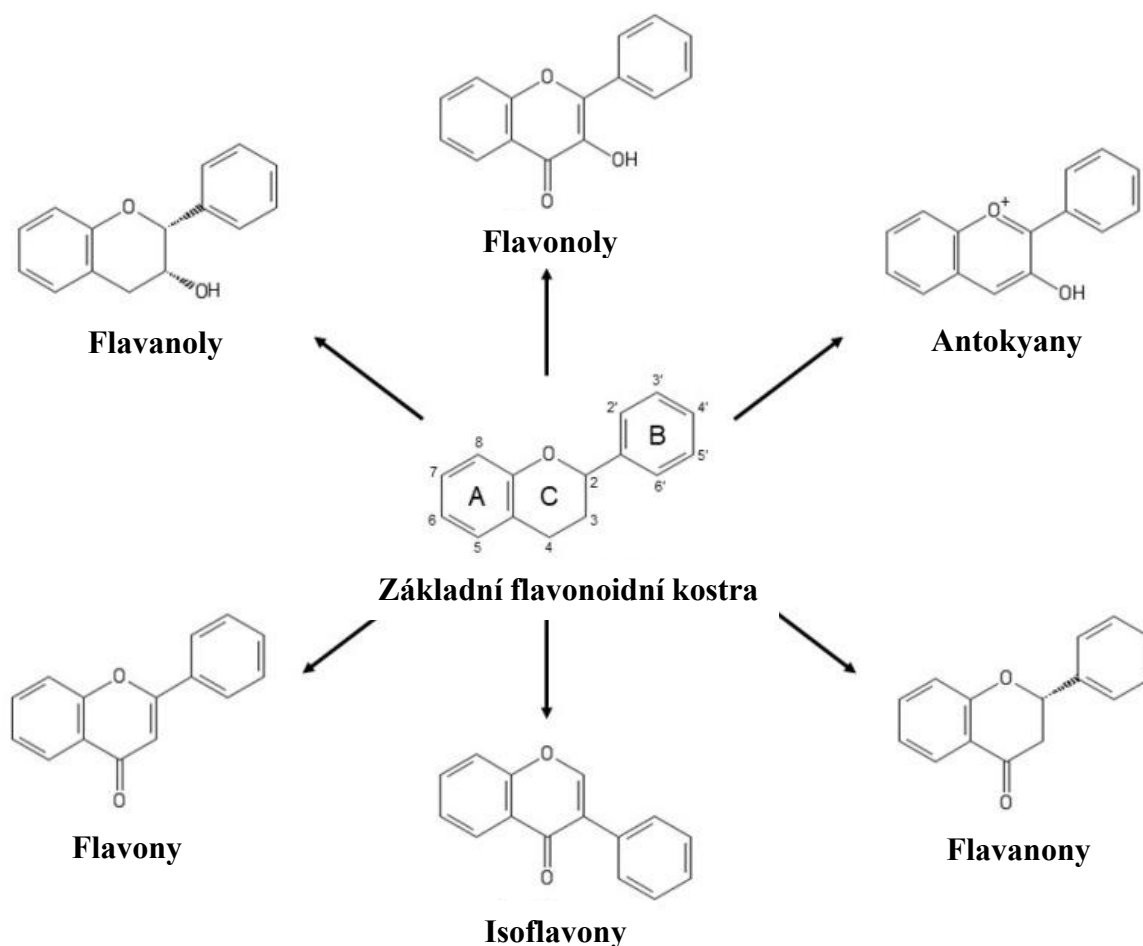
Fenolické látky jsou organické sloučeniny, které mají ve své struktuře alespoň jeden aromatický kruh, který má na sobě navázanou jednu nebo více hydroxylových skupin. Tyto látky jsou široce rozšířené v rostlinné říši. Patří mezi nejrozšířenější sekundární metabolity rostlin, přičemž je známo více než 8 000 fenolových struktur. Mezi nejjednodušší molekuly patří fenolické kyseliny, které se dále rozdělují do dvou tříd. První jsou deriváty kyseliny benzoové, do které patří kyselina gallová, druhou deriváty kyseliny skořicové, která zahrnuje kyselinu kumarovou, kávovou a ferulovou. Mezi složitější struktury patří polyfenoly, které zahrnují skupinu flavonoidů, což jsou látky hojně zastoupené v ovoci a zelenině. Jejich struktura sestává z flavanového jádra obsahujícího 15 atomů uhlíku, které jsou uspořádány do tří kruhů (C6–C3–C6), které se označují jako A, B a C, jak je možné vidět na obr. č. 7. Podle oxidačního stavu centrálního kruhu C se dále dělí na šest podskupin: flavony, flavonoly, flavanoly, flavanony, isoflavony a antokyany.

Fenolické sloučeniny jsou důležité pro kvalitu potravin rostlinného původu. Jsou zodpovědné za jejich celkové organoleptické vlastnosti. Přispívají k hořkosti a svíravosti ovoce, ovocných šťáv a vín, což se připisuje interakci mezi fenolickými látkami a glykoproteiny ve slinách. Zejména antokyany jsou zodpovědné za oranžové, červené, modré a fialové zbarvení mnoha druhů ovoce a zeleniny [68; 69].

Polyfenoly se vyskytují v rostlinné říši ve volné nebo vázané formě. Volná forma je rozpustná a snadno extrahovatelná do vodného nebo organického rozpouštědla, zatímco vázané polyfenoly jsou navázané na buněčnou stěnu a je nutné je před extrakcí uvolnit pomocí hydrolyzy. Stanovení polyfenolických látek je vždy ovlivněno použitou metodou extrakce. Je tedy nutné srovnávat výsledky jednotlivých studií s ohledem na použitou metodiku [1; 70].

Fenolické látky, které se nacházejí v potravinách, mají mnohé zdravotní přínosy, zejména chrání buňky před oxidačním poškozením. Jejich antioxidační kapacita závisí na jejich stabilitě v různých systémech a také na počtu a umístění hydroxylových skupin. Mnoho studií

prokázalo, že klíčení zvyšuje obsah fenolických látek v jedlých semenech, přičemž původním prekurzorem pro jejich syntézu je glukóza. Dále se na syntéze a transformaci fenolických sloučenin podílí několik důležitých molekulárních signálních drah jako glykolýza, šikimátová dráha a další [1; 68; 69].



Obrázek 7: Základní struktura flavonoidů a hlavní typy flavonoidů, převzato a upraveno [69]

5.7.3.1 Změny v obsahu fenolických látek

V naklíčených semenech se nejvíce sledují obsahy fenolových kyselin a flavonoidů. Studie Wu a kol. [71] uvádí stonásobné zvýšení obsahu isoflavonů v naklíčených semenech cizrny. Výsledky této studie naznačují, že by naklíčená semena cizrny mohla sloužit jako slibná funkční potravina. Obsah celkových polyfenolů se v naklíčeném ovsu zvýšil z 0,20 % na 0,91 % během pěti dní, jak potvrzuje studie Tiana a kol. [38]. Změny během klíčení jsou uvedeny v tabulce č. 3 v kapitole 5.3.1 Změny v obsahu bílkovin. Změny v obsahu celkových fenolů pozorovali také Thakur a kol. [28] v naklíčených pseudoobilovinách, jak je uvedeno v tabulce č. 7 v kapitole 5.7.1.1 Změny v antioxidační kapacitě.

5.7.4 Vitamíny

Vitamíny jsou skupinou organických látek široce rozšířených v rostlinné říši. Jsou nezbytné pro regulaci metabolických funkcí v buňkách a jsou důležité pro lidské zdraví. Vitamíny se rozdělují do dvou skupin, na vitamíny rozpustné ve vodě a vitamíny rozpustné v tucích. Vitamíny rozpustné ve vodě zůstávají v organismu pouze krátkou dobu, proto je třeba je neustále doplňovat. Jsou to vitamíny skupiny B a vitamín C. Vitamíny skupiny B jsou následující: vitamín B₁ (thiamin), vitamín B₂ (riboflavin), vitamín B₃ (niacin), vitamín B₅ (kyselina pantothenová), vitamín B₆ (pyridoxin), vitamín B₉ (kyselina listová neboli folát) a vitamín B₁₂ (kobalamin). Vitamíny rozpustné v tucích se v těle ukládají na poměrně dlouhou dobu, mohou to být měsíce, ale i roky. Do této skupiny patří vitamíny A, D, E a K [1; 51]. Některé vitamíny mají funkci antioxidantů, tedy chrání tělo před poškozením volnými radikály a mají preventivní účinky proti řadě nemocem [51]. Bylo zjištěno, že od okamžiku počátku klíčení se v semenech objevují ochranné reakce prostřednictvím syntézy vitamínů jako je thiamin, riboflavin, niacin, kyselina pantothenová a vitamín C, čímž se zároveň zvyšuje jejich biologická dostupnost [1; 9].

5.7.4.1 Změny v obsahu vitamínů

Rico a kol. [46] stanovovali obsah vitamínů v naklíčeném ječmeni, přičemž byl sledován lineární nárůst v závislosti na čase a teplotě, a to bez ohledu na studovaný vitamín. Vyšší hladiny byly sledovány u vitamínů rozpustných ve vodě, kdy obsah vitamínu B₁ a C se klíčením téměř ztrojnásobil a obsah vitamínu B₂ dosahoval až šestinásobek původní hodnoty v suchých semenech. Tento nárůst je důsledkem biosyntézy probíhající v semeni.

6 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ

Tato kapitola představuje metody stanovení jednotlivých obsahových složek v naklíčených semenech. Nejvíce sledovanými a stanovovanými parametry jsou obsah fenolických látek a antioxidační kapacita. V této kapitole jsou uvedeny také metody stanovení pro jednotlivé biogenní složky jako jsou škrob, tuky, bílkoviny, vláknina a další.

6.1 Stanovení obsahu škrobu

Škrob je v potravinách možné stanovit několika způsoby. Jednou z možností je stanovení vážkovou analýzou, kdy se škrob nejprve převede na rozpustnou formu působením např. kyseliny chlorovodíkové (HCl) a poté se sráží vhodným roztokem např. ethanolom. Sraženina se zváží a přepočítá na obsah škrobu.

Mezi další stanovení obsahu škrobu patří polarimetrické stanovení, které využívá vysoké specifické otáčivosti škrobu, proto je možné stanovit i velice malá množství. Škrob se převede na rozpustnou formu působením HCl tak, že se vzorek převede do odměrné baňky, přidá se zředěná HCl a baňka se vloží do vroucí vodní lázně a za občasného promíchání se zahřívá po dobu 15 minut. Následně se baňka vyjme, přidá se další podíl zředěné HCl a obsah baňky se zchladí. Následuje čiření vhodnými roztoky např. roztokem molybdenanu sodného nebo roztokem kyseliny fosfowolframové, případně je možné použít také Carrezova čiřidla I a II. Po vyčiření je nutné baňku důkladně promíchat a zfiltrovat. Filtrátem se naplní polarizační trubice, která se vloží do polarimetru a odečítá se úhel pootočení, pomocí kterého se dopočítá obsah škrobu ve vzorku [72].

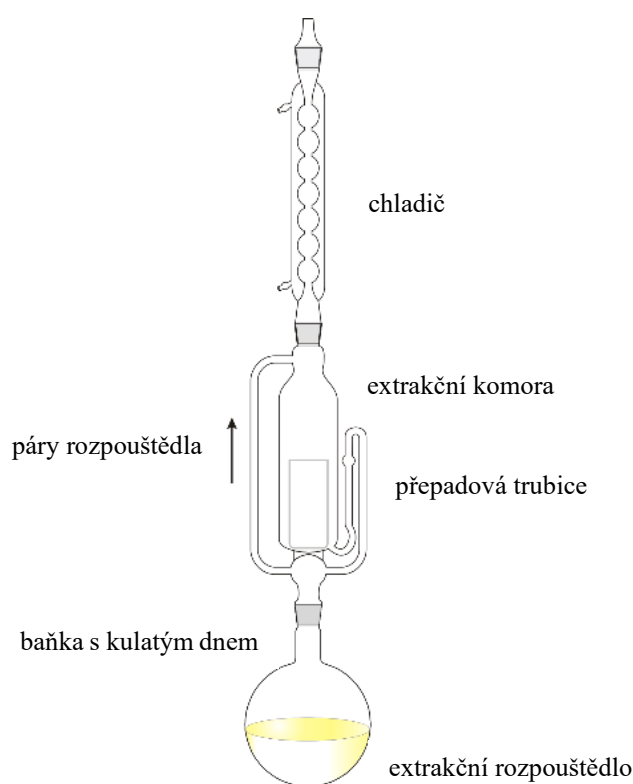
Obsah škrobu je také možné vypočítat ze stanovení stravitelnosti škrobu, kdy se sleduje rychlost enzymové hydrolýzy škrobu, jak již bylo zmíněno v kapitole 5.1. Metodu, která využívá prasečí pankreatickou α -amylázu, použili ve své studii při stanovení obsahu škrobu v naklíčené kukuřici MA a kol. [37].

6.2 Stanovení obsahu tuků

V potravinách se stanovuje celkové množství lipidů nejčastěji metodou podle Soxhleta. Tuk se extrahuje vhodným čistým lipofilním rozpouštědlem, které se po ukončení extrakce oddestiluje a v destilační baňce zůstane tukový podíl, který se zváží. Potraviny, ve kterých převažují lipidy ve formě triacylglycerolů, se extrahují nepolárními rozpouštědly jako hexan, diethylether, petrolether a další. Pro vzorky s vyšším obsahem vody, polárních fosfolipidů nebo lipoproteinů, se používají polárnější extrakční rozpouštědla jako methanol nebo chloroform,

případně také směsi rozpouštědel, která zajišťují vyšší výtěžky, a tedy lepší výsledky. Pro případné uvolnění tukového podílu ze vzorku lze použít kyselinu chlorovodíkovou.

Rozdrcený vysušený vzorek se vkládá do extrakční patrony, která se nvrchu utěsní vatou a umístí se do Soxhletova extraktoru viz obr. 7. K extraktoru se připojí předem vysušená a zvážená baňka s kulatým dnem se zábrusem, do které se vloží varné kamínky. Poté se do horní části extraktoru nalije vhodné rozpouštědlo a napojí se zpětný vodní chladič. Baňka se začne zahřívat elektrickou vodní lázní (topné hnízdo) tak, aby rozpouštědlo mírně vřelo. Extrakce probíhá v řádu hodin, poté se přeruší, rozpouštědlo se oddestiluje a baňka s extraktem se suší v sušárně do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exikátoru se baňka s extraktem zváží a vypočítá se procentuální zastoupení tuku ve vzorku [72].



Obrázek 8: Soxhletův extraktor, převzato a upraveno z [73]

6.3 Stanovení obsahu bílkovin

Bílkoviny se v potravinách stanovují dvěma způsoby. Stanovují se tzv. hrubé bílkoviny, které zahrnují veškeré dusíkaté látky, včetně těch, které jsou nebílkovinné povahy. Druhá možnost zahrnuje pouze látky bílkovinného charakteru čili jedná se o stanovení čistých bílkovin. Metoda, která slouží ke stanovení obsahu bílkovin, ať už hrubých nebo čistých, se nazývá metoda podle Kjeldahla. V potravinářské analytice se však využívá především stanovení obsahu celkového dusíku, tedy hrubých bílkovin.

Stanovení bílkovin metodou podle Kjeldahla zahrnuje mineralizaci vzorku varem v koncentrované kyselině sírové (H_2SO_4) za přídavku katalyzátoru, nejčastěji selenu. Dusíkaté látky se převedou na síran amonný $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, z něhož se v alkalickém prostředí (po přídavku NaOH) uvolní amoniak, který se destilací s vodní parou predestiluje do předlohy se známým množstvím standardizované H_2SO_4 . Přebytek H_2SO_4 se ztitruje odměrným roztokem NaOH a odečtením této spotřeby se zjistí množství spotřebované H_2SO_4 při reakci s amoniakem. Z tohoto množství se následně vypočítá obsah dusíku, který se přepočítá na obsah hrubých bílkovin pomocí univerzálního faktoru pro přepočet obsahu dusíku na obsah veškerých bílkovin, který je 6,25 (bílkoviny obsahují 16 % dusíku $\rightarrow 100 / 16 = 6,25$). Protože je obsah dusíku v bílkovinách podle původu různý, používají se pro některé potraviny jiné faktory např. pro sušené mléko 6,38; pro obiloviny, mouku, chléb a těstoviny 5,70 [72; 74].

6.4 Stanovení obsahu vlákniny

Vláknina se v potravinách stanovuje vážkově. Existuje několik metod, kdy pro stanovení vlákniny v rostlinném materiálu, jako jsou zejména obiloviny a luštěniny, je nejčastěji používaná metoda stanovení vlákniny podle Scharrera a Kürschnera. Tato metoda spočívá v působení směsi kyseliny octové, dusičné a trichloroctové na balastní látky ve vzorku, které se rozruší a získá se vláknina, která se stanovuje vážkově.

Jemně rozemletý vzorek se převede do baňky se zábrusem a pod zpětným chladičem se povaří 30 minut se směsí kyselin. Ještě vroucí směs se poté přefiltruje za sníženého tlaku přes vyžíhaný a předem zvažovaný filtrační kelímeček a pevný podíl v kelímku se promyje vroucí vodou, následně třikrát ethanolem a na závěr diethyletherem. Kelímeček se suší v sušárně do konstantní hmotnosti, zváží se a poté se jeho obsah zpopelní v muflové peci při $650\text{ }^\circ\text{C}$. Kelímeček se opět zváží a z rozdílů hmotností před a po žihání se vypočítá obsah vlákniny [72].

6.5 Stanovení celkového obsahu fenolických látek

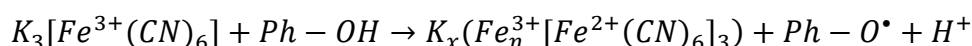
Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek v rostlinných materiálech se využívají nejčastěji dvě spektrofotometrické metody, a to FCM a PBM. Tyto metody však nerozlišují jednotlivé fenolické látky (kvalitu). Pro kvalitativní, ale také kvantitativní stanovení fenolických látek se využívají separační chromatografické metody jako vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) nebo plynová chromatografie (GC), lze také použít kapilární zónovou elektroforézu (CZE) [70; 75].

6.5.1 Metoda FCM

Kolorimetrická metoda FCM (s Folin-Ciocalteuovým činidlem) je nejpoužívanější metodou pro stanovení celkového obsahu fenolických látek. Je založena na redukci Folin-Ciocalteuova činidla, což je žlutě zbarvený roztok směsi fosfowolframanu a fosfomolybdenanu (fosfowolframan-fosfomolybdenanový komplex), která reaguje s fenolickými sloučeninami v zásaditém prostředí za vzniku kyslíku a tmavě modrých reakčních produktů. Pro zajištění alkalického pH se přidává například uhličitan sodný, a to až po přidavku FC činidla ke vzorku. Následně se měří absorbance spektrofotometricky s maximem při vlnové délce 760 nm, některé zdroje uvádí 765 nm, proti slepému vzorku, který slouží jako srovnávací. Výsledné hodnoty se vyjadřují jako g kyseliny gallové/kg čerstvé hmoty. Mimo kyseliny gallové lze jako standard použít také kyselinu ferulovou nebo katechin [64; 70; 75; 76; 77; 78].

6.5.2 Metoda PBM (Price-Butlerova metoda)

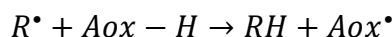
Tato spektrofotometrická metoda také slouží pro stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin. Principem je oxidačně-redukční reakce, která probíhá podle rovnice:



kdy probíhá oxidace fenolátového aniontu na fenolátový radikál, a zároveň redukce žlutě zbarveného hexakynoželezitanu (ferrikyanid) na hexakynoželezitan (ferrokyanid) za vzniku modrého komplexu tzv. pruské modři $K_x(Fe_n^{3+}[Fe^{2+}(CN)_6]_3)$. Jako standard lze použít kyselinu gallovou nebo katechin a výsledky se vyjadřují jako ekvivalent kyseliny gallové [70; 75].

6.6 Stanovení antioxidační kapacity

Pro stanovení celkové antioxidační kapacity se běžně používají tři spektrofotometrické metody: TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potencial) a DPPH (s 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyllovým radikálem). Jsou to metody založené na oxidačně redukčních reakcích, kdy činidlo reaguje s antioxidantem, donorem elektronu nebo vodíkového radikálu, podle obecné reakce: [75; 78]



kde R^\bullet je DPPH $^\bullet$, ABTS $^{+\bullet}$ nebo jiný reaktivní radikál, Aox-H je Ph-OH, Trolox, kyselina askorbová atd. a Ph je polyfenolová sloučenina [75].

Metoda ORAC (absorpční kapacita kyslíkových radikálů) je metoda fluorimetrická a neslouží pro stanovení celkové antioxidační kapacity, jelikož je zaměřena pouze na měření antioxidační aktivity proti peroxylovým radikálům [79].

6.6.1 Metoda používající ABTS (metoda TEAC)

Využívá se schopnosti antioxidantů redukovat kation-radikál $ABTS^{•+}$, který je barevný a relativně stabilní. Radikál $ABTS^{•+}$ se iniciuje reakcí ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonát) s činidlem jako je např. AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid) [80; 81], kdy se tato směs inkubuje v acetonovém pufru o pH 4,3 při 45 °C po dobu 60 minut [82]. Místo AAPH je také možné použít peroxid vodíku, ferrokyanid, persíran a další. Antioxidant se chová jako donor vodíku a redukuje radikál $ABTS^{•+}$, což souvisí s odbarvováním modrozeleného roztoku a se změnou jeho absorpčního spektra. Změna absorbance roztoku se sleduje po 25 minutách spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm proti slepému vzorku. Následně je srovnávána antiradikálová aktivita vzorku s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), která slouží jako standard [80; 81].

6.6.2 Metoda používající DPPH

Využívá se reakce testované látky se stabilním fialově zbarveným DPPH• radikálem (1,1-difeny-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) v methanolového roztoku. Při reakci dochází k redukcí radikálu za vzniku DPPH-H a odbarvování barevného roztoku. Pokles absorbance roztoku se proměřuje spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm [80; 81], některé zdroje uvádí v minutových intervalech po dobu 10 minut [82]. Tato metoda se využívá např. v pivovarnictví, ale v jiných případech spíše orientačně, neboť stanovení může být silně ovlivněno nečistotami z rozpouštědel nebo změnou pH. Jako antioxidační standard se většinou používá gallát nebo Trolox [80; 81].

6.6.3 Metoda FRAP

Spektrofotometrická metoda FRAP (Ferric Reducting Antioxidant Potencial) je založena na principu redoxní reakce. Antioxidanty redukují železitý komplex Fe^{3+} -TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin), který je téměř bezbarvý, na železnatý komplex Fe^{2+} -TPZT, který reaguje s hexakvanoželezitanem (ferrikyanidem) za vzniku modrého zbarvení. Nárůst absorbance odpovídající množství železnatého komplexu se měří při vlnové délce 593 nm a je mírou antioxidační aktivity vzorku. Metoda se provádí v prostředí s nefyziologicky nízkým pH 3,6 z důvodu zachování rozpustnosti železa, tudíž má jistá omezení. Odráží schopnost

látek redukovat Fe^{3+} na Fe^{2+} a s celkovou antioxidační kapacitou nemusí pozitivně korelovat [80; 81]. Dále bylo zjištěno, že se výsledky antioxidační kapacity mohou lišit u vzorků vodných roztoků a roztoků alkoholických [83].

6.6.4 Metoda ORAC

Fluorimetrická metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) je založena na zhášení fluorescence fluorescenční sondy β -fykoerytrinu, ve vylepšeném testu se používá jako fluorescenční sonda fluorescein. Hodnotí schopnost testované látky (antioxidantu) zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci v testovaném systému, ve kterém se generují kyslíkové radikály. Reakcí AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid) s kyslíkem se v systému generují velice stabilní peroxylové radikály, nebo také velice stabilní hydroxylové radikály, které se generují ze systému $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$. Tyto radikály reagují s fluorescenční sondou, která v důsledku poškození ztrácí fluorescenci. Po přidání antioxidantu dochází přednostně k reakci antioxidantu s peroxylovým radikálem za vzniku hydroperoxidu a stabilního antioxidačního radikálu a poškození fluorescenční sondy je inhibováno. Následně se podle úbytku fluorescence hodnotí účinnost antioxidantu čili jeho antioxidační aktivita. Zmíněné peroxylové a hydroxylové radikály patří k nejreaktivnějším, a proto metoda ORAC patří k důležitým parametrům charakterizujícím antioxidanty [79; 80; 81].

6.7 Stanovení kyseliny γ -aminomáselné a vitamínů metodou HPLC

Touto metodou se mimo kyselinu a vitamíny dají stanovit i jiné složky např. jednotlivé druhy fenolických sloučenin, neboť tato metoda má široké využití a je velmi citlivá.

6.7.1 HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) patří do skupiny separačních metod, které jsou založeny na rozdílné distribuci dělených látek ve směsi mezi dvě různé spolu nemísitelné fáze, a to mezi pohyblivou (mobilní) fází a nepohyblivou (stacionární) fází. V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina, která unáší vzorek. Stacionární fází může být pevná látka nebo kapalina ukotvená na tuhém nosiči. Je umístěna v koloně z nerezové oceli (případně ze skla či plastu) s vnitřním průměrem 0,1–6 mm o délce 2–30 cm. Stacionární fáze je složena z velmi malých jemných částic (velikost v rozmezí 3 do 10 μm), které fungují jako sorbent. Tímto sorbentem protéká mobilní fáze a na základě fázového rozhraní dochází při separaci k opakovanému ustalování rovnováhy dělených látek mezi mobilní a stacionární fází. Vzorek se dávkuje dávkovací smyčkou do mobilní fáze, která je do systému přiváděna pomocí čerpadla za vysokého tlaku

(řádově jednotky až desítky MPa), aby bylo možné dosáhnout dostatečně rychlého průtoku kolonou. Po průtoku kolonou vstupuje eluát do detektoru, jehož signál je dále zpracováván počítačem s datovou stanicí a je převeden do podoby chromatografického záznamu (chromatogram), který je charakteristický křivkami gaussovského tvaru, které jsou nazývány píky nebo také eluční křivky. Signál neboli odezva je přímo úměrná koncentraci či hmotnosti separovaných látek. Molekuly, které setrvávají delší dobu ve stacionární fázi, mají delší retenční čas, což je doba, která uplyne od nástřiku vzorku do dosažení maxima eluční křivky. Z toho lze také určit kvalitu (složení směsi). Kvantita dané složky ve směsi je dána plochou pod píkem či výškou píku. Separace a eluce jednotlivých složek směsi závisí na povaze mobilní i stacionární fáze. Závisí také na vhodně zvolené detekční metodě, kterých může být celá řada [84; 85; 86].

6.8 Stanovení obsahu minerálních látek

Minerální látky se ve vzorcích potravin nejčastěji stanovují atomovou absorpční spektrometrií (AAS), která je schopná detekovat koncentrace prvků v řádu 10^{-3} až 10^{-6} g/l, někdy dokonce ještě nižší. Metoda je založena na schopnosti volných atomů sledovaných prvků absorbovat monochromatické záření téže vlnové délky, kterou by samy vyzařovaly, pokud by byly excitovány. Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou zhotovená z analyzovaného prvku a záření je tvořeno převážně čárovým atomovým spektrem prvku duté katody. Stanovení lze provádět pouze v plynné fázi, kde jsou od sebe jednotlivé atomy vzájemně dobře odděleny. Proces, kterým se vzorek odpaří a takto rozloží, se nazývá atomizace. Atomizace je klíčovým krokem a její účinnost a reprodukovatelnost mají velký vliv na výsledek měření. Může probíhat několika způsoby, přičemž nejčastější jsou atomizace v plameni, atomizace v elektrotermickém atomizátoru a atomizace indukčně vázaným plazmatem (ICP).

Vzorek se před zavedením do atomizátoru přemění na aerosol ve zmlžovači a následně je unášen do plamene nebo do plazmové hlavice, kde se vlivem vysoké teploty odpaří rozpouštědlo a vznikají volné atomy. Tímto prostředím prochází záření z výbojky, které je absorbováno volnými atomy, čímž dochází k zeslabení jeho intenzity. Toto záření vstupuje do monochromátoru, kde se izoluje vhodná rezonanční čára, na které se sleduje absorpce stanovovaného prvku a detekčním systémem se změří světelný tok. Z úbytku intenzity se vypočítá koncentrace stanovovaného prvku ve vzorku. Tato metoda je srovnávací a vyhodnocování výsledků se provádí metodou kalibrační křivky nebo metodou standardního přídatku [72; 86].

7 RIZIKA SPOJENÁ S KONZUMACÍ NAKLÍČENÝCH SEMEN

Během klíčení, při sklizni nebo při nevhodném skladování naklíčených semen může docházet ke kontaminaci a k pomnožení nežádoucích mikroorganismů, což může vést k alimentárním onemocněním. Jedná se především o rizika nákazy salmonelou nebo patogenními *Escherichia coli*. Tyto mikroorganismy se mohou rozvíjet zejména v jemné kořenové struktuře klíčků [8].

Mimo výskytu nežádoucích mikroorganismů se mohou na klíčcích tvořit plísně. Příznivé podmínky pro tvorbu plísní vznikají, když se klíčky příliš zahřívají a nemají dostatek vzduchu pro dýchání. Při klíčení semen se zvyšuje teplota v nádobě a ze semen se uvolňují rostlinné metabolity. Proto je důležité semena proplachovat studenou vodou.

V průběhu klíčení se mohou objevit malé tenké kořínky hustě pokrývající klíček, které mohou vypadat jako plíseň. O plíseň se ale nejedná a tyto kořínky si semeno vytváří, aby mohlo lépe dýchat. Takovéto kořínky se tvoří například na semenech ředkviček, pohanky nebo na sezamových semenech [24]. Hnilobu lze rozpoznat jednoduše, výskyt plísní je většinou spojený s nepříjemným zápachem [8].

7.1 Jak předcházet mikrobiální kontaminaci?

Pro předcházení mikrobiální kontaminaci je vhodné dodržovat tyto zásady:

- výběr kvalitních semen určených k naklíčování (čerstvá, nesmí být chemicky ošetřena)
- řádná dezinfekce klíčidla před použitím
- hygiena rukou před manipulací s klíčky
- používání pouze pitné vody
- zamezení kontaktu s hmyzem
- vhodné místo pro pěstování (vyvarovat se pěstování v blízkosti pokojových rostlin)
- čisté nádoby pro uchovávání klíčků [8]

Orgány jako americký Úřad pro potraviny a léčiva (FDA) a Národní poradní výbor o mikrobiologických kritériích pro potraviny (NACMCF) se zabývají problematikou snižování možných alimentárních nákaz z naklíčených semen, provádí v této oblasti výzkumy a navrhují doporučení jak postupovat, aby byla konzumace naklíčených semen bezpečná. Řeší především správné ošetřování semen, které zamezí riziku kontaminace patogenními mikroorganismy.

Výrobci naklíčených potravin musí být schváleni dozorovým orgánem, v České republice je to Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), a musí dodržovat pravidla správné

výrobní a hygienické praxe, která zaručí zdravotní nezávadnost těchto potravin. Právní předpisy stanovují požadavky na sledovatelnost naklíčených potravin, mikrobiální kritéria, pravidla pro schvalování provozů produkujících naklíčené potraviny a osvědčení pro dovoz do EU [8].

8 ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá naklíčenými potravinami, jakožto cenným zdrojem živin. Naklíčená semena představují široké využití nejen ve veganské a vegetariánské stravě, stále častěji se objevují také v klasickém směru stravování. Během klíčení semeno prochází řadou změn, vznikají látky, které přináší zdravotní benefity, proto jsou naklíčená semena velice oblíbená, navíc jsou také velice chutná a jejich příprava není náročná.

V první části bakalářské práce jsou shrnuty obecné informace ohledně klíčení semen. Je zde zahrnuto vysvětlení pojmů týkajících se této problematiky, podmínky pro klíčení semen a samotný proces klíčení. Dále jsou uvedeny druhy semen, které jsou pro naklíčování vhodné a v jakých nádobách je vhodné tato semena naklíčovat. Druhá část se zabývá analýzou jednotlivých složek naklíčených semen a jejich porovnáním se semeny nenaklíčenými. Jsou zde popsány metody stanovení těchto složek a konkrétní příklady ve změnách jejich obsahu. Závěr přináší informace o rizicích při naklíčování jedlých semen a jak je možné jim předcházet, aby nedocházelo k alimentárním onemocněním z naklíčených potravin.

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] GAN, Ren-You, Wing-Yee LUI, Kao WU, Chak-Lun CHAN, Shu-Hong DAI, Zhong-Quan SUI a Harold CORKE. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*. 2017, **59**, 1-14. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.11.010
- [2] PEÑAS, Elena a Cristina MARTÍNEZ-VILLALUENGA. Advances in Production, Properties and Applications of Sprouted Seeds. *Foods*. 2020, **9**(6), 790. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9060790
- [3] JABLONSKÝ, Ivan. *Pěstujeme klíčící osivo a výhonky*. Praha: Grada, 2005. Česká zahrada. ISBN 80-247-1114-1.
- [4] Provděcí nařízení Komise (EU) č. 208/2013 ze dne 11. března 2013 o požadavcích na sledovatelnost u klíčků a semen určených k produkci klíčků. In: *Úřední věstník*. L 68. 2013, s. 16–18. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/>
- [5] In: *Vegup.me* [online]. [cit. 2023-04-18]. Dostupné z: <https://www.vegup.me/>
- [6] WIGMORE, Ann. *Klíčení rostlin*. Hodkovičky [Praha]: Pragma, 2007. ISBN 978-80-7349-075-1.
- [7] Naklíčená semena. In: *Bezpečnost potravin* [online]. Praha: Informační centrum bezpečnosti potravin, Ministerstvo zemědělství [cit. 2023-03-20]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/termin/naklicena-semena/>
- [8] PETŘEKOVÁ, Karin a Zuzana SOVADINOVÁ. Klíčení semen ke konzumaci: výhody domácího klíčení semen a rizika spojená všeobecně s konzumací klíčených semen. *Výživa a potraviny: časopis Společnosti pro výživu*. 2017, **72**, 34–36. ISSN 1211–846x.
- [9] MONTEMURRO, Marco, Erica PONTONIO, Marco GOBBETTI a Carlo Giuseppe RIZZELLO. Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*. 2019, **302**, 47-58. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005
- [10] NOVÁK, Jan a Milan SKALICKÝ. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika*. 3. vyd. Praha: Powerprint, 2012. ISBN 978-80-87415-53-5.
- [11] LIU, Siyu, Wei WANG, Hongyun LU, Qin SHU, Yu ZHANG a Qihe CHEN. *New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: A review*. 2022, **123**, 187-197. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2022.02.029
- [12] SMÝKAL, Petr, Vanessa VERNOUD, Matthew W. BLAIR, Aleš SOUKUP a Richard D. THOMPSON. The role of the testa during development and in establishment of dormancy

- of the legume seed. *Frontiers in Plant Science*. 2014, **5**. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2014.00351
- [13] PAVLOVÁ, Libuše. *Fyziologie rostlin*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-0985-1.
- [14] Rostlinná NEJ: Rozmnožování. In: *Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.: poznáváme svět rostlin* [online]. [cit. 2023-05-5]. Dostupné z: <http://www.ueb.cas.cz/cs>
- [15] TICHÁ, Markéta a Petra VYZÍNOVÁ. *Polní plodiny* [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2006 [cit. 2023-04-25].
- [16] FÜRSTLER, Angelika. *Výhonky a mikrozelenina: 70 prvotřídních superpotravin z vlastní zahrádky*. Praha: Grada, 2018. ISBN 978-80-271-0641-7.
- [17] BRETHERTON, Caroline. *Nakličeno!: semínka, obilniny a luštěniny*. Praha: Euromedia, 2018. Esence. ISBN 978-80-7549-479-5.
- [18] NONOGAKI, Hiroyuki, George W. BASSEL a J. Derek BEWLEY. Germination—Still a mystery. *Plant Science*. 2010, **179**(6), 574-581. ISSN 01689452. Dostupné z: doi:10.1016/j.plantsci.2010.02.010
- [19] TUAN, Pham Anh, Menghan SUN, Tran-Nguyen NGUYEN, Seokhoon PARK a Belay T. AYELE. Molecular mechanisms of seed germination. *Sprouted Grains*. Elsevier, 2019, 1-24. ISBN 9780128115251. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4
- [20] LIMÓN, Rocio I., Elena PEÑAS, Cristina MARTÍNEZ-VILLALUENGA a Juana FRIAS. Role of elicitation on the health-promoting properties of kidney bean sprouts. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, **56**(2), 328-334. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2013.12.014
- [21] PAJAK, Paulina, Robert SOCHA, Dorota GAŁKOWSKA, Jacek ROŻNOWSKI a Teresa FORTUNA. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*. 2014, **143**, 300-306. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.064
- [22] WU, Fengfeng, Haiying CHEN, Na YANG, Jinpeng WANG, Xiang DUAN, Zhengyu JIN a Xueming XU. Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars. *Journal of Cereal Science*. 2013, **58**(2), 263-271. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2013.06.008
- [23] GALCHUS, Rita. *Domácí klíčky: podrobný návod k domácímu nakličování po celý rok : luštěniny, obiloviny, výhonky, osení a další*. [Praha]: Slovart, 2014. ISBN 978-80-7391-872-9.
- [24] JIRKOVÁ, Jana. *Klíčení semen pro zdraví*. Všešary: Jana Jirková - Moje e-kniha, 2016. ISBN 978-80-88174-03-5.
- [25] In: *Nakliceno.cz* [online]. [cit. 2023-06-20]. Dostupné z: <https://www.nakliceno.cz/>

- [26] LORENZ, Klaus a Bert D'APPOLONIA. Cereal sprouts: Composition, nutritive value, food applications. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009, **13**(4), 353-385. ISSN 0099-0248. Dostupné z: doi:10.1080/10408398009527295
- [27] DALLEN, Maria. *Zelené potraviny: když jídlo je našim lékem : mladá pšenice, mladý ječmen, alfalfa, chlorela, spirulina, mořské řasy, zelenina*. Praha: Ratio Bona, 2010. ISBN 978-80-254-4590-7.
- [28] THAKUR, Priyanka, Krishan KUMAR, Naseer AHMED, Divya CHAUHAN, Qurat UI EAIN HYDER RIZVI, Sumaira JAN, Tajendra Pal SINGH a Harcharan Singh DHALIWAL. Effect of soaking and germination treatments on nutritional, anti-nutritional, and bioactive properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.), quinoa (*Chenopodium quinoa* L.), and buckwheat (*Fagopyrum esculentum* L.). *Current Research in Food Science*. 2021, **4**, 917-925. ISSN 26659271. Dostupné z: doi:10.1016/j.crfs.2021.11.019
- [29] GRAZIANO, Sara, Caterina AGRIMONTI, Nelson MARMIROLI a Mariolina GULLÌ. *Utilisation and limitations of pseudocereals (quinoa, amaranth, and buckwheat) in food production: A review*. 2022, **125**, 154-165. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2022.04.007
- [30] PIRZADAH, Tanveer Bilal a Bisma MALIK. Pseudocereals as super foods of 21st century: Recent technological interventions. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2020, **2**. ISSN 26661543. Dostupné z: doi:10.1016/j.jafr.2020.100052
- [31] § 5 písm. a) vyhlášky č. 329/1997 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena – znění od 01.01.2014.
- [32] DOSTÁLOVÁ, Jana. Luštěniny a jejich význam v lidské výživě. *Výživa a potraviny. Ústav analýzy potravin a výživy*, 2014.
- [33] DOSTÁLOVÁ, Jana a Pavel KADLEC. *Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2014. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-208-2.
- [34] In: *Ronnie.cz* [online]. [cit. 2023-06-20]. Dostupné z: <https://www.ronnie.cz/>
- [35] GENG, Jingzhang, Jiakuan LI, Fengmei ZHU, Xiangning CHEN, Bin DU, Honglei TIAN a Jun LI. Plant sprout foods: Biological activities, health benefits, and bioavailability. *Journal of Food Biochemistry*. 2022, **46**(3). ISSN 0145-8884. Dostupné z: doi:10.1111/jfbc.13777
- [36] KOEHLER, Peter, Georg HARTMANN, Herbert WIESER a Michael RYCHLIK. Changes of Foliates, Dietary Fiber, and Proteins in Wheat As Affected by Germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, **55**(12), 4678-4683. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0633037

- [37] MA, Xianhong, Yang LIU, Jingsheng LIU, Jingjing ZHANG a Renning LIU. *Changes in starch structures and in vitro digestion characteristics during maize (Zea mays L.) germination*. 2020, **8**(3), 1700-1708. ISSN 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.1457
- [38] TIAN, Binqiang, Bijun XIE, John SHI, Jia WU, Yan CAI, Tuoming XU, Sophia XUE a Qianchun DENG. Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chemistry*. 2010, **119**(3), 1195-1200. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.08.035
- [39] CHUNG, Hyun-Jung, Qiang LIU a Ratnajothi HOOVER. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*. 2009, **75**(3), 436-447. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2008.08.006
- [40] CHUNG, Hyun-Jung, Dong-Wha CHO, Jong-Dae PARK, Dong-Keon KWEON a Seung-Taik LIM. In vitro starch digestibility and pasting properties of germinated brown rice after hydrothermal treatments. *Journal of Cereal Science*. 2012, **56**(2), 451-456. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2012.03.010
- [41] SINHA, Kshitija, Ranjeet KAUR, Nishu SINGH, Sumandeep KAUR, Vikas RISHI a Rupam Kumar BHUNIA. Mobilization of storage lipid reserve and expression analysis of lipase and lipoxygenase genes in rice (*Oryza sativa* var. Pusa Basmati 1) bran during germination. *Phytochemistry*. 2020, **180**. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/j.phytochem.2020.112538
- [42] JIMÉNEZ, Dolores, Manuel LOBO, Bruno IRIGARAY, María Antonia GROMPONE a Norma SAMMÁN. Oxidative stability of baby dehydrated purees formulated with different oils and germinated grain flours of quinoa and amaranth. *LWT*. 2020, **127**. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.109229
- [43] NEMZER, Boris a Fadwa AL-TAHER. Analysis of Fatty Acid Composition in Sprouted Grains. *Foods*. 2023, **12**(9). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods12091853
- [44] JAN, Romee, D.C. SAXENA a Sukhcham SINGH. Physico-chemical, textural, sensory and antioxidant characteristics of gluten – Free cookies made from raw and germinated *Chenopodium* (*Chenopodium album*) flour. *LWT - Food Science and Technology*. 2016, **71**, 281-287. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2016.04.001
- [45] DEVI, Chingakham Basanti, Archana KUSHWAHA a Anil KUMAR. Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Science and Technology*. 2015, **52**(10), 6821-6827. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-015-1832-1
- [46] RICO, Daniel, Elena PEÑAS, María del Carmen GARCÍA, Cristina MARTÍNEZ-VILLALUENGA, Dilip K. RAI, Rares I. BIRSAN, Juana FRIAS a Ana B. MARTÍN-DIANA. Sprouted Barley Flour as a Nutritious and Functional Ingredient. *Foods*. 2020, **9**(3). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9030296

- [47] 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.). *LWT - Food Science and Technology*. 2007, **40**(6), 937-945. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2006.05.009
- [48] PILCO-QUESADA, Silvia, Ye TIAN, Baoru YANG, Ritva REPO-CARRASCO-VALENCIA a Jukka-Pekka SUOMELA. Effects of germination and kilning on the phenolic compounds and nutritional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science*. 2020, **94**. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2020.102996
- [49] ŠTERCOVÁ, Eva, Eva STRAKOVÁ, Lucie RUSNÍKOVÁ a Petra HUDEČKOVÁ. *Chemická analýza krmiv: Multimediální studijní materiál* [online]. 2012 [cit. 2023-06-18]. Dostupné z: https://fvhe.vfu.cz/static/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvv/chemicka_analyza_krmiv/index.html
- [50] SHARMA, Seema, Dharmesh C. SAXENA a Charanjit S. RIAR. Using combined optimization, GC–MS and analytical technique to analyze the germination effect on phenolics, dietary fibers, minerals and GABA contents of Kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*). *Food Chemistry*. 2017, **233**, 20-28. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2017.04.099
- [51] JORDÁN, Václav a Marie HEMZALOVÁ. *Antioxidanty: záračné zbraně : vitaminy, minerály, stopové prvky, aminokyseliny a jejich využití pro zdravý život*. Brno: Jota, 2001. Jak na to (Jota). ISBN 80-721-7156-9.
- [52] GHAVIDEL, Reihaneh Ahmadzadeh a Jamuna PRAKASH. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT - Food Science and Technology*. 2007, **40**(7), 1292-1299. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2006.08.002
- [53] LÓPEZ-MORENO, M., M. GARCÉS-RIMÓN a M. MIGUEL. Antinutrients: Lectins, goitrogens, phytates and oxalates, friends or foe?. *Journal of Functional Foods*. 2022, **89**. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2022.104938
- [54] GUO, Jia, Yuan-Yuan BIAN, Ke-Xue ZHU, Xiao-Na GUO, Wei PENG a Hui-Ming ZHOU. Activation of Endogenous Phytase and Degradation of Phytate in Wheat Bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, **63**(4), 1082-1087. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf504319t
- [55] DOST, Kenan a Ozge TOKUL. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 2006, **558**(1-2), 22-27. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2005.11.035
- [56] DOST, Kenan a Gülçin KARACA. Evaluation of Phytic Acid Content of Some Tea and Nut Products by Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography/Visible

- Detector. *Food Analytical Methods*. 2016, **9**(5), 1391-1397. ISSN 1936-9751. Dostupné z: doi:10.1007/s12161-015-0319-z
- [57] PAKFETRAT, Sara, Sedigheh AMIRI, Mohsen RADI, Elahe ABEDI a Luisa TORRI. Reduction of phytic acid, aflatoxins and other mycotoxins in wheat during germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019, **99**(10), 4695-4701. ISSN 0022-5142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.9710
- [58] VAIDEHI, Patel a Patel RAJESH. The active constituents of herbs and their plant chemistry, extraction and identification methods. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2016, **8**(4), 1423-1443. ISSN 0975-7384.
- [59] HEJAZI, Sara Najdi a Valérie ORSAT. Malting process optimization for protein digestibility enhancement in finger millet grain. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, **53**(4), 1929-1938. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-016-2188-x
- [60] MÁLKOVÁ, Hana. Co způsobuje nadýmání po konzumaci luštěnin?. *STOBklub*.
- [61] PASSWATER, Richard A. *O antioxidantech*. Praha: Pragma, 2002. Otázky a odpovědi (Pragma). ISBN 80-720-5897-5.
- [62] PLÁTENÍK, Jan. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi*. Praha, 2009, **11**(1), 30–33.
- [63] DENG, Weiting, Yihao CHEN, Xinning SUN a Ling WANG. AODB: A comprehensive database for antioxidants including small molecules, peptides and proteins. *Food Chemistry*. 2023, **418**. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2023.135992
- [64] ROP, O., V. ŘEZNÍČEK, J. MLČEK, T. JURÍKOVÁ, J. BALÍK, J. SOCHOR a D. KRAMÁŘOVÁ. *Antioxidant and radical oxygen species scavenging activities of 12 cultivars of blue honeysuckle fruit*. Praha: Horticultural Science, 2011, **38**(2), 63–70. ISSN 0862-867X.
- [65] MAREČEK, Vít, Alexandr MIKYŠKA, David HAMPEL, Pavel ČEJKA, Jana NEUWIRTHOVÁ, Alexandra MALACHOVÁ a Radim CERKAL. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *Journal of Cereal Science*. 2017, **73**, 40-45. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2016.11.004
- [66] YANG, Runqiang, Qianghui GUO a Zhenxin GU. GABA shunt and polyamine degradation pathway on γ -aminobutyric acid accumulation in germinating fava bean (*Vicia faba* L.) under hypoxia. *Food Chemistry*. 2013, **136**(1), 152-159. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2012.08.008
- [67] CÁCERES, Patricio J., Cristina MARTÍNEZ-VILLALUENGA, Lourdes AMIGO a Juana FRIAS. Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. *Food Chemistry*. 2014, **152**, 407-414. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.11.156

- [68] DAI, Jin a Russell J. MUMPER. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 2010, **15**(10), 7313-7352. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules15107313
- [69] COSME, Patricia, Ana B. RODRÍGUEZ, Javier ESPINO a María GARRIDO. Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Antioxidants*. 2020, **9**(12). ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox9121263
- [70] PODLOUCKÁ, Pavlína, Kateřina VACULOVÁ, Petr MARTINEK a Ivana POLIŠENSKÁ. Polyfenolické sloučeniny v obilovinách. *Obilnářské listy*. 2021, **29**(3), 70–76.
- [71] WU, Ziyun, Lixia SONG, Shengbao FENG, Yuancai LIU, Guangyuan HE, Yoecelyn YIOE, Shao Quan LIU a Dejian HUANG. Germination Dramatically Increases Isoflavonoid Content and Diversity in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, **60**(35), 8606-8615. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf3021514
- [72] DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Vyd. 1. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1977. ISBN (váz.).
- [73] Soxhlet extractor. In: *Croatian-English Chemistry Dictionary & Glossary* [online]. [cit. 2023-06-20]. Dostupné z: <https://glossary.periodni.com>
- [74] KLECKEROVÁ, Andrea. *Chemie potravin: laboratorní cvičení*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-170-3.
- [75] STRATIL, Pavel, Vlastimil KUBÁŇ a Jitka FOJTOVÁ. Comparison of the Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Wines as Determined by Spectrophotometric Methods. *Czech Journal of Food Science*. 2008, **26**(4), 242–253. ISSN 1212-1800.
- [76] SINGLETON, Vernon L., Rudolf ORTHOFER a Rosa M. LAMUELA-RAVENTÓS. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants Part A*. Elsevier, 1999, 152-178. *Methods in Enzymology*. ISBN 9780121822002. ISSN 0076-6879/99. Dostupné z: doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- [77] SCHOONEN, Jan W. a Goreti M. SALES. Determination of polyphenols in wines by reaction with 4-aminoantipyrine and photometric flow-injection analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2002, **372**(7-8), 822-828. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-002-1267-1
- [78] STRATIL, Pavel, Bořivoj KLEJDUS a Vlastimil KUBÁŇ. Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(3), 607-616. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf052334j

- [79] OU, Boxin, Dejian HUANG, Maureen HAMPSCH-WOODILL, Judith A. FLANAGAN a Elizabeth K. DEEMER. Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, **50**(11), 3122-3128. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0116606
- [80] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2004, **98**(4), 174–179. ISSN 0009-2770.
- [81] ZLOCH, Z., J. ČELAKOVSKÝ a A. AUJEZDSKÁ. *Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu*. Plzeň: Ústav hygieny Lékařské fakulty UK, 2004.
- [82] KARABÍN, Marcel, Pavel DOSTÁLEK a Pavel HOFTA. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chemické listy*. Praha: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, 2006, **100**, 184–189.
- [83] PULIDO, Raquel, Laura BRAVO a Fulgencio SAURA-CALIXTO. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 2000, **48**(8), 3396–3402. ISSN 1520-5118.
- [84] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4243-3.
- [85] ČÁSLAVSKÝ, Josef a Jiří Georg Kamil ŠEVČÍK. *Organická analýza*. Český Těšín: 2 Theta, 2022. ISBN 978-80-88279-17-4.
- [86] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.