

# LUPINA

## jako zdroj prebiotických oligosacharidů

Prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D., Bc. Tereza Kodešová, Ing. Roman Švejstl,  
doc. MVDr. Eva Skřivanová, Ph.D., Ing. Šárka Musilová, Ph.D.

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů,  
Česká zemědělská univerzita v Praze

### Abstrakt

Jednou z možností pozitivního ovlivnění střevní mikrobioty je konzumace potravin bohatých na prebiotické oligosacharidy. Takovou potravinou jsou i semena sladkých odrůd lupiny bílé obsahující vysoký podíl oligosacharidů rafinózové řady (RSO). Zastoupení těchto látek se může měnit i v závislosti na stanovišti, proto bylo našim cílem stanovit množství RSO v lupině bílé pěstované v České republice. K tomuto účelu byl použit enzymatický test Raffinose/Sucrose/D-Glucose Assay Kit (Megazyme®). Průměrné množství RSO bylo 8 g/100 g lupinové mouky. Vzhledem k tomu, že dostatečnou podporu růstu probiotických bakterií v tlustém střevě zajistí dávka 1 až 2 g RSO/den, konzumace 25 g lupinové mouky denně je zcela dostačující k dosažení prebiotického efektu.

### Úvod

Trávicí trakt teplokrevných živočichů včetně člověka je osídlen velmi komplexní mikrobiotou, která se podílí nejen na využití živin z potravy, ale má také zásadní vliv na zdravotní stav hostitele zejména tím, že stimuluje imunitní systém. Nejvyšší zastoupení mikroorganismů je v tlustém střevě, kde se jejich počty pohybují kolem  $10^{11}$ /g a uvádí se, že celkové množství bakterií ve střevě lidí kolísá od  $10^{13}$  do  $10^{14}$  v závislosti na naplnění střev. Vzhledem k tomu, že buněk v lidském těle je  $10^{13}$ , dá se s nadsázkou říci, že po návštěvě toalety se stáváme více člověkem než bakteriálním společenstvem. Mikrobiální osídlení trávicího traktu je nejen velmi početné, ale také rozmanité a právě druhové složení mikroorganismů hraje klíčovou roli v tom, jakým způsobem bude ovlivněno naše zdraví. Mezi jednoznačně pozitivně působící bakterie patří zástupci rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, které jsou zařazovány mezi probiotické bakterie. Při porušení rovnováhy fyziologické střevní mikrobioty, například v důsledku různých onemocnění, antibiotické léčby a dalších stresorů, je doporučováno užívání probiotik. Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy, které, pokud jsou podávány v dostatečném množství, poskytují hostiteli zdravotní přínos [1].

Další možností pozitivního ovlivnění složení střevní mikrobioty je podávání prebiotik. Prebiotika jsou definována jako nestravitelné složky potravy, které příznivě ovlivňují hostitele pomocí selektivní podpory růstu a/nebo aktivity pozitivně působících bakterií v tlustém

střevě [2]. Prebiotika, nejčastěji fruktooligosacharidy (FOS) a galaktooligosacharidy (GOS), se mohou přidávat do potravin, jsou součástí doplňků stravy a často jsou obsažena i v kojeneckých výživách. Existuje však celá řada potravin rostlinného původu, které jsou součástí běžného jídelníčku a zejména FOS a inulin obsahují zcela přirozeně. FOS jsou polymery D-fruktózy spojené vazbou  $\beta$ -2-1. Na konci molekuly je pomocí  $\alpha$ -1-2 vazby napojena glukóza. Molekuly se stupněm polymerace větším než 20 bývají označovány jako inulin. Množství prospěšných bakterií v trávicím traktu lze tedy zvýšit například konzumací čekanky (s obsahem inulinu a FOS 15–24 g/100 g), topinamburu (12–20 g/100 g), jakonu (3–19 g/100 g), artyčoku (1,2–6,8 g/100 g), chřestu (2–3 g/100 g), banánu (0,3–0,7 g/100 g), cibule (1,1–7,5 g/100 g), česneku (1–16 g/100 g), pórku (2–10 g/100 g), ale také kořene pampelišky (12–15 g/100 g), ze kterého lze připravit výluh [3–5]. GOS jsou definovány vzorcem  $\text{Glu } \alpha 1-4[\text{Gal}1-6]_n$ , kde  $n=2-5$  a v potravinách se přirozeně téměř nevyskytují [6].

Velmi bohatým zdrojem prebiotik jsou také luštěniny, kde se vyskytují oligosacharidy rafinózové řady (RSO – raffinose series oligosaccharides). Do této skupiny oligosacharidů patří hlavně trisacharid rafinóza obsahující po jedné molekule galaktózy, glukózy a fruktózy, tetrasacharid stachyóza složený ze stejných cukerných jednotek, ale molekula galaktózy je obsažena 2x, a pentasacharid verbaskóza, který obsahuje 3 molekuly galaktózy. RSO byly dříve, a jsou částečně i dnes, považovány za antinutriční látky, které způsobují flatulenci, ale jejich pozitivní účinky na složení střevní mikrobioty byly jasně prokázány v mnoha studiích. Množství RSO ve fazolu obecném se pohybuje od 3,9 do 7 g/100 g, mungo fazole obsahují kolem 4,8 g, hrách setý 5,1–6,8 g, čočka jedlá 3,4–5,1 g, sója 8,4–15,3 g a cizrna beraní 2,2–3,2 g RSO na 100 g sušiny [7, 8].

Mezi stále populárnější luštěniny, které jsou určeny pro lidskou výživu, patří i tzv. sladké odrůdy lupiny bílé. Lupina se řadí do čeledi bobovitých a zahrnuje přes 300 druhů, v Evropě jsou nejvýznamnější lupina bílá, lupina žlutá, lupina úzkolistá a lupina proměnlivá. Dříve se lupina z důvodu hořké chuti pěstovala pouze pro krmné účely jako bílkovinné krmivo, v dnešní době jsou pěstovány tzv. sladké odrůdy, které mají snížený obsah hořkých látek a jsou vhodné pro lidskou výživu. Mouka ze semen sladkých

odrůd je přidávána do těstovin, pekárenských výrobků, ale i masných výrobků. Mouka ze semen lupiny má nízký obsah škrobu, má vysoký podíl dusíkatých látek (až 40 %), vysoké zastoupení nenasycených mastných kyselin a rozpustné vlákniny v podobě RSO. Zastoupení těchto látek se může měnit v závislosti na odrůdě, ale i na stanovišti. Proto bylo cílem této práce stanovit množství prebiotických RSO ve vzorcích lupiny bílé pěstované v České republice.

### Materiál a metody

Množství RSO bylo stanoveno ve 3 vzorcích lupiny bílé, která byla vypěstována v různých oblastech, pomocí enzymatického testu Raffinose/Sucrose/D-Glucose Assay Kit (Megazyme®). Test byl proveden ve 3 opakováních. Principem tohoto testu je rozštěpení RSO enzymy  $\alpha$ -galaktosidázou a invertázou na jednotlivé molekuly D-galaktózy, D-glukózy a D-fruktózy. Následně je přidáno činidlo reagující s molekulami D-glukózy za vzniku červeného zbarvení, jeho intenzita je pak měřena spektrofotometricky. Čím je zbarvení intenzivnější, tím bohatší je vzorek na RSO. A protože každá molekula RSO obsahuje právě jednu molekulu D-glukózy, dá se z intenzity zbarvení vypočítat množství RSO v sušině.

Po rozemletí bylo 0,5 g lupinové mouky smícháno s 5 ml 95 % etanolu a inkubováno 5 minut ve vodní lázni při teplotě 85 °C, aby došlo k inaktivaci přirozeně se vyskytujících enzymů. Následně byla suspenze kvantitativně převedena do 50 ml odměrné baňky a doplněna pufrům na bázi acetonu sodného a vzorky byly inkubovány 15 minut při pokojové teplotě, aby došlo k vyluhování oligosacharidů do roztoku. Tuk byl ze vzorků oddělen pomocí chloroformu a vodná fáze obsahující RSO byla podrobena působení enzymů (50 °C po dobu 20 minut) invertázy nebo invertázy společně s  $\alpha$ -galaktosidázou. Po inkubaci bylo přidáno činidlo reagující s molekulami D-glukózy za vzniku červeného zbarvení a jeho intenzita byla měřena spektrofotometricky při vlnové délce 510 nm na přístroji Tecan. Výsledky byly přepočítány na množství RSO v sušině lupiny.

### Výsledky a diskuse

Oligosacharidy rafinóznové řady jsou nedílnou součástí semen hospodářských plodin, kde slouží jako zásoba energie pro klíčení. Některé plodiny těchto oligosacharidů obsahují více a některé méně. Plodiny jako je řepka, obilniny či slunečnice nejsou na RSO bohaté. Vysoký obsah je typický zejména pro luštěniny včetně sóji [9]. Výsledky našeho stanovení potvrdily, že lupina bílá je velmi bohatým zdrojem RSO, tedy prebiotických oligosacharidů. Jejich množství se pohybovalo od 8,78 do 9,52 g na 100 g sušiny, průměrně tedy 9,15 g/100 g (odpovídá 8 g RSO/100 g lupinové mouky). Což je dokonce až 2x více než u některých odrůd sóji. Množství RSO v sójové mouce prodávané na českém trhu se pohybuje od 4,5 do 5,5 g na 100 g [10]. Obsah RSO v semenech lupiny, jakožto i u dalších plodin, se může lišit v závislosti na odrůdě, stanovišti pěstování, agrotechnických podmínkách a průběhu počasí během vegetace. Různí autoři uvádí poměrně široké rozpětí množství RSO v lupině a to od 5,46 až do 9,20 g/100 g [7, 8]. Důležitou roli hraje také metoda stanovení oligosacharidů. Pomocí metody vysokou účinné kapalinové chromatografie byl stanoven obsah RSO v semenech různých druhů lupiny pěstovaných ve Španělsku a bylo zjištěno, že průměrné množství RSO v lupině bílé je kolem 7,12 g/100 g sušiny [8]. Autoři ve své studii dále zjistili, že odrůdy lupiny bílé mají odlišné složení RSO a na rozdíl od odrůd lupiny žluté a úzkolisté obsahují méně verbaskózy. U některých odrůd lupiny bílé nebyla verbaskóza nalezena vůbec. Bylo však nalezeno vysoké množství stachyózy.

Pro běžnou populaci se doporučuje příjem 5 až 8 gramů prebioticky působících oligosacharidů na den. U pacientů se specifickými poruchami zažívacího traktu lze využívat dávek až 15 g/den [11]. Důležité je podotknout, že stanovení optimálního denního příjmu prebiotik je značně individuální a pro každého jedince je přijatelné jiné množství. Velmi záleží na složení střevní mikrobioty. Pokud bude mít člověk například nižší zastoupení bifidobakterií a vyšší množství klostridií, může u něj zvýšená konzumace oligosacharidů vyvolat nežádoucí účinky



PROJDĚTE SI S VAŠIMI DĚTMI NAUČNOU STEZKU

# PŘÍBĚH POTRAVIN

PŘIJĎTE PROŽÍT KRÁSNÝ DEN  
PLNÝ POZNÁNÍ A ZÁBAVY SE  
ZVÍŘÁTKY S CELOU RODINOU

8. ROČNÍK NAUČNÉ STEZKY

POŘÁDÁ VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v.v.i., ŠLECHTITELSKÁ  
STANICE SELGEN, A.S. A ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

<https://www.facebook.com/Pribehpotravin/>

TĚŠÍME SE NA VÁS  
V SOBOTU  
**9. ČERVNA 2018**  
OD 9 DO 16 HODIN  
V NETLUKÁCH

zejména v podobě flatulence. V takovém případě lze doporučit současné podávání probiotických bakterií. Druhým rozhodujícím faktorem snášenlivosti prebiotik je zastoupení jednotlivých oligosacharidů v prebiotiku nebo v potravine. Ne všechny oligosacharidy jsou totiž skutečně specifické a selektivně fermentovatelné jen pozitivní mikrobiotou. Může dojít i k neselektivnímu účinku a podpoře rozvoje klostridií a dalších, plyny produkujících, bakterií [10]. Nežádoucí trávicí obtíže spojené s konzumací luštěnin lze zmírnit dostatečně dlouhým namáčením, při kterém dochází k vyluhování oligosacharidů nebo také klíčením, kdy je část oligosacharidů spotřebována samotnou rostlinou. Dá se říci, že svou optimální dávku prebiotik, luštěnin, či jiných, na oligosacharidy bohatých, potravin, si musí každý konzument stanovit sám. Výrobci většinou obsah a množství prebiotických oligosacharidů v potravine ani neuvádějí, výjimkou jsou jen umělé mléčné výživy pro kojence. Oligosacharidy jsou zahrnuty buď v povinném údaji „sacharidy“ nebo, podle novelizované legislativy, v nepovinném údaji „vláknina“. Pokud tedy konzument chce zvýšit příjem prebiotik z potravin, musí sám vědět, které potraviny jsou na tyto látky bohaté.

Uvádí se, že pro dostatečnou podporu růstu probiotických bakterií v tlustém střevě postačí denní dávka 1 až 2 g RSO [12]. Takové množství představuje například jeden 50g sójový suk, který obsahuje cca 1,4g RSO. Vzhledem k tomu, že v našem experimentu byl stanoven průměrný obsah RSO v lupinové mouce okolo 8 g/100g, denní konzumace 25g lupinové mouky je zcela dostačující k dosažení prebiotického efektu. Lupina se tedy může významně uplatnit ve výživě lidí, jako tzv. funkční potravina. Jiní autoři [13] navíc uvádí další výhody lupiny, které přichází s nově vyšlechtěnými sladkými odrůdami obsahujícími nižší množství antinutričních látek a vysoký obsah proteinů. U potravin obohacených lupinou byl prokázán vliv na zmírnění pocitu hladu, ovlivnění bilance energie, pozitivní ovlivnění glykemie, hladiny krevních lipidů a hypertenze, dále také zlepšují vyprazdňování střev. Nevýhodou jsou možné alergické reakce na proteiny z lupiny. Lupina také pozitivně ovlivňuje vlastnosti potravin, např. dodává nažloutlou barvu či zpomaluje stárnutí pečiva [14]. Pokud se oligosacharidy rafinosové řady přidávají v čisté formě do mléčných výrobků, zkracují dobu fermentace produktu [15]. Lupinu bílou lze konzumovat i jako přílohu, či součást salátů apod. V takovém případě je ovšem nutné si uvědomit, že obsah oligosacharidů se snižuje vyluhováním.

## Závěr

Lupina se pomalu stává součástí naší stravy a to v různých formách např. v pečivu, těstovinách či jako doplněk stravy. Bylo ověřeno, že lupina obsahuje dostatečné množství oligosacharidů rafinosové řady, aby mohla být považována za funkční potravinu s prebiotickým efektem. Konzumace potravin, které mají kromě své nutriční hodnoty i přidanou hodnotu v podobě pozitivního vlivu na zdraví konzumenta, je plně v souladu se současnými globálními výživovými trendy.

## Poděkování

*Tato práce vznikla díky finanční podpoře NAZV projektu číslo QJ1510136.*

## Literatura

- Hill C, Guarner F, Reid G et al. (2014) The international Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 11, 506–514.
- Gibson GR, Probert HM, Loo JV et al. (2004) Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17, 259–275.
- Van Loo J, Coussement P, De Leenheer L et al. (1995) On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35, 525–552.
- Muir JG, Shepherd SJ, Rosella O et al. (2007) Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6619–6627.
- L'homme C, Peschet JL, Puigserver A et al. (2001). Evaluation of fructans in various fresh and stewed fruits by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Chromatography A* 920, 291–297.
- Tuohy K, Del Rio D (2015) *Diet-Microbe interactions in the gut: Effects on human health and disease*. Elsevier, London.
- Velišek J (2002) *Chemie potravin*. OSSIS.
- Martínez-Villaluenga C, Frías J, Vidal-Valverde C (2005) Raffinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars. *Food Chemistry* 91, 645–649.
- Muzquiz M, Burbano C, Pedrosa MM et al. (1999) Lupins as a potential source of raffinose family oligosaccharides: Preparative method for their isolation and purification. *Industrial Crops and Products* 19, 183–188.
- Rada V (2007) *Nutriční vlastnosti sójových sacharidů ve vztahu k nepřezvýkavcům*. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha.
- Slavin J (2013) Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5, 1417–1435.
- Hara T, Ikeda N, Hatsumi K et al. (1997) Effects of small amount ingestion of soybean oligosaccharides on bowel habits and fecal flora of volunteers. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 55, 79–84.
- Suchý P, Straková E, Herzig I (2016) Možnosti využití lupiny bílé ve výživě zvířat. *Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha*.
- Homolka P, Kudrna V (2007) *Uplatnění lupiny ve výživě přežvýkavců*. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha.
- Martínez-Villaluenga C, Frías J, Vidal-Valverde C et al. (2005) Raffinose family of oligosaccharides from lupin seeds as prebiotics: Application in dairy products. *Journal of Food Protection* 68, 1246–1252.

## Abstract

Foods rich in prebiotic oligosaccharides have a positive effect on intestinal microbiota composition. High proportion of prebiotic raffinose series oligosaccharides (RSO) is characteristic for sweet varieties of lupine. Amount of RSO is variable, dependent also on growing habitat. The aim of this study was to evaluate the presence of RSO in lupine grown in Czech Republic. Enzymatic test Raffinose/Sucrose/D-Glucose Assay Kit (Megazyme®) was used. Mean content of RSO in lupine meal was 8 g/100g. A sufficient daily intake of RSO for supporting the growth of probiotic intestinal bacteria is 1–2g, therefore daily consumption of 25g lupine flour is sufficient to achieve a prebiotic effect.