

DETERMINATION OF FLAVONOIDS CONTENT IN COLOURED PEAS (*PISUM SATIVUM* L.) IN RELATION TO CULTIVAR'S DEPENDENCE AND STORAGE DURATION UNDER NATURAL CONDITIONS

Mária Timoracká, Alena Vollmannová

## ABSTRACT

Our attention is being given especially to four representative flavonoids: kaempferol, apigenin, genistein and daidzein. These flavonoids were studied in the seeds of colored varieties of dry pea. Isocratic HPLC analysis with DAD detection after acid hydrolysis of samples was performed. The differences of flavonoid contents in individual pea varieties were not significant. The determined values of flavonoids in green peas were: daidzein 1,746-2,688 mg.kg<sup>-1</sup>, genistein 0,412-0,706 mg.kg<sup>-1</sup>, kaempferol 0,621-1,484 mg.kg<sup>-1</sup>, apigenin 0,261-0,479 mg.kg<sup>-1</sup>. Yellow varieties of pea contained between 0,375-0,779 mg.kg<sup>-1</sup> daidzein, 0,115-0,158 mg.kg<sup>-1</sup> genistein, kaempferol 0,742-1,314 mg.kg<sup>-1</sup>, apigenin 0,462-0,698 mg.kg<sup>-1</sup>. Also the changes in content of chosen flavonoids in pea in the dependence on variety in dried legumes stored under natural conditions were surveyed. From the results it came out that in interval 7 month the content of all observed flavonoids declined in dry material (in some cases even to non-detectable levels).

**Keywords:** yellow and green pea, flavonoid, storage

## ÚVOD

Prírodné antioxidanty prítomné v potravinách vyvolávajú značný záujem verejnosti kvôli svojim potenciálnym nutričným a terapeutickým účinkom. Polyfenolické zlúčeniny, zvlášť flavonoidy, sú účinnými antioxidantmi vďaka svojej schopnosti zachytávať voľné radikály a reaktívne formy kyslíka (Lachman et al., 2005). Napriek tomu, že flavonoidy vo všeobecnosti nie sú považované za látky s nutričnou hodnotou, záujem o ne vzrastá pre ich priaznivé účinky na ľudské zdravie (Magálová, 1999). Flavonoidy sú významnou súčasťou antioxidantného systému, zabráňujú peroxidácii lipidov, pôsobia protizápalovo, antioxidantne, antimikrobiálne, antimutagénne.

Problematika výskytu a obsahu fenolických látok v rastlinnom materiáli je v súčasnom období riešená v prácach mnohých odborníkov a v tejto súvislosti sú výskumu podrobené aj strukoviny. Strukoviny všeobecne patria medzi najhodnotnejšie rastlinné potraviny s preukaznými pozitívnymi účinkami na zdravie človeka. Najfrekvencovanejšou jedlou strukovinou v strednej

## MATERIÁL A METÓDY

**Materiál:** V súbore semien hrachu siateho (*Pisum sativum* convar. *sativum* Alef.) dodanom Šľachtiteľskou stanicou Horná Streda sa stanovil a porovnával obsah fenolických látok medzi rôznofarebnými typmi hrachu, a to žltosemennými odrodami Jantar, Svit, Xantos a zelenosemennými odrodami Jadeit, Olivín a Achat. Strukoviny v plnej zrelosti boli jednotlivo balené v papierových obaloch a skladované oddelene na suchom, vetrateľnom mieste pri bežnej teplote bez prístupu priameho slnečného žiarenia.

**Chemikálie:** Pre HPLC analýzu boli zakúpené štandardy sledovaných flavonoidov najvyššej dostupnej čistoty – daidzein (98 %), genistein (99 %), kemferol (96 %) a apigenin (99 %) od firmy Fluka (Švajčiarsko). Metanol pre HPLC bol použitý od firmy Sigma Aldrich Chemical Corp. (USA). Základné štandardné roztoky boli pripravené

Európe je hrach, a preto sem sa zamerali na stanovenie obsahu vybraných predstaviteľov fenolických látok v tejto strukovine, ktorá je neoddeliteľnou súčasťou nášho jedálneho lístka v rôznych kulinárskych úpravách.

Troszynska et al. (2002) zisťovali fenolové zlúčeniny zodpovedné za antioxidantnú aktivitu hrachových semien. Použitím HPLC potvrdili prítomnosť glykozidov flavonolu (kemferolu) a flavonu (apigenín). Prítomnosť kemferolu bola zistená aj po kyslej hydrolyze semien iných typov strukovín bohatých na polyfenoly (Troszynska et al., 2006). Duenas et al. (2004) prezentovali prítomnosť glykozidov luteolínu, kvercetínu i apigenínu v osemeni odrôd hrachu. Kalogeropoulos et al. (2010) detegovali v semenách hrachu, okrem flavonolov, aj izoflavóny (genistein), ktorých bohatým zdrojom sú sójové bôby.

O fenolickej skladbe a obsahu fenolov v semenách hrachu je veľmi málo publikovaných prác. Z tohto dôvodu bola naša pozornosť zameraná na stanovenie obsahu štyroch vybraných predstaviteľov jednotlivých skupín flavonoidov, a to zo skupiny izoflavónov (daidzein, genistein), flavonolov (kemferol) a flavónov (apigenin) s koncentráciou 25 µg flavonoidu.cm<sup>-3</sup> metanolu (HPLC grade) a uchovávané v tme pri teplote 4 °C. Všetky roztoky boli pred HPLC analýzou prefiltrované cez 0,22 µm membránové filtre PTFE (Alltech, USA). Ostatné analytické skúmadlá použité pri experimentálnej práci boli p.a. čistoty.

**Metodika:** Flavonoidy – daidzein, genistein, kemferol a apigenin - boli stanovené ako aglykóny nami modifikovanou metódou podľa Wanga (1990). Flavonoidy boli stanovené pomocou prístroja pre HPLC (Agilent Technologies, U.S.A.) s použitím DAD detektora. Všetky vzorky extraktov boli prefiltrované cez 0,22 µm membránové filtre (Millipore, U.S.A.) a filtrát (20 µl) bol nastrekovaný na kolónu RP C18 (150x 3,9mm) s predkolónou s tou istou stacionárnou fázou. Bola použitá izokratická elúcia s mobilnou fázou metanol : 1mM octan amónny (6:4) pri prietoku 1 ml.min<sup>-1</sup>. Identifikácia a kvantifikácia flavonoidov bola založená na porovnávaní

retenčných časov UV spektier so spektrami komerčných štandardov.

Pri hodnotení výsledkov biologického materiálu bola použitá štatistická metóda analýzy variancií ANOVA

(štatistická jednofaktorová a dvojfaktorová analýza rozptylu). Na štatistické spracovanie údajov sa použil program EXCEL 2003 a STATGRAPHICS Vs. 5.0.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú uvedené obsahy sledovaných vybraných flavonoidov v súbore semien hrachu siateho získaných po zbere zo Šľachtiteľskej stanice Horná Streda.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že u všetkých odrôd hrachu boli hodnoty meraných flavonoidov na detekovateľnej úrovni.

**Table 1 Flavonoids content (mg.kg<sup>-1</sup>) in pea seeds in full ripeness**

Odroda	Obsah daidzeínu	Obsah genisteínu	Obsah kemferolu	Obsah apigenínu
Jadeit	1,9460	0,4954	1,4840	0,4799
Achat	2,6889	0,4125	0,9052	0,2614
Olivín	1,7464	0,7067	0,6215	0,3738
<i>priemer</i>	<i>2,2176</i>	<i>0,454</i>	<i>0,9052</i>	<i>0,3717</i>
Jantar	0,3750	0,1159	1,3144	0,5596
Svit	0,3865	0,1589	0,742	0,4619
Xantos	0,7795	0,1510	1,1300	0,6988
<i>priemer</i>	<i>0,583</i>	<i>0,1314</i>	<i>1,3144</i>	<i>0,5734</i>
<i>celkový priemer</i>	<i>1,4003</i>	<i>0,2956</i>	<i>1,1098</i>	<i>0,4725</i>

Celkové priemerné obsahy sledovaných flavonoidov u odrôd hrachu klesajú v poradí daidzeín (1,4003 mg.kg<sup>-1</sup>) > kemferol (1,1098 mg.kg<sup>-1</sup>) > apigenín (0,4725 mg.kg<sup>-1</sup>) > genisteín (0,2956 mg.kg<sup>-1</sup>). V prípade zelenosemenných typov odrôd (Jadeit, Achat, Olivín) sú majoritnými flavonoidmi daidzeín a kemferol, pričom hodnoty obsahu daidzeínu niekoľkonásobne prevyšujú obsahy ostatných flavonoidov v celom súbore odrôd hrachu. Inverzný vzťah v prípade genisteínu a apigenínu môžeme pozorovať u odrôd zelenosemenných typov hrachov, zatiaľ čo u odrôd žltosemenných typov hrachov (Jantar, Svit, Xantos) sú to kemferol a daidzeín, kde priemerný obsah kemferolu (1,3144 mg.kg<sup>-1</sup>) je oveľa vyšší ako obsah daidzeínu (0,5830 mg.kg<sup>-1</sup>).

Testovaním hodnôt obsahu izoflavónov daidzeínu a genisteínu metódou variancií sa zistila štatistická preukaznosť (P < 0,01) medzi farebnými typmi hrachov v prospech zelenosemenných odrôd. Je potrebné poznamenať, že namerané hodnoty daidzeínu boli výrazne vyššie ako hodnoty genisteínu u oboch typov hrachov. V prípade zelenej odrody Achat obsah daidzeínu niekoľkonásobne prevýšil množstvo ostatných flavonoidov a obsahom 2,6889 mg.kg<sup>-1</sup> sa zároveň ukázal ako jej dominantná flavonoidná zlúčenina. Spomedzi žltosemenných odrôd dosiahla maximálnu hodnotu daidzeínu odroda Xantos. Obsah genisteínu bol medzi žltými odrodami pomerne vyrovnaný.

Najvyššie množstvo kemferolu v celom súbore vzoriek obsahovala zelenosemenná odroda Jadeit. Pomerne vysoký obsah kemferolu, a prekvapivo najvyšší medzi žltými odrodami, mala odroda Jantar, ktorá dosiahla najnižšie výsledky v obsahu izoflavónov i celkových polyfenolov a javila sa ako odroda chudobná na fenolické látky.

Z porovnania priemerných hodnôt obsahu kemferolu možno usudzovať, že žltosemenné odrody sú bohatšie na

uvedený flavonoid ako zelenosemenné odrody, ale porovnanie variabilných hodnôt jednotlivých odrôd poukazuje skôr na odrodovú závislosť. **Hempel a Bohm (1996)** potvrdili závislosť flavonolov od odrody pri testovaní farebných odrôd fazule, pričom rozdiely v obsahu flavonolov medzi žltou a zelenou fazuľou neboli preukazné. K opačnému záveru dospeli **Beninger et al. (1999)** analýzou troch odrôd suchej fazule s odlišným farebným osemením. Autori zistili porovnateľné množstvo kemferolu v svetlozelenej a hnedej odrode fazule, ale preukazne nižší obsah tohto flavonolu v žltej odrode. Ďalej môžeme konštatovať, že žltosemenné odrody obsahujú síce v priemere viac apigenínu ako zelenosemenné odrody, ale hodnota obsahu apigenínu žltej odrody Svit je porovnateľná s odrodou Jadeit s najvyšším obsahom apigenínu spomedzi zelených odrôd. Na základe vyhodnotenia analýzy variancií sa môže konštatovať, že s pravdepodobnosťou vyššou ako 99 % existuje štatisticky významný rozdiel v obsahu fenolických látok nezávisle od typu odrody hrachu.

Následne sa sledovali a vyhodnocovali zmeny v obsahu vybraných flavonoidov v závislosti od doby uskladnenia vzoriek hrachu v prirodzených podmienkach. Kvalita suchých semien strukovín sa z hľadiska obsahu flavonoidov priebežne kontrolovala v stanovených termínoch s prihliadnutím na praktické a časové zvládnutie metódy. Prvé meranie bolo uskutočnené po zbere strukoviny a následne sa vzorky hrachu odobrali s dvojmesačným odstupom (2 a 3. meranie) od naskladnenia a po priebežnom vyhodnotení sa v závere skladovania (4.-6. meranie) zvolili mesačné intervaly odberu vzoriek. Zmeny v hladine flavonoidov v hrachu siatom vo vzťahu k dobe skladovania prezentujú výsledky uvedené v tabuľke 2.

**Table 2 Changes in contents of selected flavonoids (mg.kg<sup>-1</sup>) of pea in relationship to storage duration**

Odroda	Analýza	Obsah daidzeínu	Obsah genisteínu	Obsah kemferolu	Obsah apigenínu
Jadeit	1. meranie	1,9458	0,4954	1,4840	0,4798
	2. meranie	0,3703	0,4068	1,0556	0,1260
	3. meranie	0,2659	0,0974	0,9531	nd.
	4. meranie	0,0761	0,0797	0,4373	nd.
	5. meranie	0,0593	0,0768	0,3109	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	0,1689	nd.
Achat	1. meranie	2,6888	0,4125	0,9052	0,2614
	2. meranie	0,2017	0,0598	0,6440	0,1895
	3. meranie	0,1861	nd.	0,5141	0,1037
	4. meranie	0,1061	nd.	0,5066	0,1013
	5. meranie	0,1026	nd.	0,4717	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	0,4597	nd.
Olivín	1. meranie	1,7463	0,7067	0,6215	0,3738
	2. meranie	0,2008	0,1727	0,5804	0,3366
	3. meranie	0,1403	0,0797	0,4593	0,3203
	4. meranie	0,1336	0,0738	0,4399	0,3136
	5. meranie	0,1274	nd.	0,4134	nd.
	6. meranie	0,0849	nd.	0,2650	nd.
Jantar	1. meranie	0,3750	0,1158	1,3140	0,5596
	2. meranie	0,2253	0,0738	1,1863	0,2524
	3. meranie	0,1796	0,0713	0,8666	0,2495
	4. meranie	0,0373	nd.	0,5830	0,1971
	5. meranie	nd.	nd.	0,3631	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	nd.	nd.
Svit	1. meranie	0,3865	0,1589	0,7420	0,4619
	2. meranie	0,3608	0,1432	0,5742	0,3590
	3. meranie	0,1398	0,1121	0,4602	0,3048
	4. meranie	0,1274	0,0147	0,3790	0,1683
	5. meranie	0,1191	nd.	0,3657	nd.
	6. meranie	0,1097	nd.	0,3000	nd.
Xantos	1. meranie	0,7792	0,1510	1,1300	0,6988
	2. meranie	0,2609	0,1378	1,0203	0,6558
	3. meranie	0,2394	0,0501	0,5353	0,5612
	4. meranie	0,2175	0,0290	0,5115	0,4112
	5. meranie	0,1468	nd.	0,3095	nd.
	6. meranie	0,1368	nd.	0,3021	nd.

nd. – pod hranicou detekcie

Z výsledkov z tabuľky 2 je evidentné, že vo všetkých odrodách hrachu v plnej zrelosti s narastajúcou dobou skladovania štatisticky významne ( $P < 0,01$ ) klesali hodnoty obsahu sledovaných flavonoidov. Signifikantný pokles hodnôt bol zistený v obsahu oboch izoflavónov v odrodách Jadeit, Achat a Olivín na začiatku skladovania. Počas 2 mesiacov skladovania klesla hodnota množstva genisteínu o 78,7 % a daidzeínu o 88,4 % oproti priemernej hodnote získanej pri naskladnení zelenosemenných odrôd hrachu. Rozdiely v obsahu daidzeínu i genisteínu v zelených odrodách zistené v nasledujúcich odberoch už neboli štatisticky významné. Jantar, aj po 7 mesiacoch skladovania strukoviny.

V prípade žltosemenných odrôd hrachu (Jantar, Svit, Xantos) dochádzalo síce k významnej, ale plynulej degradácii izoflavónov počas celého úseku skladovania. Najnižší úbytok daidzeínu bol pozorovaný v odrode Svit, napriek nízkej počiatkovej hodnote porovnateľnej s východiskovou hodnotou v odrode Jantar. V odrodách Jantar, Jadeit a Achat boli konečné hodnoty obsahu daidzeínu na nedetekovateľnej úrovni. Obsah genisteínu klesol pod medzu stanoviteľnosti po uplynutí 5 mesiacov (v priemere) od uskladnenia oboch typov hrachov.

Obsah kemferolu vo všetkých prípadoch hrachu siateho klesal pozvoľne a bol detegovaný, s výnimkou odrody

Štatistická významnosť poklesu kemferolu ( $P < 0,01$ ) bola zaznamenaná počas celého úseku skladovania u oboch typov hrachov. Na základe percentuálneho vyjadrenia konečných hodnôt kemferolu voči počiatočným hodnotám možno zostaviť nasledovné poradie odrôd hrachu: Achat (50,7 %) > Olivín (42,6 %) > Svit (40,4 %) > Xantos (26,7 %) > Jadeit (11,3 %) > Jantar (nd.).

Nasledujúcim hodnoteným flavonoidom bol apigenín. S narastajúcou dobou skladovania obsah apigenínu pozvoľne klesal, pričom rozdiely zistené v jeho obsahu medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek počas skladovania boli väčšinou štatisticky významné. Zaujímavý je náhly výrazný pokles apigenínu pod hranicu stanoviteľnosti zaznamenaný v 5. odbere (meraní) vo všetkých odrodách hrachu.

Z výsledkov stanovenia obsahu flavonoidov v 1. meraní vo vzorkách hrachu možno stanoviť nasledovné poradie:

*daidzeín*: Achat > Jadeit > Olivín > Xantos > Svit > Jantar

*genisteín*: Olivín > Jadeit > Achat > Svit > Xantos > Jantar

*kemferol*: Jadeit > Jantar > Xantos > Achat > Svit > Olivín

*apigenín*: Xantos > Jantar > Jadeit > Svit > Olivín > Achat

Z výsledkov stanovenia obsahu flavonoidov v 6. meraní vo vzorkách hrachu možno stanoviť nasledovné poradie:

*daidzeín*: Xantos > Svit > Olivín > Jadeit ≈ Achat ≈ Jantar

*genisteín*: Jadeit ≈ Achat ≈ Olivín ≈ Jantar ≈ Svit ≈ Xantos

*kemferol*: Achat > Xantos ≈ Svit > Olivín > Jadeit > Jantar

*apigenín*: Jadeit ≈ Achat ≈ Olivín ≈ Jantar ≈ Svit ≈ Xantos

Zelenosemenná odroda Jadeit sa javila ako odroda s najoptimálnejším zastúpením všetkých sledovaných flavonoidov, a aj obsah celkových polyfenolov ju favorizoval pre použitie v praxi. Z porovnania hodnôt však vyplýva, že skladovaním si zelenosemenné odrody Jadeit a Achat zachovali iba kemferol, v odrode Olivín aj daidzeín, zatiaľ čo žltosemenné odrody Xantos a Svit mali priemerný obsah kemferolu a relatívne najvyšší obsah

## ZÁVER

Hodnoteným objektom výskumu boli odrody hrachu siateho v plnej zrelosti. Môžeme konštatovať, že zelenosemenné odrody hrachu majú vyšší obsah flavonoidov ako žltosemenné odrody hrachu. Medzi oboma typmi hrachov však existujú niektoré významné rozdiely, napr. v obsahu daidzeínu, ktorý sa vyskytuje vo významne vyšších koncentráciách v zelenosemenných odrodách ako žltosemenných odrodách. Naopak, koncentrácia kemferolu, ako dominantného flavonoidu slovenských strukovín, bola vyššia u analyzovaných žltých odrôd hrachu. Zo stanovenej sumy obsahu flavonoidov vyplýva, že najbohatšími zdrojmi boli odrody Jadeit spomedzi zelených a odroda Xantos spomedzi žltých hrachov. Kvalita semien hrachu siateho bola sledovaná aj vo vzťahu k dobe skladovania strukovín v prirodzených podmienkach. Najradikálnejší pokles hodnôt bol zaznamenaný v prípade genisteínu a apigenínu, ktorých obsahy neboli detegované už po 5 mesiacoch skladovania. Genetická príbuznosť (polohové izoméry) oboch flavonoidov by mohla byť vysvetlením analogického správania sa genisteínu a apigenínu, a to nielen v tvorbe nižšieho množstva v semenách hrachov, ale aj ich významnej degradácii. Všeobecne stanovený

daidzeínu. Napriek nedetekovateľným hodnotám obsahu genisteínu a apigenínu možno aj tieto odrody považovať na základe získaných konečných výsledkov za priaznivé z hľadiska obsahu sledovaných flavonoidov.

Výsledky v tabuľke 2 jednoznačne dokumentujú výrazný pokles obsahu flavonoidov v hrachu, čo koreluje so závermi **Bilbao et al. (2000)**, ktorí skúmali vplyv skladovania na obsah polyfenolov vo viacerých druhoch strukovín. Všeobecne možno konštatovať, že po 7 mesiacoch uchovávaní strukovín v prirodzených podmienkach bola v oboch typoch hrachu tendencia zachovania obsahu kemferolu a v menšej miere i daidzeínu. V prípade žltých odrôd bol zaznamenaný pozvoľný úbytok daidzeínu, a to i napriek nízkym východiskovým hodnotám, v porovnaní so zelenosemennými odrodami. Najvýraznejšie zmenám v hrachu podliehajú genisteín a jeho polohový izomér apigenín. Vo viacerých prípadoch hodnoty genisteínu a apigenínu dosiahli hranicu detekcie už po 5 mesiacoch skladovania. Najradikálnejší pokles hodnôt v odrodách hrachu bol však spozorovaný v prípade obsahu apigenínu v odrode Jadeit a obsahu genisteínu odrody Achat, ktoré už po 4 mesiacoch skladovania klesli pod hranicu detekcie. Tvorba oboch spomínaných flavonoidov prebieha rovnakou genetickou dráhou, a práve príbuznosť oboch látok by mohla byť vysvetlením ich analogického správania, a to nielen v produkcii nižšieho množstva v semenách hrachov, ale aj významnej degradácii ( $P < 0,01$ ) oboch fenolov medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek. Uvedené skutočnosti poukazujú na to, že počas celého úseku skladovania dochádzalo k postupnému narušaniu štruktúry flavonoidov enýmami polyfenoloxidázou a peroxidázou, čo viedlo následne k poklesu ich obsahu v hodnotených strukovínach.

vyšší obsah kemferolu vo všetkých odrodách hrachu siateho klesal pozvoľne a bol detegovaný aj po 7 mesiacoch skladovania strukoviny. Významná tendencia poklesu obsahu flavonoidov medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek poukazuje na to, že počas celého úseku skladovania dochádzalo k postupnému narušaniu štruktúry flavonoidov enýmami polyfenoloxidázou a peroxidázou.

Prezentované výsledky dopĺňajú súčasné poznatky o obsahu bioaktívnych látok vo vybraných slovenských odrodách a druhoch strukovín, ako aj o ich zmene vo vzťahu k dobe skladovania. Ak by sa za jeden z určujúcich dôvodov konzumácie strukovín v našich podmienkach bral obsah sledovaných flavonoidov, tak uvedené poznatky z tohto pohľadu naznačujú, že je najvhodnejšie konzumovať strukoviny v krátkom čase po ich zbere. Pomerne vysoké koncentrácie kemferolu a daidzeínu stanovené aj po dlhšej dobe skladovania súčasne poukazujú na vhodnosť využívania sóje v našom jedálnom lístku pre deklarovaný priaznivý vplyv flavonoidov na zdravie človeka počas celého roka. Častejšie zastúpenie strukovín vo výžive by znamenalo nielen racionálne využitie zdroja hodnotných bielkovín a komplexné krytie potreby nevyhnutných živín, ale aj zabezpečenie nezanedbateľného príjmu polyfenolických látok potravou, čo môže byť jednou z ciest prevencie moderných civilizačných ochorení našej populácie.

**LITERATÚRA**

- BENINGER, C. W., HOSFIELD, G. L., BASSETT, M. J. 1999. Flavonoid composition of three genotypes of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) differing in seedcoat color. In *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 124, 1999, no. 5, p. 514-518.
- BILBAO, T., HAMPE, S., SMITH, R. A., PUERTA, F., LEDESMA, L. 2000. Presence of natural antinutrients and toxins red beans and pea during storage at ambient. In *Alimentaria*, 314, 2000, p. 147-150.
- DUENAS, M., ESTRELLA, I., HERNANDEZ, T. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). In *European Food Research and Technology*, vol. 219, 2004, no. 2, p. 116-123.
- HEMPEL, J., BOHM, H. 1996. Quality and quantity of prevailing flavonoid glycosides of yellow and green French bean. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, 1996, no. 8, p. 2114-2116.
- KALOGEROPOULOS, N., CHIOU, A., IOANNOU, M., HASSAPIDOU, M., KARATHANOS, V.T., ADRIKOPOULOS, N.K. 2010. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. In *Food Chemistry*, vol. 121, 2010, p. 682-690.
- LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M. 2005. Červeně a modře zbarvené brambory. Významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. In *Chemické listy*, vol. 99, 2005, no. 6, p. 474-482.
- MAGÁLOVÁ, T. 1999. Výživa a nádorové ochorenia ženského prsníka. In *Bratisl. Lek. Listy*, vol. 100, 1999, no. 9, p. 503-514.
- TROSZYNSKA, A., ESTRELLA, I., LOPEZAMORES, L., HERNANDEZ, T. 2002. Antioxidants activity of pea seed coat acetone extract. In *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*, vol. 35, 2002, no. 2, p. 154-158.
- TROSZYNSKA, A., AMAROWICZ, R., LAMPARSKI, G., WOLEJSZO, A., BARYLKO-PIKIELNA, N. 2006. Investigation of astringency of extracts obtained from selected tannins-rich legume seeds. In *Food Quality and Preference*, vol. 17, 2006, p. 31-35.
- WANG, G., MURPHY, P. 1990. A simplified HPLC methods for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. In *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1990, p. 185-190.

**Kontaktná adresa:**

Ing. Mária Timoracká, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovakia, e-mail: maria.timoracka@uniag.sk.

doc. RNDr. Alena Vollmannová, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovakia, e-mail: alena.vollmannova@uniag.sk.