

Rostlinné alkaloidy v potravinách

Kateřina Ševčíková

Bakalářská práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina ŠEVČÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T07124**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Rostlinné alkaloidy v potravinách.**

Zásady pro vypracování:

- 1. Chemická charakteristika alkaloidů.**
- 2. Pyrolizidinové alkaloidy, zdroje a výskyt v potravinách.**
- 3. Metody detekce a stanovení pyrolizidinových alkaloidů.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J.: Chemie potravin 3, 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 368s. ISBN 80-902391-5-3.

[2] Pyrolizidinové alkaloidy v potravinách. [online] 2009. [cit. 2009-09-06] Dostupné na: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/service.aspx?val=90973>.

[3] JAHODÁŘ, L., KLEČÁKOVÁ, J. Toxicita hvězdicovitých s přehlednutím k farmaceuticky významným druhům, Chem. Listy. 1999, 93, s. 320-326.

[4] BETTERIDGE K. a kol. Improved Method for Extraction and LC-MS Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids and Their N-Oxides in Honey. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005, 53(6), s. 1894-1902.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Marta Severová

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2010

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2010

Ve Zlíně dne 15. dubna 2010

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.

děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.

ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ŠEVČÍKOVÁ KATEŘINA

Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 31.5.2010

Ševčíková

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Práce zahrnuje obecný přehled a rozdělení alkaloidů. Důraz byl kladen na pyrrolizidinové alkaloidy obsažené v rostlinných a živočišných produktech a jejich toxicitou pro člověka.

Klíčová slova:

Alkaloidy, Pyrrolizidinové alkaloidy, toxicita, rod Asteraceace

ABSTRACT

Work includes general survey plus indicative allocation alkaloids. Emphasis was laying on pyrrolizidine alkaloids included with vegetable plus animal product plus their toxicity for man.

Keywords:

Alkaloids, pyrrolizidine alkaloids, toxicity, stock Asteraceace

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Martě Severové za odborné rady a čas, který mě byl věnován při psaní a sestavování této bakalářské práce.

Motto

Největší chyba, kterou v životě můžete udělat, je mít pořád strach, že nějakou uděláte.

Elbert Hubbard

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ROZDĚLENÍ ALKALOIDŮ A JEJICH VYUŽITÍ	12
1.1 PYRIDINOVÉ ALKALOIDY	13
1.2 PIPERIDINOVÉ ALKALOIDY.....	14
1.3 CHINOLIZIDINOVÉ ALKALOIDY	15
1.4 CHINOLINOVÉ ALKALOIDY.....	17
1.5 PURINOVÉ ALKALOIDY	18
1.6 TROPANOVÉ ALKALOIDY	21
1.7 INDOLOVÉ ALKALOIDY	23
1.8 STEROIDNÍ GLYKOALKALOIDY.....	26
1.9 PYRROLIZIDINOVÉ ALKALOIDY	27
2 PYRROLIZIDINOVÉ ALKALOIDY A JEJICH TOXICITA	29
3 PYRROLIZIDINOVÉ ALKALOIDY V POTRAVINÁCH	31
3.1 ROSTLINNÉ ZDROJE PYRROLIZIDINOVÝCH ALKALOIDŮ	31
3.1.1 Třepatka nachová (<i>Echinacea purpurea</i>)	31
3.1.2 Podběl lékařský (<i>Tussilago farfara</i>).....	32
3.1.3 Starček přímětník (<i>Senecio jacobaea</i>).....	33
3.1.4 Kostival (<i>Symphytum officinale</i>)	34
3.2 ŽIVOČIŠNÉ ZDROJE PYRROLIZIDINOVÝCH ALKALOIDŮ	34
3.2.1 Med	35
3.2.2 Mléko	35
3.2.3 Maso a vejce.....	36
4 METODY DETEKCE A STANOVENÍ PYRROLIZIDINOVÝCH ALKALOIDŮ	37
ZÁVĚR	40
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	45
SEZNAM OBRÁZKŮ	46
SEZNAM TABULEK	47

ÚVOD

Alkaloidy jsou velmi početnou skupinou přírodních látek, obsažených ve vyšších rostlinách. Některé alkaloidy se považují za velmi toxické pro člověka a naopak některé mají velký význam v lékařství. Dochází stále k novým výzkumům a studiím nových ještě neobjevených druhů alkaloidů.

Důležitými alkaloidy jsou například chinolinové alkaloidy, mezi které patří chinin, který se využívá jako lék proti malárii. Významnou skupinou jsou také purinové alkaloidy, do nichž se řadí kofein a theobromin. Ty v malých dávkách stimulují centrální nervovou soustavu.

U řady alkaloidů nejsou jejich účinky na lidský organismus zcela prozkoumány. Příkladem je skupina indolových alkaloidů β -karboliny, které se vyskytují např. v kávě, nápojích, šťávách, džemech aj. potravinách.

V bakalářské práci je pozornost zaměřena na pyrrolizidinové alkaloidy, které patří mezi alkaloidy toxické pro člověka i hospodářská zvířata. Mají hepatotoxické účinky na játra. Tyto alkaloidy se nachází ve velkém počtu rostlin na celém světě. Mezi významné zdroje se řadí některé rostliny, které v minulých letech patřily mezi známé a používané léčivé rostliny. Příkladem je Podběl lékařský, Třepatka nachová či Kostival. Na základě nových poznatků bylo použití těchto rostlin silně omezeno či dokonce zakázáno. Nebezpečí spočívá i v požití rostlin obsahujících tyto alkaloidy v pastvě hospodářskými zvířaty. Pak se mohou objevit i v mléce, mase a vejcích. Častý je jejich výskyt rovněž v pylu a medu. Největší riziko pro člověka však představují odvary či výluhy z rostlin, jenž tyto alkaloidy obsahují.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ROZDĚLENÍ ALKALOIDŮ A JEJICH VYUŽITÍ

Za alkaloidy se považují dusíkaté bazické sloučeniny (tvořící soli s kyselinami), které vznikají jako sekundární metabolity a vykazují v závislosti na konzumovaném množství různé biologické účinky.

Alkaloidy jsou heterogenní skupinou zahrnující více než 5000 sloučenin. Vyskytují se nejčastěji jako směsi látek příbuzné struktury v různých částech vyšších rostlin (semenech, listech, kořenech, kůře, aj.). Je jim přisuzována důležitá role v evoluci rostlinných druhů. Některé se považují za produkty detoxikace, regulátory růstu a rezervní formy dusíku. Alkaloidy se nacházejí také u určitých druhů mechů, hub a bakterií.

Žádné hodnotící hledisko, které by dovolilo charakterizovat alkaloidy jako jednotnou skupinu přírodních látek neexistuje. Některé alkaloidy se rovněž řadí mezi rostlinná antibiotika (přírodní pesticidy), neboť jsou součástí obranných mechanismů rostlin proti tzv. elicitorům (virům, bakteriím, houbám) a predátorům (živočichům). Některé se řadí např. mezi přírodní toxické aminokyseliny (např. ibotenová kyselina a agaritin), biogenní aminy (např. histamin, hordenin nebo psilocin) a mezi přírodní barviva (betalainy či berberin).

Řada alkaloidů a příbuzných sloučenin vzniká během termického zpracování potravin ze základních živin. Např. z tryptofanu v Maillardově reakci vzniká řada indolových alkaloidů jako jsou β -karboliny a jeho deriváty (norharman, harman a vyšší homology), deriváty chinolinu, chinoxalinu a dalších biologicky aktivních dusíkatých heterocyklických sloučenin (IQ mutageny aj.).

Alkaloidy se běžně klasifikují na 3 hlavní základní skupiny:

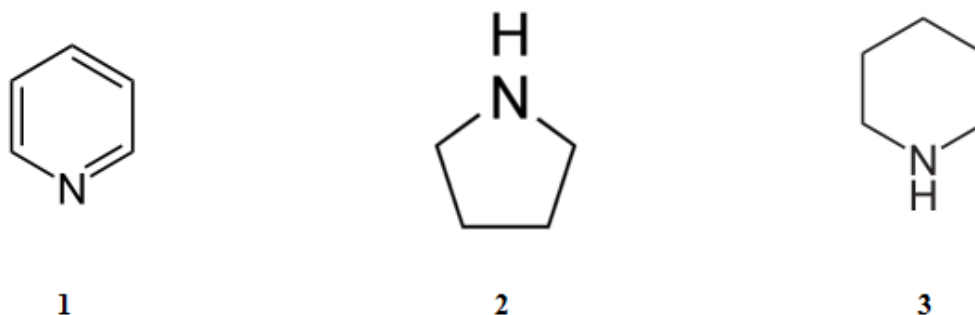
- pravé alkaloidy - jsou obvykle heterocyklickými dusíkatými bázemi odvozenými od aminokyselin, vykazují široké spektrum fyziologických účinků a jsou často velmi toxické pro člověka a jiné živočichy (např. nikotin v tabáku).
- pseudoalkaloidy - jsou také heterocyklickými dusíkatými bázemi, ale jejich prekurzory nejsou aminokyseliny, jsou obvykle méně toxické než pravé alkaloidy (např. kofein v kávě a solanin v bramborech).

- protoalkaloidy - jsou bazické aminy odvozené od aminokyselin, ale dusík není součástí aromatického systému (např. kapsaicin v pálivých paprikách).[1]

1.1 Pyridinové alkaloidy

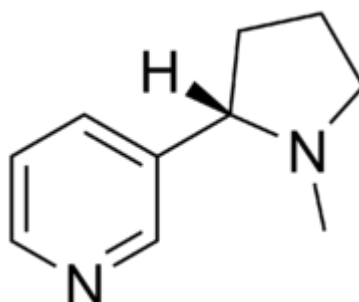
Mezi pyridinové alkaloidy patří ty, které obsahují v molekule pyridinový kruh (viz obr.1-1) (alkaloidy tabáku). Dále také obsahují pyrrolidinový (viz obr.1-2) a piperidinový kruh (viz obr.1- 3).

Obr. 1. Chemické vzorce pyridinu (1), pyrrolidinu (2) a piperidinu (3)



Nejvýznamnějším pyridinovým alkaloidem je alkaloid tabáku, který se vyskytuje v listech tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*). Hlavním alkaloidem je nikotin (viz obr. 2), jehož obsah závisí na druhu tabáku. V malých částech je nikotin přítomen i v jiných rostlinách např. v rajčatech a v bramborech. Celkový obsah alkaloidů v tabáku kolísá od 0,3 do 3% v sušině, v závislosti na druhu, odrůdě, části rostliny, klimatických a půdních podmínkách a na dalších faktorech.

Obr. 2. Chemický vzorec nikotinu



Při sušení a fermentování tabáku vzniká transmethylací nikotinu nornikotin a ten se částečně rozkládá na nikotinovou kyselinu. Při hoření tabáku se nikotin částečně oxiduje na kotonin a oxynikotin, který se za vyšších teplot rychle rozkládá. Pyrolýzou nikotinu vzniká také kyanovodík. Nikotin se z tabákových výrobků vstřebává organismem především z tabákového kouře. [1,2]

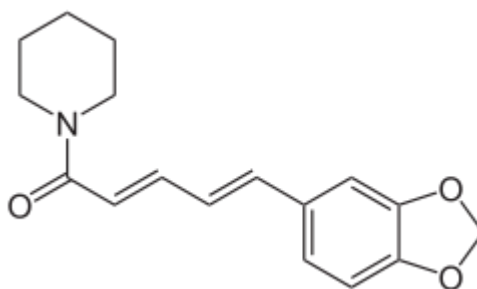
Nejvýznamnější rizika užívání nikotinu jsou spojena s poškozením dýchacích cest a plic. Jedná se zejména o recidivující záněty horních cest dýchacích a zhoubné nádory, především plic. V srdečně-cévním systému se hlavní příznaky postižení objevují na srdečních artériích a na cévách dolních končetin jako infarkty myokardu a neschopnost zajistit zásobení dolních končetin krví při chůzi. Smrtelná dávka čistého nikotinu je cca 60 mg.

Nikotin se také používá jako jed na mšice. Zkoumán je i možný pozitivní vliv nikotinu při léčení Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby a dalších nemocí. [3]

1.2 Piperidinové alkaloidy

Nejvýznamnějšími alkaloidy odvozenými od piperidinu jsou alkaloidy pepře (*Piper nigrum*) (viz obr. 3). Mezi další látky, které pepř obsahuje, se řadí silice α - a β - pinen, felandren, limonen a další.

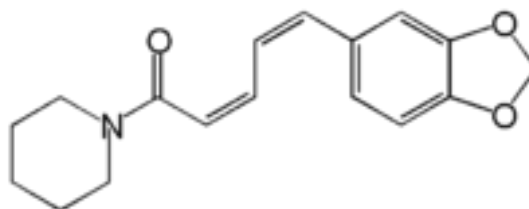
Obr. 3. Chemický vzorec piperinu



Nejvyšší hladina piperinu v plodech pepře bývá těsně před plnou zralostí. Zelený pepř vyráběný z nezralých plodů obsahuje značné množství piperinu. Bílý pepř se vyrábí ze zralých plodů, které se předem loupou. Vzhledem k tomu, že piperin je obsažen především v endospermu, je jeho množství v bílém pepři vysoké. Obsah alkaloidů se také liší podle původu.

Ostrou chuť pepři dodávají alkaloidy chavicin (viz obr. 4) a piperin, které jsou přítomny v množství až 10 % v nezralých plodech pepře.

Obr. 4. Chemický vzorec chavicinu



Piperin působí jako stimulant centrální nervové soustavy a vykazuje slabé antipyretické a mutagenní účinky. Při vyšších koncentracích poškozuje tkáň jazyka, snižuje krevní tlak a rychlost dýchání. [1,2]

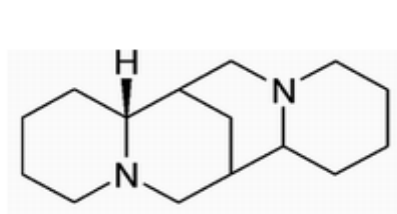
Používá se v likérnictví a potravinářství, ve spojitosti s pyrethrem jako insekticid. [4]

Nyní se vede výzkum o sledování účinku piperinu na prostorovou paměť a neurodegeneraci v různých oblastech hippocampu (proužek tkáně v mozkové komoře) u Alzheimerovy choroby. Základní mechanismus účinku je částečně spojen se vzrůstem hustoty nervových buněk a inhibice enzymové aktivity acetylcholinesterázy v hippocampu.[5]

1.3 Chinolizidinové alkaloidy

Chemicky jsou to deriváty norlupinanu. V rostlinné říši se vyskytují značně rozptýleny. Toxikologicky jsou velmi významné alkaloidy cytisin, spartein (viz obr. 5), lupanin a jim podobné, nacházející se v čeledi bobovitých (*Fabaceae*). [6]

Obr. 5. Chemický vzorec sparteinu

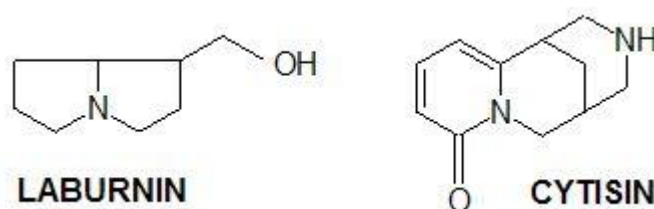


Nejznámější chinolizidinový alkaloid je cytisin (viz obr. 6), který se vyskytuje v částech štědrince zlatého deště (*Laburnum anagyroides L.*) ale i v dalších bobovitých rostlinách. Za toxicitu štědrince je zodpovědný zejména cytisin. Cytisin je toxický především pro do-

mácí hospodářská zvířata, jako jsou kozy a ovce. Jeho akutní toxicita je poměrně vysoká ($LD_{50} = 0,5 \text{ mg/kg}$). Je selektivním antagonistou nikotinových receptorů, což je důvod, proč byl a někde je ještě využíván při odvykacích kúrách u kuřáků.

Dalším alkaloidem je Laburnin (viz obr. 6) o jehož toxikologických vlastnostech je toho známo jen málo. [7]

Obr. 6. Chemický vzorec cytisinu a laburninu

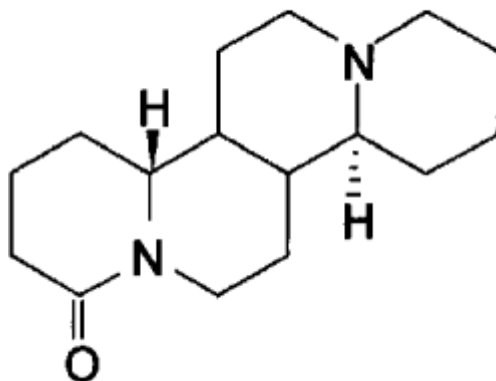


Také alkaloid lupanin (viz obr. 7) je velmi významný. Lupanin je alkaloid s baktericidními a herbicidními účinky. Vyskytuje se ve Vličím bobu mnoholistém a je velmi jedovatý. Otrava se projevuje špatnou pohyblivostí končetin, křečemi a může dojít až k úhynu dobytka. [8]

Lupina je vytrvalá, dvouděložná rostlina patřící do čeledi bobovitých (motýlokvěťých). V Austrálii se lupina pěstuje jako rostlina likvidující choroby v rámci systému střídání plodin a jako zdroj dusíku pro plodiny. Programy intenzivního šlechtění zaručují, že moderní odrůdy lupiny mají relativně nízkou hladinu alkaloidů, které jsou ve značném množství přítomny v původních genotypech.

Lupinové alkaloidy silně poškozují jaterní tkáň a způsobují nekrosu.[9]

Obr. 7. Chemický vzorec lupaninu

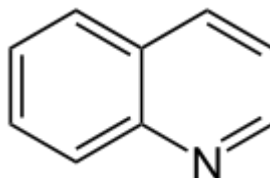


Jednotlivé alkaloidy vykazují různou toxicitu. Nejtoxičtější je lupanin a spartein. Požití 11-25 mg lupinových alkaloidů na 1 kg tělesné hmotnosti způsobuje vážné zdravotní poruchy, které se projevují nervozitou, zvracením, dýchacími potížemi, poruchami vidění, pocením, postupující slabostí a v krajním případě mohou končit komatem.[1]

1.4 Chinolinové alkaloidy

Nejdůležitější alkaloidy chinolinového typu jsou obsaženy v kůře kořenů, větví a kmenů chinovníku červeného (*Cinchona succirubra*). Chinolinové alkaloidy jsou odvozené od základního skeletu rubanu (viz obr. 8).

Obr. 8. Chemický vzorec rubanu

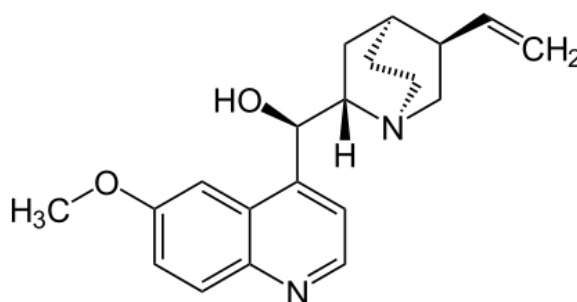


Hlavními alkaloidy chinovníkové kůry jsou chinin, chinidin, cinchonin a cinchonidin.

Chinin (viz obr. 9) je alkaloid využívaný jako základní antimalarikum (lék proti malárii) nebo se používá také jako analgetikum, protože tlumí centrum bolesti. V dnešní době se chinin používá v potravinářství na přípravu chininových nápojů jako např. tonice. Přidává se také do opalovacích olejů, šampónů a insekticidů.

Smrtelná dávka chininu je 8 až 10 gramů.[10]

Obr. 9. Chemický vzorec chininu

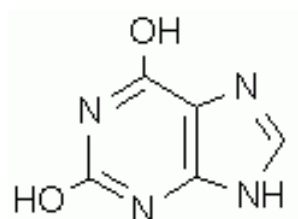


Cinchonin se nachází v kůrách chinovníků vedle ostatních alkaloidů. Většinou se jedná o vedlejší produkt při přípravě chininu. Jako lék má nižší cenu než chinin a liší se různou rozpustností v tekutinách.[11]

1.5 Purinové alkaloidy

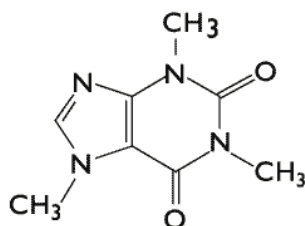
Purinové alkaloidy odvozené od xanthinu (viz obr. 10) jsou nejrozšířenějšími v potravinách.

Obr. 10. Chemický vzorec xanthinu



Nejrozšířenějším alkaloidem je kofein (viz obr. 11), který je doprovázen theobrominem, theofyllinem, paraxanthinem, heteroxanthinem a methylmočovými kyselinami.

Obr. 11. Chemický vzorec kofeinu



Kofein je triviální název nejrozšířenějšího purinového alkaloidu 1,3,5-trimethylxanthinu. Je obsažen zejména v kávových zrnech, čajových listech a kakaových bobech. V malých dávkách působí jako stimulant centrálního nervového systému a působí jako lehké diuretikum (odvodňuje organismus). Působením přítomných polyfenolů se kofein z kávy vstřebává rychleji než kofein z čaje. Účinek kofeinu z čaje nastupuje sice pomaleji, ale déle trvá. Návykovost kofeinu nebyla prokázána, rovněž se nepotvrdilo, že by kofein zvyšoval pravděpodobnost vzniku rakoviny a osteoporózy.

Kofein nezvyšuje hladinu cholesterolu v krvi ani riziko chorob srdce a cév, jisté opatrnosti je při pití kávy či jiných kofeinových nápojů zapotřebí u osob s vysokým krevním tlakem. Lidem s nízkými hodnotami naopak pomáhá tlak zvyšovat. U některých dětí může kofein navozovat stavy podrážděnosti a úzkosti. Průměrný obsah kofeinu (viz tabulka 1.) v jednom šálku čaje je 6–16 mg. V kávě je na 100 ml průměrně obsaženo 29–91 mg kofeinu. V nealkoholických kolových nápojích se obsah kofeinu pohybuje v rozmezí od 50 do 250 mg na litr nápoje. Přídavek kofeinu do nápojů je regulován vyhláškou 447/2004 Sb. o požadavcích na látky určené k aromatizaci potravin. [12]

Theobromin je hořký alkaloid kakaovníku. Je obsažen v čokoládě, ale i v řadě nečokoládových potravin vyrobených ze zdrojů theobrominu, např. listů čajovníku, koly (kola ořechu) a plodů palmy acai. Název theobromin je odvozen od slova Theobroma, což je rodový název kakaovníku. Má podobné, ale nižší účinky než kofein.

Theobromin byl prvně objeven v roce 1841 v kakaových bobech a prvně byl izolován z kakaových bobů v roce 1878. Po svém objevení se theobromin využíval k některým terapeutickým účelům, např. při edémech, syfilis, poruchách oběhového aparátu (ateroskleróze, některých cévních chorobách, angině pectoris, hypertenzi). V moderní medicíně se theobromin používá jako vazodilatátor (k rozšíření cév), diuretikum a prostředek na povzbuzení srdce. Použití theobrominu v oblasti prevence rakoviny bylo patentováno.

Pokusy na zvířatech ukázaly, že theobromin má vliv na snížení hmotnosti plodu. Vzhledem k mírné akutní toxicitě theobrominu pro řadu živočišných druhů, legislativa EU stanovuje maximální obsah theobrominu v krmném materiálu. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) se zabýval bezpečností theobrominu obsaženého v živočišných krmivech a vydal stanovisko EFSA k riziku z theobrominu obsaženého v živočišných produktech ze zvířat dostávajících krmiva s obsahem theobrominu. EFSA došel k závěru, že příjem theobrominu z živočišných produktů, např. masa, mléka a vajec je ve srovnání s přímou spotřebou kakaových výrobků zanedbatelný.[13]

Tabulka 1 Obsah kofeinu v nápojích a čokoládě [14]

Druh nápoje a čokolády	mg kofeinu ve 300ml
Espresso 30ml	40
Bezkofeinové espresso 30 ml	9
Cappuccino 180 ml	6,6
Caffé latte 270 ml	4,5
Překapávaná káva 200 ml	20
Černý čaj 200 ml	10
Zelený čaj 200 ml	7
Horká čokoláda 180 ml	1,5
Kofola 330 ml	4,5
Coca-Cola 330 ml	2,8
Coca-Cola Light 330 ml	3,75
Pepsi Cola 330 ml	3,16
Pepsi Light 330 ml	3
7Up 330 ml	0
Sprite 330 ml	0
Red Bull 250 ml	9,46
Mléčná čokoláda 100 g	5
Hořká čokoláda 100 g	25

Purinové alkaloidy obsahuje také nápoj maté – čaj z listů jihoamerického stromu cesmíny paraguayské (*Ilex paraguariensis* ST.HIL). Podle Jezuitského misionáře, který v roce 1710 popsal jeho účinky, se označuje jako jezuitský nebo misionářský čaj. Obvykle obsahuje 0,4-1,6 % kofeinu, 0,3-0,45 % theobrominu a stopové množství theofylinu.

Vzhledem ke stimulačnímu účinku kofeinu, theobrominu a kaffeoylchinových kyselin se maté konzumuje v Jižní Americe místo kávy nebo čaje. Extrakt maté se přidává do výrobků ke snižování hmotnosti a do výrobků na podporu fyzické a duševní regenerace.

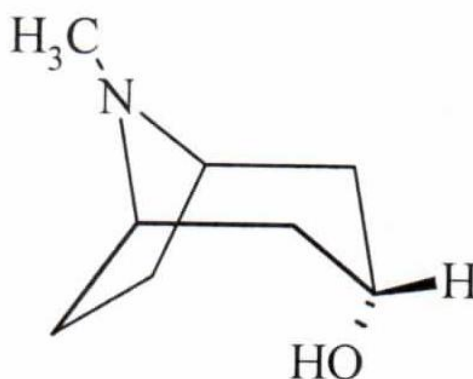
Z listů maté jsou také vyráběny různé preparáty např. extrakt maté vyrobený standardizovaným a patentovaným způsobem, který obsahuje 2,0-4,0% kofeinu a 0,3-1,2% theobrominu.[15]

1.6 Tropanové alkaloidy

Tropanové alkaloidy jsou estery tropinu (viz obr. 12), různých jeho derivátů a pseudotropinu s karboxylovými kyselinami. Patří do čeledi lilkovitých (*Solanaceae*).

Jsou označovány jako prudké jedy nebo drogy.

Obr. 12. Chemický vzorec tropinu



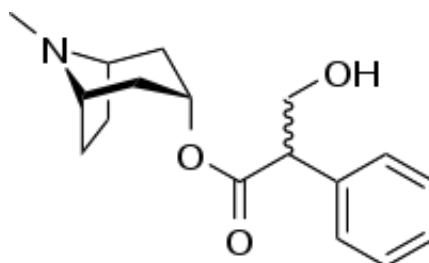
Nejdůležitější alkaloidy čeledi *Solanaceae* jsou L-hyoscyamin, atropin, apoatropin, belladonin a skopolamin, které spolu vzájemně souvisí.[2]

Atropin (viz obr. 13) je racemická směs D,L-hyoscyaminu a není opticky aktivní (tj. světlo se při průchodu atropinem nestáčí). Poprvé byl izolován roku 1833, absolutní konfigurace však byla vyřešena až v roce 1961. Atropin je ester tropinu a kyseliny D,L-tropové.

Atropin je obsažen v Rulíku zlomocném (*Atropa bella-donna*) a má využití v očním lékařství, protože rozšiřuje zornice. Působí také protikřečově na hladké svalstvo a vyvolává útlum žláзовé sekrece.

Toxická dávka pro člověka je 70 – 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Jako minimální smrtná dávka se udává 100 mg. [16]

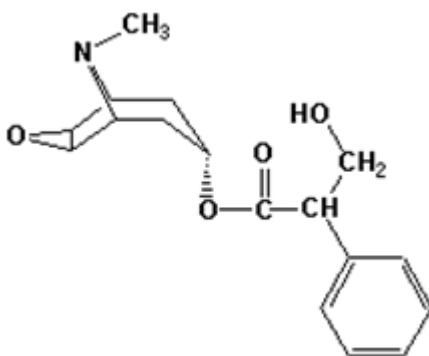
Obr. 13. Chemický vzorec atropinu



Alkaloid skopolamin (viz obr. 14) je obsažen v Blínu černém (*Hyoscyamus niger*), rozšiřuje zornice a omezuje sekreci slinných, žaludečních a potních žláz. Blín je prudce jedovatý.

Pro velkou jedovatost může drogu nebo léky předepsat a doporučit pouze lékař. Blín je možné použít jako parasymptolytikum, spasmolytikum a antiastmatikum, při zvýšené sekreci žaludečních šťáv a vředové chorobě žaludku. Lze jej použít také proti třesu jako následku Parkinsonovy nemoci.[17]

Obr. 14. Chemický vzorec skopolaminu



Durman obecný (*Datura stramonium*) je rostlina obsahující řadu tropanových alkaloidů, anisodin, atropin, belladonin, atd. Otravy jsou způsobeny zejména atropinem, a to převážně u dětí, které se nechaly zlákat zajímavými plody. Otrava se projevuje pocitem suchosti v ústech, rozšířenými zorničkami, zmateností, neklidem, halucinacemi, kůže v obličeji rudne, zrychluje se puls, otrávený bez příčiny křičí a bývá agresivní. Poté přichází stádium ochablosti, krevní tlak je nízký, dýchání povrchní, končetiny studené, smrt nastává v komatu. Při požití je nezbytné okamžitě přivolat lékařskou pomoc a ještě před jejím příjezdem vyvolat zvracení. Sušená droga se užívá jako antiastmatikum (tzv. astmatické cigarety), proti kře-

čím při kašli, napomáhá vykašlávání. Vzhledem k velké jedovatosti Durmanu (viz obr. 15) se nedoporučuje užívat drogu bez lékařského dozoru. [18]

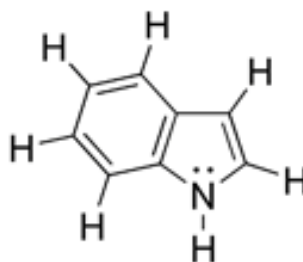
Obr. 15. Durman obecný



1.7 Indolové alkaloidy

Jedná se o deriváty indolu (viz obr. 16), jehož biosyntéza vychází z metabolismu aminokyseliny tryptofanu.

Obr. 16. Chemický vzorec indolu



Indol může být zabudován buď v jednoduchých molekulách, jakou má gramin, psilocin, psilocybin anebo v složitějších strukturách "komplexních alkaloidů" typu aspidosperminu, korynanteinu či ibogainu. Ještě složitější strukturu vykazují deriváty lysergové kyseliny - námelové alkaloidy (ergometrin, ergotamin, ergokristin apod.). S většinou vyšších rostlin, které tyto alkaloidy obsahují, se nesetkáváme. Z našich přírodních zdrojů je obsahuje hlav-

ně houba Paličkovice nachová (*Claviceps purpurea*). Indolové alkaloidy představují velmi rozsáhlou a terapeuticky dobře využitelnou skupinu sekundárních metabolitů a tak intoxikace u nás hrozí spíše po nesprávném dávkování léčiv s jejich obsahem. [6]

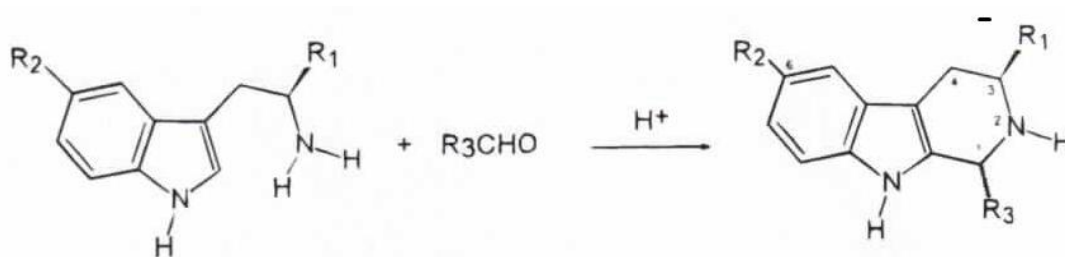
Mezi indolové alkaloidy také patří přirozeně se vyskytující β -karboliny, které mají farmakologické nebo psychofarmakologické účinky. Je o nich známo, že ovlivňují četné systémy pro přenos nervového podnětu.

V tkáních a tekutinách savců byly zjištěny dva β -karbolinové heterocyklické alkaloidy s biologickou aktivitou, norharman a harman. Při pokusech na zvířatech se zjistilo, že se vážou k různým místům v játrech a mozku a mají fyziologické účinky i účinky na chování. Harman silně inhibuje monoaminoxidázu (MAO) a mění hladinu neurotransmiterů, zatímco norharman má pravděpodobně vliv na chování a je to přirozené sedativum. Norharman a harman se intenzivně studovaly v souvislosti s alkoholismem. Byly rovněž objeveny v cigaretovém kouři.[19]

β -karboliny mají také halucinogenní efekt, který byl dokázán řadou testů.[20]

K β -karbolinům jsou také řazeny tetrahydro- β -karboliny označovány jako potencionálně neuroaktivní alkaloidy. Je o nich známo, že ovlivňují četné systémy pro přenos nervového podnětu. Byly nalezeny v čokoládě a kakau. Vznikají Pietet-Spenglerovou kondenzací mezi indolaminy a aldehydy (viz obr. 17).[21]

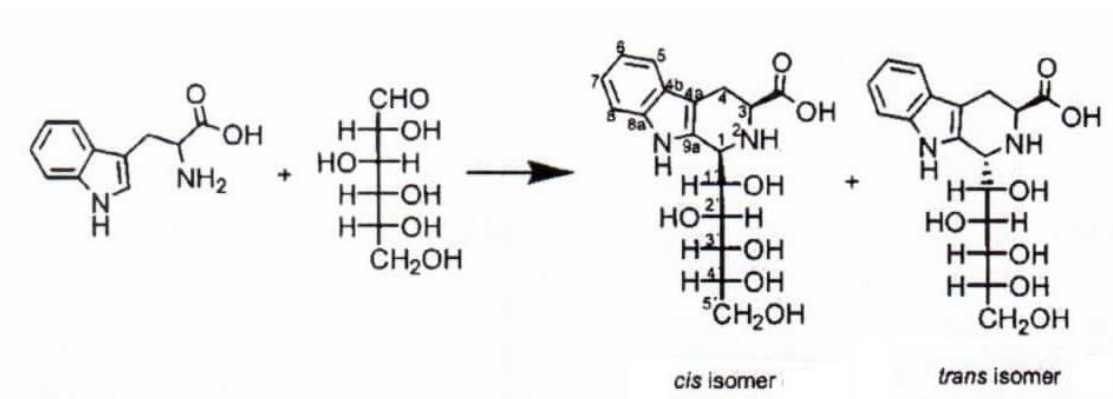
Obr. 17. Pietet-Spenglerova kondenzace indolaminu a aldehydu[21]



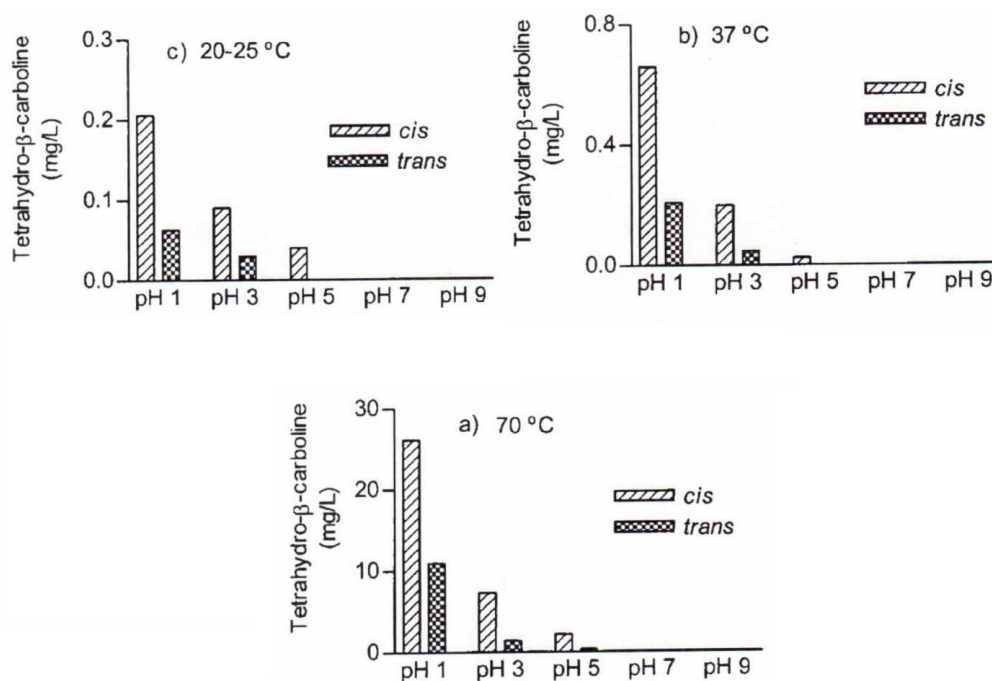
V ovocných džusech, rajčatové šťávě a džemech byl identifikován výskyt nového typu alkaloidu z řady β -karbolinů 1-pentahydroxypentyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin-3-karboxylová kyselina.

Vzniká taktéž Pietet-Spenglerovou kondenzací L-tryptofanu a D-glukosy ve dvou isomelech s cis a trans konfigurací (viz obr. 18).

Obr. 18. Pietet-Spenglerova kondenzace L-tryptofanu a D-glukosy.[22]



Vznik 1-pentahydroxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin-3-karboxylové kyseliny je ovlivněn hodnotou pH a teplotou což znázorňuje obrázek č. 19. Tvorba vzrůstá při nízkém pH a vyšší teplotě.

Obr. 19. Tvorba 1-pentahydroxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin-3-karboxylové kyseliny v závislosti na pH a teplotě. [22]

Ve vinném, rajčatovém a ananasovém džuse bylo nalezeno vyšší množství tohoto alkaloidu (3,8 mg/l) naproti tomu v jablečném, banánovém a broskvovém džusu se ukázalo velmi nízké až nedetekovatelné množství. V džemech bylo 0,45 $\mu\text{g/g}$ a relativně velké množství bylo přítomno v rajčatovém koncentrátu (6,5 $\mu\text{g/g}$) a šťávě (1,8 $\mu\text{g/g}$). [22]

Zázračnou bylinou, která se v poslední době stala předmětem výzkumu mnoha světových lékařských kapacit je Vilca cora neboli peruánská liána *Uncaria tomentosa*. Je známá po celém světě jako Cat's Claw (kočičí dráp). Šamani indiánských kmenů používali tuto rostlinu k léčení zánětlivých onemocnění a onemocnění souvisejících s látkovou výměnou. Uvádí se, že *Uncaria tomentosa* je rostlina světového významu, která má sílu zastavit a zvrátit hluboké patologické změny a značně urychlit návrat ke zdraví. Šíře léčivých účinků je velmi široká od protizánětlivých až po protimutagenní (protirakovinné). Závěry klinických studií potvrzují účinné využití při prevenci a léčbě akné, herpesu, alergií, astmatu, problémů gastrointestinálního traktu typu Crohnovy nemoci, žaludečních vředů, onemocnění střev, hemoroidů, napadení parazity, candidózy, diabetu, zánětu prostaty, artritidy, zánětu kloubního vřáčku, fibromyalgie, problémů menopauzálních i menstruačního cyklu, hypertenzi a problémů oběhového systému (zužování cév a trombóz) a rakovinných nádorů.

Nejdůležitější skupinu biologicky aktivních substancí zde tvoří alkaloidy. Ve Vilcacoře se nacházejí dvě skupiny alkaloidů, indolové a oxindolové. Cenné jsou i jiné látky např. polyfenoly, steroly, glykosidy kyseliny chinolinové, terpeny a jejich deriváty a jiné aktivní sloučeniny. Indolové alkaloidy jsou zde zastoupeny hirsutinem, hirsuteinem a dihydrocorynantheinem. Smrtelná dávka u Vilca cora je 16 g/kg. [23]

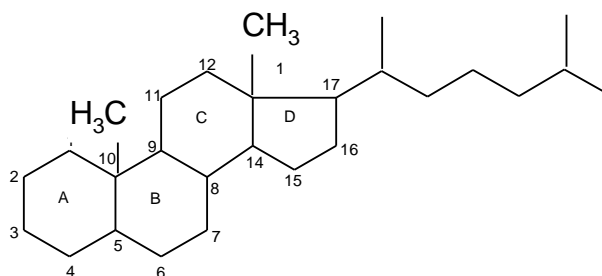
1.8 Steroidní glykoalkaloidy

Jedná se o dusíkaté steroidní glykoalkaloidy dvouděložných rostlin čeledi lilkovitých (*Solanaceae*), liliovitých (*Lilisceae*) a klejichovitých (*Asclepiadaceae*) mající základní skelet odvozený od cholestanu (viz obr. 20). Potravinářský význam mají pouze rostliny čeledi lilkovitých, a to lilek, rajče a brambory.

Solanaceae jsou charakterizovány po chemické stránce jednoznačně výskytem několika skupin alkaloidů, jejichž tvorba souvisí s určitými skupinami druhů této čeledi. Nejčastěji

se jedná o tropanové alkaloidy, které mají z toxikologického a terapeutického hlediska největší význam, dále pyridinové a steroidní glykoalkaloidy

Obr. 20. Chemický vzorec cholestanu



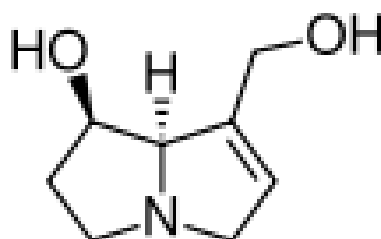
Brambor obecný (*Solanum tuberosum* L.) původem z Jižní Ameriky, se dnes pěstuje ve velkém počtu na celém světě. Vytrvalá bylina u nás jednoletá pěstovaná pro oddenkové hlízy. Jedovatá je celá nadzemní část včetně plodů. Podzemní části jsou nejedovaté, pokud nebyly vystaveny účinkům světla (zelená barva). Všechny části rostliny obsahují toxické steroidní glykoalkaloidy - solaniny.[24]

1.9 Pyrrolizidinové alkaloidy

Jsou odvozeny od pyrrolizidinu, tj. hexahydro-1*H*-pyrrolizidinu. Pyrrolizidinové alkaloidy bývají většinou estery dikarboxylových kyselin, příkladem jsou senecionin, nacházející se v některých rostlinách čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), zejména v rodě starček (*Senecio*). Většina těchto, tzv. necinových alkaloidů má hepatotoxické účinky.[25]

Mezi neciny patří např. supinidin, retronecin (viz obr. 21) a otonecin. Necinové báze jsou esterifikovány kyselinami, nejčastěji kyselinou angelovou. Pyrrolizidinové alkaloidy jsou velkou skupinou asi 25 alkaloidů produkovaných zhruba 6000 rostlinnými druhy, rozdělenými do 13 čeledí.

Obr. 21. Chemický vzorec retronecinu



Obsah alkaloidů v toxických rostlinách je různý, liší se v různých částech rostlin a závisí na různé řadě faktorů. Většina alkaloidů se vyluhuje při přípravě čajů do nálevu.

Většina rostlin, které obsahují pyrrolizidinové alkaloidy jsou pro člověka i domácí zvířata toxické. Jsou to karcinogeny a hepatotoxiny, to jsou látky, které poškozují játra. Po požití alkaloidů hospodářskými zvířaty se mohou objevit rezidua v mléce nebo jiných živočišných produktech, které však nejsou riziková. [1]

2 PYRROLIZIDINOVÉ ALKALOIDY A JEJICH TOXICITA

Pyrrrolizidinové alkaloidy byly nalezeny v několika rostlinných rodech Asteraceace (*Senecio*, *Eupatorium*, *Tussilago*, *Petasites atd.*). Byly nalezeny v kořenech, stoncích i květenstvích ve všech vývojových stupních. Řada druhů se vyskytuje v rostlinách, které jsou tradičními léčivými rostlinami. Pyrrrolizidinové alkaloidy jsou esterově vázanými alkaloidy tvořené bazickou necitovu složkou a kyselinou necinovou. Je třeba rozlišovat pyrrrolizidinové alkaloidy s nasycenou a nenasycenou kruhovou strukturou. Pro toxicitu je zapotřebí nenasycená kruhová struktura.

Jsou syntetizovány v kořenech ve formě N- oxidů a dále lýkovou částí cévních svazků transportovány do místa uskladnění. Ve střevech obratlovců jsou netoxické N- oxidy redukovány na toxické terciální alkaloidy.

Není pochyb, že pyrrrolizidinové alkaloidy jsou pro člověka toxické. Bylo popsáno mnoho případů intoxikace s poškozením jater, rozvojem cirhózy a ascitu. Syndromem intoxikace těmito alkaloidy je veno-okluzivní onemocnění (VOD) – senecióza.[26]

Smrtelná dávka pyrrrolizidinových alkaloidů se pohybuje v rozmezí od 0,5 mg/kg do 3,3 mg/kg denního příjmu. Tabulka č. 2 uvádí hodnoty LD₅₀ (latentní dávku), která je vpravována přímo do organismu. Využívá se pro dělení látek z hlediska toxicity. Silně toxické látky (T+) mají hodnotu LD₅₀ <25 mg/kg, látky toxické (T) mají LD₅₀ 25-200 mg/kg a látky škodlivé (X_n) mají LD₅₀ 200-2000 mg/kg. [27]

V roce 1988 byl zaznamenán nejvážnější případ VOD u novorozence. Příčinou byl pravidelný příjem alkaloidů matkou v těhotenství. Matka si dlouhodobě připravovala léčivý čaj z podbělu a devětsilu, v nichž byly obsaženy pyrrrolizidinové alkaloidy. Díky tomu došlo u plodu k závažnému poškození jater a krátce po narození dítě zemřelo.[26]

Tabulka 2 Smrtná dávka pyrrolizidinových alkaloidů LD₅₀. [28]

Alkaloid	LD50 (mg/kg)
Retrorsine	34
Senecionine	50 – 85
Heliosupine	60
Lasiocarpine	72
Seneciphylline	77
Jacobine	77
Riddelliine	105
Symphytine	130 – 300
Heleurine	140
Jaconine	168
Monocrotaline	175
Echimidine	200
Spectabiline	220
Senkirkine	220
Heliotrine	300
Echinatine	350
Supinine	450
Europine	>1000
Heliotridine	1200
Intermedine	1500
Lycopsamine	1500

Podle tohoto hodnocení patří uvedené pyrrolizidinové alkaloidy mezi látky toxické a škodlivé pro organismus.

3 PYRROLIZIDINOVÉ ALKALOIDY V POTRAVINÁCH

Nezávislý vědecký obor, který zkoumá chemické látky v potravinách, spotřebitelských výrobcích a v životním prostředí se nazývá COT (*Committee on Toxicity*). Sídlí ve Velké Británii a poskytuje Úřadu pro bezpečnost potravin, ministerstvu zdravotnictví a jiným vládním složkám rady, které se týkají toxicity chemických látek.

V potravinách bylo nalezeno značné množství toxických sloučenin přirozeného původu. Tyto sloučeniny jsou obecně sekundárními metabolity a jsou označovány jako přírodní toxiny.

Pyrrrolizidinové alkaloidy (PA) se nacházejí ve velkém počtu rostlin na celém světě. Odhaduje se, že asi 3 % kvetoucích rostlin na světě obsahuje jeden nebo několik toxických PA. COT se již dříve vyjadřoval k PA a vydal doporučení týkající se přípravků z kostivalu (1992).

Uvádí se, že se obsah PA v rostlinách pohybuje v rozmezí 100–40 000 mg/kg. Nejvyšší obsah (180 000 mg/kg) byl zjištěn v bylině *Senecio ridelli*. Množství PA v rostlinách závisí na ročním období a lokalitě. Různé části rostlin obsahují různá množství PA.[29]

3.1 Rostlinné zdroje pyrrrolizidinových alkaloidů

Pyrrrolizidinové alkaloidy, jak již bylo řečeno, se nacházejí především v rostlinách. V rostlině se tvoří alkaloidy z největší části ve zcela mladých buňkách, ale uloženy mohou být v různých místech rostliny. Jejich vznik je ovlivněn řadou zevních podmínek, jako je např. kvalita půdy, množství dusíkatých látek, pH půdy, světlo, vlhkost a další.

V rostlině jsou alkaloidy částečně volné, ve větší části pak ve formě solí s organickými kyselinami. [30]

3.1.1 Třepatka nachová (*Echinacea purpurea*)

Rod *Echinacea* obsahuje 9 druhů třepatek. Jsou to vytrvale byliny, původem ze Severní Ameriky.

Obsahuje polysacharidy, glykoproteiny, fenolické látky, silice a pyrrrolizidonové alkaloidy, kterým je přisuzován toxický účinek na játra.

Třepatka byla tradiční bylinou používanou v lidovém léčení. Používá se při nachlazení a infekcích dýchacích a močových cest. Také se využívá na špatně se hojící rány a na zá-
nětlivá kožní onemocnění. Vzhledem k novým poznatkům se její využití ve farmacii silně
omezuje.

V Německu je používání Echinacey (viz obr. 22) omezeno na 8 týdnů z důvodu, že po del-
ším užívání se účinek vytrácí a také z obav z negativního působení pyrrolizidinových alka-
loidů na játra.[31]

Obr. 22. Třepatka nachová



3.1.2 Podběl lékařský (*Tussilago farfara*)

Vytrvalá jarní bylina se žlutými květy. Květ podběhu (viz obr. 23) byl tradičně využíván
v lékařství především ve formě čajových směsí pro odkašlávání a odhlenění dýchacích cest.
Obsahuje slizy, flavonoidy, fenolické kyseliny a pyrrolizidinové alkaloidy.

Na základě nových poznatků, bylo prokázáno, že při dlouhodobém užívání je pro organis-
mus nebezpečný, právě kvůli obsahu pyrrolizidinových alkaloidů. Proto dnes se sušený
podběl nepoužívá ani jako součást čajových směsí.

Z těchto důvodů bylo dokonce navrženo vyřadit podběl z *materia medica*, tedy z oficiální-
ho seznamu léčiv.[32]

Obr. 23. Podběl lékařský



3.1.3 Starček přímětník (*Senecio jacobaea*)

Starček přímětník (viz obr. 24) je nebezpečný plevel, který obsahuje pyrrolizidinové alkaloidy senecionin, senecifyllin a jejich N-oxidy. V nízkých dávkách mohou vyvolat rakovinu jater a ve velkém množství mohou vést až ke smrti.

Tato bylina se do čajových směsí nepoužívá. Vyskytuje se nejvíce na pastvinách, o které se nikdo nestará a leží ladem, proto dochází k jeho rozšiřování.

Konzumace této rostliny v čerstvém stavu nebo jako součást sena může vést až k úhynu koní, ale také i skotu. Množí se důkazy o tom, že by toxiny mohly přecházet i do mléka dojníc, které konzumovaly starček. Úhyn zvířete nastává po pozření rostliny v objemu 4-8% své hmotnosti. [33]

Obr. 24. Starček přímětník



3.1.4 Kostival (*Symphytum officinale*)

Patřil mezi běžně používané léčivé byliny, které se v léčitelství používali již od 15. století. Kostival (viz obr. 25) je ceněn především pro jeho schopnost hojit rány, ale má řadu dalších účinků, tišící, analgetický, svíravý a zamezuje krvácení. Dosud bylo v kostivalu izolováno 19 druhů pyrrolizidinových alkaloidů a z toho 5 toxických. Vyskytují se v celé rostlině kostivalu, nejvíce však v kořenech.

Mezi další fytochemikálie kostivalu s farmakologickými a toxikologickými účinky patří alantoin, kávová kyselina, karoten, třísloviny a jiné.[34]

Obr. 25. Kostival [31]



3.2 Živočišné zdroje pyrrolizidinových alkaloidů

Pyrrolizidinové alkaloidy se do cereálních potravin mohou dostat nejen přenosem semeny či jinými fragmenty plevelných rostlin, nalézt je lze i v medu (přenosem pylu) nebo v mléku (krmivem). [35]

Bezpečná hladina příjmu pyrrolizidinových alkaloidů byla předběžně stanovena na 1 mg alkaloidů na 1 kg tělesné hmotnosti. [36]

3.2.1 Med

Úřad pro kontrolu potravin v Austrálii a na Novém Zélandu (Food Standards Australia New Zealand, FSANZ) radí australským spotřebitelům omezit konzumaci medu získávaného výhradně z květů určitých rostlinných druhů, neboť existuje obava z přítomnosti vysokého množství přirozeně se vyskytujících toxinů.

FSANZ uvádí, že med produkovaný včelami, které využívají jako zdroj obživy květy hadince (*Echium species*), může obsahovat vysoké hladiny pyrrolizidinových alkaloidů. Dlouhodobá expozice vysokých dávek těchto sloučenin může způsobovat u člověka poškození jater a osoby, které konzumují více, jak dvě polévkové lžice tohoto medu denně jsou vystaveny zdravotnímu riziku.

Není pravděpodobné, že by u medů vyrobených z různých zdrojů (směsných medů) existovaly nebezpečné hladiny těchto toxinů. Dosud nejsou k dispozici žádné zprávy o onemocnění dávaného do souvislosti s konzumací medu.[37]

3.2.2 Mléko

Do mléka se pyrrolizidinové alkaloidy dostávají prostřednictvím krmiv. Studia však ukazují, že do mléka krav a ovcí se dostávají jen nízké dávky (0,04-0,08 % z konzumovaného množství krmiv).[38]

Na základě všech dostupných informací COT v roce 2008 došel k závěru, že je nepravděpodobné, aby PA obsažené v mléce představovaly zdravotní riziko pro člověka. [26]

Laboratorní studie prokázaly přítomnost pyrrolizidinových alkaloidů v mléce krav a koz. Mnoho pyrrolizidinových alkaloidů bylo vyloučeno v odstředěném mléce a z toho bylo odvozeno, že se jedná o rozpustné metabolity ve vodě. U mléka z laktujících potkanů krmených pyrrolizidinovými alkaloidy byly prokázány mutagenní účinky. Bylo také prokázáno, že jaterní léze u potkanů by mohly být způsobeny konzumací mléka od kozy krmené *Senecio jacobaea* (Starček přímětník). Podobné léze byly pozorovány také u potkanů krmených přímo stravou obsahující 0,001-1% *Senecio jacobaea*. [39]

3.2.3 Maso a vejce

Plevel Starček přímětník je jedním z druhů obsahujících jedovaté pyrrolizidinové alkaloidy, který mohou zabíjet i pasoucí se zvířata. Do těla zvířat se pyrrolizidinové alkaloidy dostávají po požití plevele na pastvinách a následně se mohou vyskytovat i v mléce nebo mase jatečných zvířat. U zvířat způsobují poškození jater.[40]

Otravy PA u kuřat jsou řízeny kontrolou kvality zrna v krmivu, ale také byly poskytnuty důkazy o tom, že mohou být také přeneseny do vajíček. Koncentrace PA zjištěna ve vejcích překročila maximální povolenou koncentraci pyrrolizidinových alkaloidů (0,1 µg). I když neexistují žádné důkazy o chronických zdravotních problémech způsobených těmito výrobky, jsou dalšími produkty, včetně obilí a masa, které vyžadují sledování, aby zajistily bezpečný příjem potravin. [41]

4 METODY DETEKCE A STANOVENÍ PYRROLIZIDINOVÝCH ALKALOIDŮ

K izolaci pyrrolizidinových alkaloidů se používá běžných metod. Z alkalizovaného materiálu se látka, je-li těkavá, získá destilací s vodní parou. Není-li těkavá, pak se získá extrakcí rozpouštědlem, které se nemísí s vodou. Méně obvyklá je extrakce okyselenou vodou. Při dělení směsi alkaloidů se vychází ze známých chemických vlastností. [27]

Příprava vzorku k extrakci je velmi složitá a zdlouhavá, protože pyrrolizidinové alkaloidy se vyskytují ve vzorcích jen v malých množstvích.

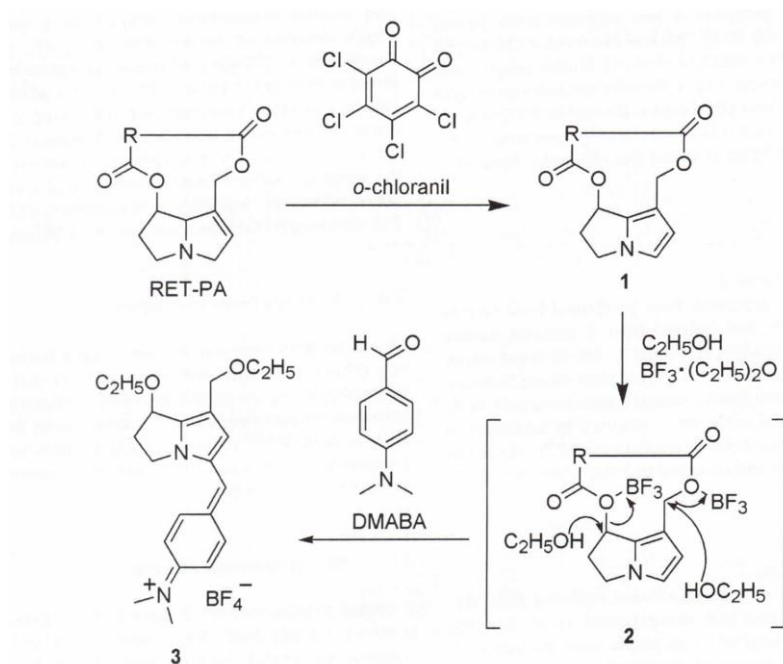
Metody analýzy alkaloidů:

- a) identifikační metody- UV, IČ, NMR, MS
- b) kvantifikační metody- HPLC/UV, GC/MS, ELISA, HPLC-ESI-MS, LC/MS, HPLC- APCI-MS

Pro stanovení nenasycených pyrrolizidinových alkaloidů byla Mattocksem navržena spektrofotometrická metoda založená na degradaci alkaloidů na pyrroll, který dává s 4- dimethylaminobenzaldehydem (Erlichovo činidlo) barevnou reakci měřitelnou spektrofotometricky. [42, 43]

Erlichovo činidlo bylo použito i při stanovení pomocí HPLC při přípravě vzorku. Mez detekce byla od 0,26 nmol/ml do 0,79 nmol/ml.

Obr. 26. Reakční schéma s Erlichovým činidlem.[44]



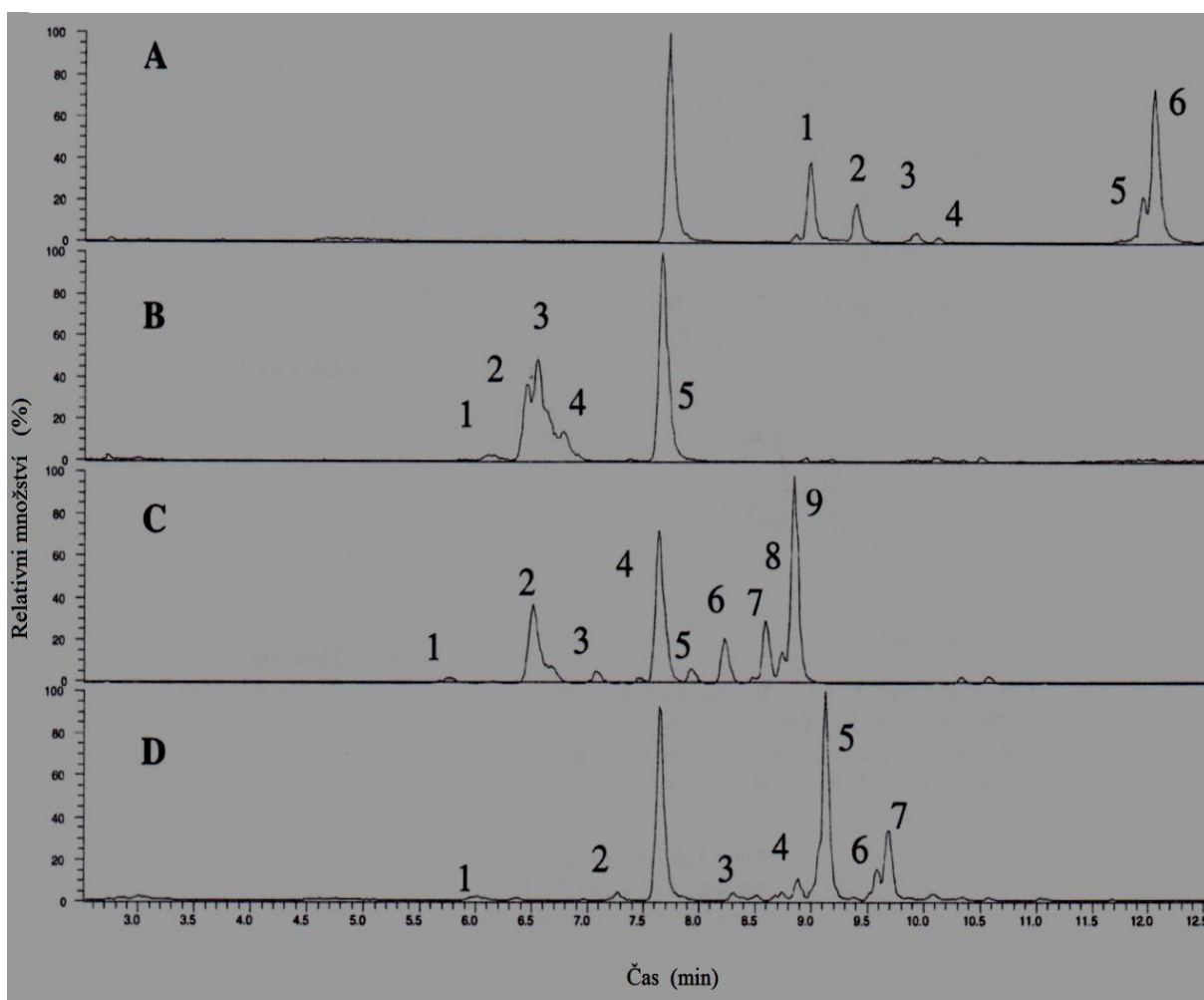
Při reakci esteru retronecinu s o-chloranilem v chloroformu, následovaným přidáním etheru fluoridu boritého a dimethylaminobenzaldehydu v etanolu dochází k výrobě purpurové barvy (viz obr. 26).[44]

V osmdesátých letech minulého století byla pro analýzu pyrrolizidinových alkaloidů v kozím mléce Deinzerem a kol. využita metoda plynové chromatografie. Analyzován byl retronecin. Koncentrační rozmezí bylo 0,33-0,81 ppm. [45]

Plynová chromatografie, zejména ve spojení s hmotnostní spektrometrickou detekcí GC/MS byla úspěšně použita k analýze široké škály pyrrolizidinových alkaloidů. Například v medu, nebo v kravském mléce.[46]

Používáním metody HPLC-ESI-MS byly v pylu různých kvetoucích rostlin objeveny některé nenasycené pyrrolizidinové alkaloidy a hlavně jejich N-oxidy. Jde o kombinaci kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií a ionizací elektrosprejem. Analýza pyrrolizidinových alkaloidů byla provedena v pylu různých druhů rostlin. Vývoj chromatogramu lze u těchto rostlin pozorovat na obrázku č. 27.

Obr. 27. HPLC-ESI-MS chromatogram.[47]



- A- pyl včel pasoucích se na rostlině *Echium vulgare* (Hadinec obecný).
- B- pyl včel pasoucích se na rostlině *Eupatorium cannabinum* (Sadec konopáč).
- C- hexanem vypraný pyl z květů *Senecio jacobaea* (Starček přímětník).
- D- pyl včel pasoucích se na rostlině *Senecio ovatus* (Starček Fuchsův).

Detekované PA jsou zde heliotrin (1), lasiocarpin (2), echimidin (3), vulgarit (4), echivulgarin (5), echinatriin (6), erocifilin (7), seneciophyllin (8), senecionin (9). [47]

Metoda HPLC-APCI-MS je kombinací vysokoúčinné kapalinové chromatografie s chemickou ionizací za atmosférického tlaku, která byla použita při stanovení pyrrolizidinových alkaloidů v medu.[48]

Malá množství pyrrolizidinových alkaloidů a jejich odpovídajících N-oxidů, byly také nalezeny ve vzorku Starčeku. K analýze byla využita nukleární magnetické rezonance (NMR). Spektra pyrrolizidinových alkaloidů jsou poměrně složitá, většina signálů jsou v důsledku pyrrolizidinového jádra zakryty a vyhodnocení je velmi složité.[49]

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), je imunologická metoda, která byla vyvinuta jako alternativum k tradičním analytickým technikám pro detekci pyrrolizidinových alkaloidů. ELISA má velkou výhodu minimální přípravy vzorku a možnost provozovat řadu vzorků současně. Imunologická stanovení jsou prováděna ve vodném prostředí a největší využití mají v analýze toxinů v biologických vzorcích např. *Senecio riddellii*. [50]

ZÁVĚR

Alkaloidy jsou velkou skupinou látek, z nichž většina už byly objeveny a prozkoumány před mnoha lety. Alkaloidy mají různé použití, ale většina z těchto látek byly používány buď v lidovém léčitelství, anebo farmacii. Později však bylo zjištěno, že ne všechny alkaloidy jsou pro člověka prospěšné.

Moderní laboratorní technika umožňuje nalezení a stanovení nových druhů alkaloidů, jejichž působení na člověka je rovněž předmětem výzkumu.

Nedávno byl v ovocných džusech identifikován nový typ indolového alkaloidu z řady β -karbolinů 1-pentahydroxypentyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin-3-karboxylová kyselina. O β -karbolinech je známo, že ovlivňují čtené systémy pro přenos nervového podnětu.

Pyrrrolizidinové alkaloidy, na něž byla práce zvláště zaměřena, jsou důkazem toho, že alkaloidy mohou být i toxické pro člověka. Například Podběl, tradičně využívaná rostlina v lékařství především ve formě čajových směsí pro odkašlávání a odhlenění dýchacích cest, byla vyřazena z oficiálního seznamu léčiv, právě pro obsah pyrrrolizidinových alkaloidů. Tyto alkaloidy se mohou vyskytovat i v dalších potravinách jako je med, mléko, maso či vejce.

V práci byla provedena literární rešerše zaměřená na metody stanovení pyrrrolizidinových alkaloidů. Od nestarších spektrofotometrických metod až po ty nejmodernější, které umožňují stanovení i velmi nízkého množství těchto alkaloidů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin* 3,1.vyd. Tábor:OSSIS, 1999, 368s.
ISBN 80-902391-5-3.
- [2] MORAVCOVÁ, J. *Biologicky aktivní přírodní látky*. Interní studijní pomůcka.
VŠCHT v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie. 2006.
- [3] *Nikotin*. [online] 2010-03. [cit. 2010-4-9]
Dostupné na <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Nikotin>>
- [4] *Piperin*. [online] 2006-08. [cit. 2010-4-9] Dostupné na
<http://www.cojeco.cz/index.php?s_term=&s_lang=2&detail=1&id_desc=72898>
- [5] PENNAPA, CH. a kol. *Food and Chemical Toxicology*, 48,2010, s. 798-802
- [6] *BIOTOX.CZ*. [online] 2001-2007. [cit. 2010-4-15]
Dostupné na <<http://www.biotox.cz/toxikon/rostliny/alkaloidy.php>>
- [7] *VEDACZ*. [online] 2009-5-22. [cit. 2010-4-15]
Dostupné na <<http://www.veda.cz/article.do?articleId=45431>>
- [8] *Enpsyro*. [online] 2000-2009. [cit. 2010-4-15]
Dostupné na <<http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3rlup.html>>
- [9] *Lupina-zrnina bez škrobu*. [online] 28-9-2003. [cit. 2010-5-6]
Dostupné na <<http://www.agro-navigator.cz/service.asp?act=print&val=18654>>
- [10] *Chinin*. [online] 1-4-2010. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na <http://cs.wikipedia.org/wiki/Chinin>
- [11] *Cinchonin*. [online] 2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na <<http://leccos.com/index.php/clanky/cinchonin>>
- [12] *Bezpečnost potravin*. [online] 2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=76559>>

- [13] *Theobromin*. [online] 2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=92362> >
- [14] *JAKNAKAVU.EU*. [online] 25-5- 2009. [cit. 2010-4-29] Dostupné na
<<http://jакnakavu.eu/o-kave/kofein-jeho-mnozstvi-v-napojich-a-pusobeni-na-cloveka/>>
- [15] *Maté a extrakt maté*. [online] 8-6-2003. [cit. 2010-5-6]
Dostupné na < <http://www.agro-navigator.cz/service.asp?act=print&val=15671>>
- [16] *Atropin*. [online] 1993. [cit. 2010-5-14]
Dostupné na < <http://www.zikmund.org/drogy/atropin.htm>>
- [17] *Vše pro zdraví*. [online] 2007. [cit. 2010-5-14]
Dostupné na < <http://www.vseprozdravi.cz/bylinky/blin-cerny.html>>
- [18] *BAOBAB-péče o zeleň*. [online] 3-4-2008. [cit. 2010-5-14]
Dostupné na < <http://www.baobab.cz/images/bulletin-jaro-2008.pdf>>
- [19] Food Additives and Contaminants, 19, 2002, č. 8, s. 748–754
- [20] JAHODÁŘ, L. Banistrie opojná-neblahý pozdrav z Amazonie. *Praktické lékárenství*. 2007, 3, s. 240-241
- [21] HERRAIZ, T. Tetrahydro- β -carbolines, Potential Neuroactive Alkaloids, in Chocolate and Cocoa. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, s. 4900-4904.
- [22] HERRAIZ, T., GALISTEO, J. Identification and Occurrence of the Novel Alkaloid Pentahydroxypentyl-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic Acid. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, s. 4690-4695.
- [23] *SYMBINATUR*. [online] 2008. [cit. 2010-5-9]
Dostupné na < <http://www.symbinatur.com/Vilca-cora-clanek-454.html> >
- [24] *Květěna ČR*. [online] 2003-2010. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na < <http://www.kvetenacr.cz/celed.asp?IDceled=13>>
- [25] *Přírodní látky*. [online] 20. 3. 2009. [cit. 2010-4-29] Dostupné na

http://cs.wikibooks.org/wiki/P%C5%99%C3%ADrodn%C3%AD_1%C3%A1tky/Chemie_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch_1%C3%A1tek/P%C5%99ehled_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch_1%C3%A1tek/Alkaloidy

- [26] JAHODÁŘ, L., KLEČÁKOVÁ, J. Toxicita hvězdicovitých s přehlédnutím k farmaceuticky významným druhům, *Chem. Listy*, 93 1999, s. 320-326.
- [27] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. LD₅₀. *Encyklopedie hydrobiologie*. VŠCHT Praha, 2007.
- [28] COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. *Committee on toxicity*. 2008.
- [29] *Pyrrolizidinové alkaloidy v potravinách*. [online] 5-12-2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na < <http://www.bezpecnostpotravin.cz/service.aspx?val=90973>>
- [30] STANĚK, J. *Alkaloidy*. 1.vyd. Praha: ČSAV - sekce chemická. 1957. s. 164-389.
- [31] *Třepatka nachová*. [online] 2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na < <http://www.leros.cz/byliny/trepatka-nachova/>>
- [32] *Podběl lékařský*. [online] 2007-2009. [cit. 2010-4-29]
Dostupné na < <http://botany.cz/cs/tussilago-farfara/>>
- [33] Výživa, trendy v potravinářství, legislativa. *Potravinářské aktuality*. 2001, 4, s. 11.
- [34] *HOBBY.CZ*. [online] 1999-2010. [cit. 2010-5-6]. Dostupné na
< http://hobby.idnes.cz/foto.asp?r=herbar&c=A080724_150200_herbar_lud>
- [35] SCHULZOVÁ, V., HAJŠLOVÁ, J. Přírodní zdraví. *Chem. Listy*. 2008, 102, s. 658-666.
- [36] Health warning from FSANZ. *Food Australia*, 56. 2004, 4, s. 108.
- [37] *Přírodní toxiny v medu*. [online] 17-2-2004. [cit. 2010-5-9]
Dostupné na < <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=print&val=23257>>
- [38] *EFSA varuje před pyrrolizidinovými alkaloidy*. [online] 9-7-2007. [cit. 2010-5-12].
Dostupné na < <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=printval=61198>>
- [39] PRAKASH S. A., PEREIRA N. T., Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 1999, 443, s. 53-67.

- [40] PŘIDAL, A. Toxické látky v medech. *Moderní včelař PODLETÍ*. 2009, 4, s. 116.
- [41] EDGAR, J. A., SMITH, L. W. Transfer of Pyrrolizidine Alkaloids into Eggs. *ACS Symposium Series*. 2000, 745, s. 118-128.
- [42] MATTOCKS, A.R. Spektrophotometric Determination of Unsaturated Pyrrolizidine Alkaloids. *Analytical Chemistry*. 1967, 39, s. 443-447.
- [43] MATTOCKS, A.R. Spektrophotometric Determination of Pyrrolizidine Alkaloids- Some Improvements. *Analytical Chemistry*. 1968, 40, s. 1749-1750.
- [44] ZHANG, F. a kol. Quantitative analysis of total retronecine esters-type pyrrolizidine Alkaloids in plant by high performance liquid chromatography. *Analitica chimica Acta* 2007, 605, s. 94-101.
- [45] DEINZER, L. M. a kol. Gas chromatographic Determination of Pyrrolizidine Alkaloids in Goat's Milk. *Analytical Chemistry*. 1982, 54, s. 1811-1814.
- [46] EDGAR, J. A. a kol. Honey from Plants Containing Pyrrolizidine Alkaloids: A Potential Threat to Health. *J.Agric.Food Chem.* 2002, 50, s. 2719-2730.
- [47] BOPPRÉ, M. a kol. Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids in Pollen and Drying-Related Implications for Commercial Processing of Bee Pollen. *J.Agric.Food Chem.* 2008, 56, s. 5662-5672.
- [48] BEALES, A. K. a kol. Solid-Phase Extraction and LC-MC Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids on Honeys. *J.Agric.Food Chem.* 2004, 52, s. 6664-6672.
- [49] MOLYNEUX, J. R. a kol. Determination of Pyrrolizidine Alkaloid Content and Composition in Senecio Species by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J.Agric.Food Chem.* 1979, 27, s. 494-499.
- [50] LEE, T. S. a kol. Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for the Hepatotoxic Alkaloids Riddelliine. *J.Agric.Food Chem.* 2001, 49, s. 4144-4151.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

COT	Committee on Toxicity.
PA	Pyrrolizidinové alkaloidy.
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand.
VOD	Veno-okluzivní onemocnění.
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization.
MAO	Monooxidáza.
EFSA	European Food Safety Authority.
ESI	Ionizace elektrosprejem (ElectroSpray Ionization.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography.
MS	Mass Spectrometry.
GC	Gas Chromatography.
NMR	Nukleární magnetická rezonance.
UV	Ultrafialové záření.
IČ	Infračervené záření.
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assai.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Chemické vzorce pyridinu (1), pyrrolidinu (2) a piperidinu (3).....	13
Obr. 2. Chemický vzorec nikotinu.....	13
Obr. 3. Chemický vzorec piperinu.....	14
Obr. 4. Chemický vzorec chavicinu.....	15
Obr. 5. Chemický vzorec sparteinu.....	15
Obr. 6. Chemický vzorec cytisinu a laburninu.....	16
Obr. 7. Chemický vzorec lupaninu.....	16
Obr. 8. Chemický vzorec rubanu.....	17
Obr. 9. Chemický vzorec chininu.....	17
Obr. 10. Chemický vzorec xanthinu.....	18
Obr. 11. Chemický vzorec kofeinu.....	18
Obr. 12. Chemický vzorec tropinu.....	21
Obr. 13. Chemický vzorec atropinu.....	22
Obr. 14. Chemický vzorec skopolaminu.....	22
Obr. 15. Durman obecný.....	23
Obr. 16. Chemický vzorec indolu.....	23
Obr. 17. Pietet-Spenglerova kondenzace indolaminu a aldehydu[21].....	24
Obr. 18. Pietet-Spenglerova kondenzace L-tryptofanu a D-glukosy.[22].....	25
Obr. 19. Tvorba 1-pentahydroxypentyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin-3-karboxylové.....	25
Obr. 20. Chemický vzorec cholestanu.....	27
Obr. 21. Chemický vzorec retronecinu.....	27
Obr. 22. Třepatka nachová.....	32
Obr. 23. Podběl lékařský.....	33
Obr. 24. Starček přímětník.....	33
Obr. 25. Kostival [31].....	34
Obr. 26. Reakční schéma s Erlichovým činidlem.[44].....	37
Obr. 27. HPLC-ESI-MS chromatogram.[47].....	38

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Obsah kofeinu v nápojích a čokoládě [14]	20
Tabulka 2 Smrtelná dávka pyrrolizidinových alkaloidů LD ₅₀ . [28]	30