

Glukosinoláty v rostlinných produktech

Vendula Švejdíková

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Vendula ŠVEJDÍKOVÁ
Osobní číslo: T08370
Studijní program: B 2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a technologie potravin

Téma práce: Glukosinoláty v rostlinných produktech

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Glukosinoláty – popis, charakteristika.
2. Výskyt glukosinolátů v rostlinných produktech, potravinách.
3. Zdravotní účinky glukosinolátů.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Velíšek, J., Hajšlová, J. *Chemie potravin 2*. Praha: OSSIS, 2009. 344 s.

[2] Prugar, J. a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3.tisíciletí*. Praha: VÚPS, 2008, 327 s.

[3] Griffiths, D., Deighton, N., Birch, N.A.E., et al.: Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. *Phytochemistry*, 57, 5, 2001, 693–700.

[4] Padilla, G., Cartea, M.E., Velasco, P et al.: Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassica rapa. *Phytochemistry*, 68, 4, 2007, 536–545.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ŠVEJDLKOVÁ JADUHA

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 23. 5. 11

..... Švejdlová

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 nevydělečně 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 přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na glukosinoláty v rostlinných produktech, jejich popis, strukturu, chemické reakce a produkty jejich hydrolýzy a zdravotní účinky těchto látek. V další části jsou uvedeny zdroje glukosinolátů v brukvovité zelenině (zelí, brokolice, hořčice, řepka, ředkev, růžičková kapusta, křen).

Klíčová slova: glukosinoláty, chemické reakce, isothiokyanáty, brukvovitá zelenina

ABSTRACT

The bachelor thesis is focused on glucosinolates in vegetable products, their description, structure, chemical reactions and products of their hydrolysis and health benefits of these substances. Also the sources of glucosinolates in cruciferous vegetables (cabbage, broccoli, mustard, rape, radish, sprouts, horseradish) are described.

Keywords: glucosinolates, chemical reactions, isothiocyanates, cruciferous vegetables

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D., za odborné vedení, rady a připomínky při psaní mé práce a trpělivost.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
1 GLUKOSINOLÁTY	10
1.1 CHEMICKÁ STRUKTURA GLUKOSINOLÁTŮ	10
1.2 REAKCE A ZMĚNY GLUKOSINOLÁTŮ	14
1.2.1 Enzymová hydrolýza glukosinolátů katalyzována <i>myrosinase</i>	14
1.2.2 Produkty hydrolýzy glukosinolátů	16
1.2.2.1 Isothiokyanáty	16
1.2.2.2 Askorbigeny	18
1.3 ZMĚNY OBSAHU GLUKOSINOLÁTŮ.....	19
1.4 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY GLUKOSINOLÁTŮ	20
1.5 STANOVENÍ GLUKOSINOLÁTŮ.....	23
1.6 LEGISLATIVA V OBLASTI GLUKOSINOLÁTŮ	25
2 ZDROJE GLUKOSINOLÁTŮ	28
2.1 BRUKVOVITÁ ZELENINA	28
2.1.1 Zelí bílé (<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>alba</i> , <i>B. rubra</i>), červené	30
2.1.2 Růžičková kapusta (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>).....	31
2.1.3 Hořčice bílá, černá, rolní (<i>Sinapis alba</i> , <i>Brassica nigra</i> , <i>S. arvensis</i>).....	32
2.1.4 Řepka olejná (<i>Brassica napus</i> L.)	33
2.1.5 Brokolice (<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>botrytis</i> var. <i>cymosa</i>)	36
2.1.6 Řeřišnice hořká (<i>Cardamine amara</i>)	37
2.1.7 Křen selský (<i>Armoracia rusticana</i>).....	37
2.1.8 Ředkev setá (<i>Raphanus sativus</i>).....	38
ZÁVĚR	40
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	42
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	46
SEZNAM OBRÁZKŮ	47
SEZNAM TABULEK	48

ÚVOD

Glukosinoláty jsou sekundární metabolity rostlin vyskytující se především v dvouděložných rostlinách řádu brukvotvárných (*Brassicales*), který zahrnuje hospodářsky významné plodiny řazené mezi olejniny, zeleniny a pochutiny. Jsou to deriváty cyklických forem monosacharidů. Jako sacharidovou složku obsahují β -D-glukosu a v aglykonu síru a dusík.

Glukosinoláty a jejich degradační produkty, isothiokyanáty, vykazují v rostlině typické aroma, štiplavou až velice pikantní chuť.

Složení glukosinolátů je charakteristické pro každý druh, do jisté míry je typické pro každou rostlinu. Je určováno především genetickými dispozicemi rostliny. Celkový obsah glukosinolátů je ovlivněn řadou vnějších faktorů během pěstování (klimatické podmínky, stresové faktory, kterým je rostlina vystavena, napadení škůdci, aj.).

Nejvýznamnějšími zdroji glukosinolátů pro člověka jsou zelí, květák, kedluben, brokolice a růžičková kapusta, méně pak příležitostně konzumované zeleniny, jako ředkvička, řeřicha, křen aj. Množství glukosinolátů, které je obsaženo v různých částech rostliny, se liší.

Brukvovité plodiny jsou vysoce ceněny v rámci mnohočetného osevního postupu. Přispívají k dlouhodobému zvyšování půdní úrodnosti. Obsahují glukosinoláty, které jsou se svým chemickým složením nejlepšími přírodními pesticidy s aktivní a pasivní odolností proti chorobám a škůdcům. Vykazují repelentní účinky a vlastnosti přírodních biofumigátorů v půdě po zaorání biomasy jako zelného hnojení nebo po zaorání posklizňových zbytků. Tyto účinky jsou přisuzovány rozkladným produktům glukosinolátů – bioaktivním isothiokyanátům.

Glukosinolátům jsou přisuzovány pozitivní účinky na lidské zdraví. Není znám přesný mechanismus, ale při jejich konzumaci byl prokázán pokles vzniku nádorových buněk. Konzumace brukvovité zeleniny rapidně snižuje výskyt rakoviny prsu a dalších rakovinných onemocnění (plic, prostaty, tlustého střeva, konečníku). Antikarcinogenní účinky jsou přisuzovány rovněž degradačním produktům glukosinolátů - isothiokyanátům.

1 GLUKOSINOLÁTY

Glukosinoláty jsou rostlinné sekundární metabolity vyskytující se především v dvouděložných rostlinách řádu brukvotvárných (*Brassicales*), která zahrnuje hospodářsky významné plodiny řazené mezi olejniny, zeleniny a pochutiny. Glukosinoláty jsou zodpovědné za typické štiplavé aroma křene, hořčice a jiných druhů zelenin, semen řepky a některého koření, a proto byly také dříve nazývány glukosidy hořčičných olejů [1, 2, 3].

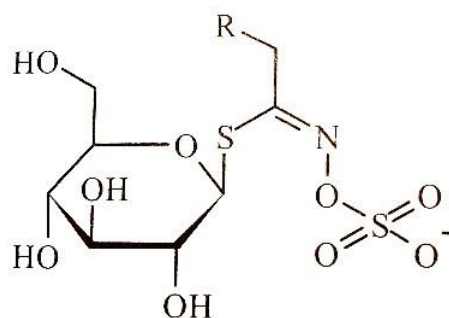
Hlavní funkce thioglukosidů spočívá v jejich schopnosti odpudit jak býložravé obratlovce, tak škůdce z řad bezobratlého hmyzu. Glukosinoláty, neboli thioglukosidy, obsahují ve své molekule kromě atomů uhlíku, vodíku a kyslíku, také atomy síry a dusíku. Jsou to deriváty cyklických forem monosacharidů. Jako sacharidovou složku obsahují β -D-glukosu a v aglykonu síru a dusík [1, 4, 5, 6].

1.1 Chemická struktura glukosinolátů

Molekula glukosinolátů (Obr. 1) je tvořena cukernou složkou (většinou se jedná o β -D-glukosu, resp. β -thioglukosu, která může být esterifikována sinapovou, popřípadě jinou karboxylovou kyselinou) a aglykonem, který je anion sulfonovaného oximu v poloze *trans* vzhledem k postrannímu řetězci -R a v poloze *cis* k thioglukosidovému zbytku. Velký počet glukosinolátů je dán chemickou rozmanitostí postranních řetězců, které jsou odvozeny od několika aminokyselin (methionin a jeho vyšších homologů, fenylyalanin, tyrosin a tryptofan) [1].

Postranní řetězec -R určuje chemické, fyzikální a biologické vlastnosti jednotlivých glukosinolátů a také druh jejich degradačních produktů [1].

Podle struktury postranního řetězce -R lze glukosinoláty rozdělit do několika základních skupin, které jsou, spolu s triviálními názvy nejrozšířenějších glusinolátů, uvedeny v Tab. 1.



Obr. 1. Obecná struktura glukosinolátů [1]

Rozeznávají se glukosinoláty

A) podle postranního řetězce [2]:

- Alifatické, alk(en)ylové (č. 1 – 6 v Tab. 1), případně alifatické substituované hydroxyskupinou (č. 7 – 9 v Tab. 1),
- Sírné, obsahující v postranním řetězci methylthioskupinu (č. 10 – 13 v Tab. 1), případně jejich oxidované formy (č. 14 – 19 v Tab. 1),
- Aromatické (s nesubstituovaným nebo substituovaným benzenovým jádrem, č. 20 – 25 v Tab. 1),
- Indolové, se substituovaným indolem (č. 26 – 30 v Tab. 1).

B) podle fyziologie rostlin [7, 8]:

- Látky, z nichž hydrolyzou vznikají bioaktivní isothiokyanáty. Ty jsou známé jak pozitivními (antimikrobiální, antibakteriální, fungicidní) tak negativními účinky (vazba jodu).
- Hydroxidy – glukosinoláty. Tato skupina je oproti první zastoupena daleko méně, na druhé straně však vyniká antinutričními vlastnostmi. Rozkladný produkt goitrin je silně strumigenní. Jeho vysoký obsah v semenech řepky vedl ke snahám o minimalizování jeho obsahu. V řepkovém semeni je obsaženo přes 70 % progoitrinu z celkového množství glukosinolátů.
- Glukosinoláty s indolovou skupinou, jejichž hydrolyzou vznikají thiokyanáty. Ve větším množství se nachází v semenech nízkoglukosinolátových řepk. Vykazují

jak antinutriční vlastnosti tak antikarcinogenní, které se v posledních letech zkoumají.

Složení glukosinolátů je charakteristické pro každý druh, ale je do jisté míry i typické pro každou rostlinu. Je určováno především genetickými dispozicemi rostliny. Celkový obsah glukosinolátů je ovlivněn řadou vnějších faktorů během pěstování (klimatické podmínky, stresové faktory, kterým je rostlina vystavena, napadení škůdci, aj.) [9].

Obsah jednotlivých glukosinolátů se liší i mezi částmi rostliny. Ve vegetativních částech rostlin se obsah glukosinolátů pohybuje v rozmezí stovek až tisíců mg/kg, v semenech až několik tisíc mg/kg. V jedné rostlině je obvykle ve významnějším množství obsaženo jen několik sloučenin [7, 10].

V současné době je známo více než 150 různých glukosinolátů. V zeleninách čeledi brukvovitých se běžně vyskytuje zhruba 20 – 30 glukosinolátů [1].

Tab. 1 Názvy a substituenty nejrozšířenějších glukosinolátů [1]

Č.	Triviální název	Substituent – postranní řetězec R
1	Glukokapparin	methyl
2	Sinigrin	prop-2-en-1-yl
3	Glukoputranjivin	isopropyl
4	Glukonapin	but-3-en-1-yl
5	Glukochlearin	sek-butyl
6	Glukobrassikanapin	pent-4-en-1-yl
7	Progoitrin	(2R)-2-hydroxybut-3-en-1-yl
8	Epiprogoitrin	(2S)-2-hydroxybut-3-en-1-yl
9	Glukonapoleiferin	2-hydroxypent-4-en1-yl
10	Glukoibervirin	3-methylthiopropyl
11	Glukorafasatin	4-methylthiobut-3-en-1-yl
12	Glukoerucin	4-methylthibutyl
13	Glukoberteroin	5-methylthiopentyl

14	Glukoiberin	3-methylsulfinylpropyl
15	Glukorafenin	4-methylsulfinylbut-3-en-1-yl
16	Glukorafarin	4-methylsulfinylbutyl
17	Glukoalyssin	5-methylsulfinylpentyl
18	Glukocheirolin	3-methylsulfonylpropyl
19	Glukoerysolin	4-methylsulfonylbutyl
20	Glukotropeolin	Benzyl
21	Sinalbin	4-hydroxybenzyl
22	Glukolimnantin	3-methoxybenzyl
23	Glukoaubrietin	4-methoxybenzyl
24	Glukonasturtiin	2-fenylethyl
25	Glukobarbarin	(2R)-2-hydroxy-2-fenethyl
26	Glukosibarin	(2S)-2-hydroxy-2-fenethyl
27	Glukobrassicin	3-indolylmethyl
28	4-hydroxyglukobrassicin	4-hydroxy-3-indolylmethyl
29	Neoglukobrassicin	1-methoxy-3-indolylmethyl
30	4-methoxyglukobrassicin	4-methoxy-3-indolylmethyl

Semisystematické názvy glukosinolátů jsou tvořeny chemickými názvy variabilní části molekuly (postranní řetězec -R) a příponou glukosinolát (např. 2-hydroxybut-3-en-1-ylglukosinolát). Mnohem častěji se používají názvy triviální. Většinou se jedná o názvy podle latinského pojmenování rostliny, ze které byly poprvé izolovány. Například 4-hydroxybenzylglukosinolát byl izolován ze semene bělohořčice seté (*Lecosinapis alba*), a byl tedy nazván sinalbinem; prop-2-en-1-ylglukosinolát izolován ze semene brukve černé (*Brassica nigra*, syn. *Sinapis nigra*) byl pojmenován sinigrin. Již zmíněný 2-hydroxybut-3-en-1-ylglukosinolát byl nazván progoitrinem, jelikož je prekurzorem goitrin [1].

Přehled rostlin čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*), které jsou nejvýznamnějšími zdroji glukosinolátů pro člověka, jsou zelí, květák, kedluben, brokolice a růžičková kapusta, méně pak příležitostně konzumované zeleniny, jako ředkvička, řeřicha, křen aj, je uveden

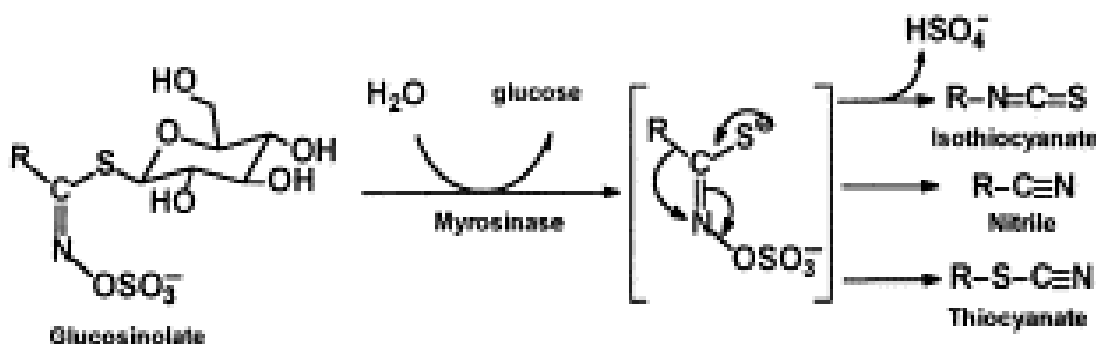
v Tab. 2. Průměrný obsah ve vegetativních částech rostlin je 100 – 2 500 mg/kg, v semenech se nachází až 60 000 mg/kg. Příležitostně jsou konzumovány také některé části rostlin náležících do jiných čeledí. Např. kapary (Capparidaceae) obsahují glukokapparin. Semena papáji (Caricaceae) obsahují glukotropeolin (používají se mletá pro svoji kořeněnou štiplavou chuť jako náhrada pepře) [1, 2].

1.2 Reakce a změny glukosinolátů

Mechanismus uvolnění aktivních látek z biologicky neaktivních glukosinolátů je obdobný jako u glukosidů saponinu či u kyanogenních glukosidů. Glukosinoláty jsou aktivovány při poškození rostlinného pletiva, jako je krájení, kousání, při promrznutí, při napadení škůdci apod. Enzym *myrosinasa*, který je pravděpodobně v inaktivním pletivu oddělen od svého substrátu vnitrobuněčnou kompartmentací, při poškození štěpí thioglykosidickou vazbu. Nestabilní aglykon se může dále přeměnit na celou řadu produktů [4, 11, 12].

1.2.1 Enzymová hydrolýza glukosinolátů katalyzována *myrosinasa*

Glukosinoláty jsou v rostlinném pletivu doprovázeny enzymem *myrosinasa* (*thioglukosidglukohydrolasou*), která katalyzuje jejich rozklad. *Myrosinasa* je globulární glykoprotein s relativní molekulovou hmotností 140 kDa skládající se z několika isoenzymů. Vyskytuje se i v některých mikroorganismech (včetně bakterií střevní mikroflóry), v houbách a dokonce i v tkáních některých živočichů. *Myrosinasa* je triviální název pro β -*thioglukosidasu*, enzym zodpovědný za hydrolýzu glukosinolátů (Obr. 2). Enzym *myrosinasa* se inaktivuje tepelnou úpravou [1, 13, 14].



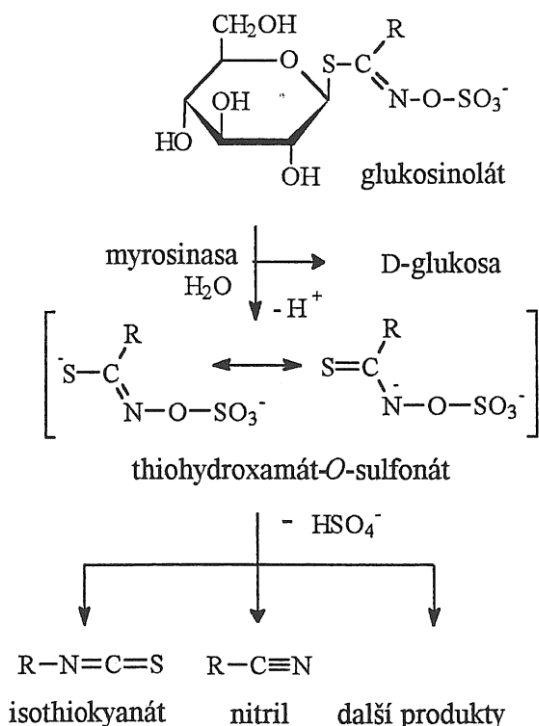
Obr. 2. Obecné schéma enzymového rozkladu glukosinolátů [15]

Enzymová hydrolýza je zahájena *myrosinase* katalyzovaným štěpením thioglukosidové vazby glukosinolátu. Vzniká D-glukosa a nestabilní produkt (aglykon), který podléhá spontánní degradaci (odštěpení hydrogensíranu a stabilizace zbylé části molekuly na některý ze stálějších produktů). Nejčastějšími rozkladnými produkty jsou isothiokyanáty a nitrily, může vznikat ale i řada dalších produktů [2, 9].

Nestabilní aglykon se může dále přeměnit na celou řadu produktů. Všechny tyto produkty, mezi nimiž lze nalézt též isothiokyanáty, thiokyanáty a organické nitrily, jsou velmi reaktivními látkami [4].

Pokud dojde před požitím glukosinolátů k hydrolýze (Obr. 3), mohou se degradační produkty glukosinolátů absorbovat v tenkém střevu. Nehydrolyzované glukosinoláty jsou hydrolyzovány na degradační produkty střevní mikroflórou a pak se absorbují v tlustém střevu [12].

Rychlost hydrolýzy je dána aktivitou enzymu, která je ovlivněna řadou faktorů - teplota a hodnota pH prostředí, druh a část rostliny či přítomnost látek působících jako aktivátory nebo inhibitory [1].



Obr. 3. Schéma rozkladu glukosinolátů [1]

Hodnota pH má vliv jak na rychlost enzymové hydrolýzy, tak na mechanismus degradace nestabilního aglykonu. *Myrosinasy* různých rostlin mají obvykle několik optim pH ležících v intervalu 5 – 8, což je dáno přítomností několika isoenzymů. V kyselém prostředí (pH < 4) vznikají převážně nitrily, při vyšším pH vzniká více isothiokyanátů [2, 9].

K degradaci mezi jednotlivými glukosinoláty, které jsou hydrolyzovány na podobné úrovni, dochází bez ohledu na povahu postranního řetězce [13].

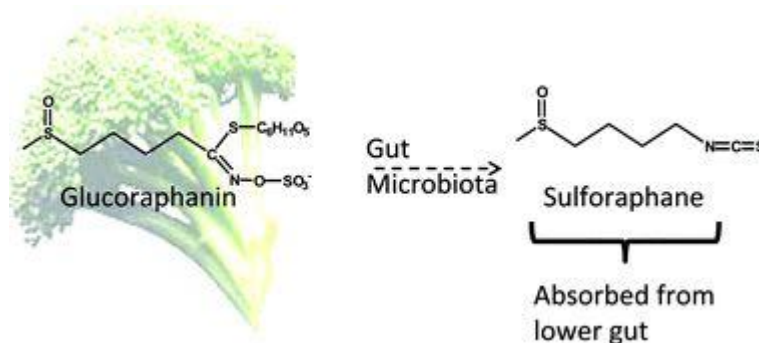
1.2.2 Produkty hydrolýzy glukosinolátů

1.2.2.1 Isothiokyanáty

Isothiokyanáty (dříve nazývané hořčičné oleje) jsou produkty hydrolytického odbourávání glukosinolátů. Jde o sloučeniny s kumulovaným systémem dvojných vazeb ($R-N=C=S$), které se řadí mezi tzv. heterokumuleny, sloučeniny odvozené od uhlovodíku allenu. Nacházejí se v brukvovitých rostlinách a jsou biologicky indiferentní. Allylisothiokyanáty vznikají enzymatickou hydrolýzou sinigrinu (ten je obsažen ve většině běžně konzumovaných brukvovitých zeleninách s výjimkou brokolice, čínského zelí a ředkvičky) a mají mutagenní a karcinogenní účinek. Množství vznikajícího allylisothiokyanátu při konzumaci brukvovité zeleniny je malý, naopak konzumace této zeleniny má svým celkovým působením protinádorový účinek [1, 16].

Isothiokyanáty spolu s nitrily jsou hlavními rozkladnými produkty, které závisí především na vnějších podmínkách a struktuře, nicméně mohou díky tomu vznikat i další sloučeniny [1].

Isothiokyanáty mají výrazné organoleptické vlastnosti. Jsou to látky s velice intenzivním a ostrým zápachem, které se podílejí na typickém aroma a pálivé chuti (jsou nositeli těchto vjemů u brukvovitých zelenin). Jedním z nejrozšířenějších zástupců je allylisothiokyanát, který je pálivou složkou křenu, past z hnědé a černé hořčice i řady brukvovitých zelenin. Nejznámějším isothiokyanátem je díky svým antikarcinogenním účinkům sulforafan, (Obr. 4), který vzniká působením střevních mikroorganismů na glukorafanin a dále je pak ve formě sulforafaninu vstřebáván v organismu [1, 2].



Obr. 4. Přeměnu glukorafaninu na sulforafan [17]

Z glukorafaninu se hydrolyzou uvolňuje sulforafan vykazující chemoprotektivní vlastnosti. Kromě sulforafanu se může z glukorafaninu hydrolyzou uvolnit i sulforafan-nitril, který však nevykazuje výrazné chemoprotektivní vlastnosti a jeho tvorba je závislá na teplotě při technologické úpravě [18, 19].

Sulforafan se absorbuje pasivní difúzí do enterocytů a významné množství aplikovaného sulforafanu se vylučuje zpět do střeva ve formě konjugátu sulforafanu s glutathionem. Exkrece konjugátů sulforafanu by mohla ovlivnit míru absorpce isothiokyanátů a biologická využitelnost může být podstatně nižší. Ve studiích na zvířatech bylo prokázáno, že se sulforafan vyskytuje ve žluči odebrané do 4 hodin po aplikaci sulforafanu. Bylo zde detekováno pět metabolitů, dva z nich byly identifikovány jako konjugáty sulforafanu a erucinu s glutathionem, dále analog sulfidu [20].

K absorpci isothiokyanátů dochází v tenkém střevu, zatímco glukosinoláty se musí podrobit kyselé hydrolyze nebo degradaci střevní mikroflórou na isothiokyanáty. Po absorpci mohou isothiokyanáty tvořit konjugáty s glutathionem a dále se metabolizovat jako merkapturové kyseliny. Absorbované isothiokyanáty se vylučují ledvinami jako jejich odpovídající merkapturové kyseliny isothiokyanátů [14].

Analýza merkapturových kyselin odvozených od isothiokyanátů v moči je dobrým indikátorem příjmu isothiokyanátů. Limit stanovení je 0,5 $\mu\text{mol/l}$ moči, což teoreticky odpovídá množství sinigrinu (allylglukosinolátu) obsaženému přibližně v jednom listu růžičkové kapusty. Konzumací průměrné porce patřičného druhu zeleniny se uvolňují desítky miligramů isothiokyanátů. Isothiokyanáty jsou vylučovány močí jako dithiokarbamáty. Jejich množství – a tudíž i množství přijatých isothiokyanátů resp. glukosinolátů – může být zjiš-

těno cyklokondenzací s 1,2-benzendithiolem, následnou separací HPLC a detekcí pomocí UV [14, 21].

Mnoho isothiokyanátů je rychle akumulováno ve velmi vysokých koncentracích (několik set násobně oproti extracelulárním koncentracím) v buňkách různého druhu a mohou dosahovat milimolárních hladin. Většina isothiokyanátů se v krvi nachází ve formě konjugátů spíše než ve volné formě. Konjugáty jsou absorbovány do buněk velmi pozvolna, zatímco isothiokyanáty vstupují do buněk rychleji. Míra akumulace může být rozhodující pro antikarcinogenní aktivitu těchto sloučenin [22].

Jedním z antikarcinogenních mechanismů isothiokyanátů je působení na enzymy metabolismu xenobiotik (který probíhá ve dvou fázích) ve smyslu indukce nebo inhibice. Význam má indukce enzymů II. fáze (NAD(P)H: *chinon-oxidoreduktázy*, *glutathion-S-transferázy*, uridin 5-difosfátu, *glukoronosyl-transferázu*, *epoxid-hydrolázy*, ferritinu, γ -glutamátu, *cystein-ligázy* a *katalázy*) a inhibice enzymů I. fáze (izoenzymů *cytochrom P450*). Obě tyto schopnosti má např. sulforafan. Isothiokyanáty mohou také indukovat enzymy I. fáze, čímž se projeví jejich pooxidační vlastnost [23].

1.2.2.2 Askorbigeny

Hydrolýzu indolových glukosinolátů ovlivňuje i přítomnost různých sloučenin, z nichž má největší význam L-askorbová kyselina. V brukvovitých zeleninách se vyskytuje v množství zhruba 100-1200 mg/kg. Kyselina askorbová se podílí na aktivaci *myrosinasy*, čímž urychluje celý proces enzymové degradace glukosinolátů [2].

Hydrolýzou indolových glukosinolátů vzniká 3-indolyliothiokyanát (indolyl-CH₂-NCS, indolyl je jednovazný zbytek od indolu), ze kterého se snadno odštěpuje thiokyanátový anion. Ve vodném prostředí vzniká 3-hydroxymetylundol. Ten reaguje s kyselinou askorbovou v pletivech za vzniku zvláštní vázané formy – askorbigenu [10].

Z askorbigenu se za vyšších teplot odštěpí L-askorbová kyselina a zbylá indolová složka jako kation se může vázat na další molekulu askorbigenu za tvorby dimeru i trimeru. Hlavními degradačními produkty glukobrassicinu jsou 3-indolylacetonitril (indolyl-CH₂CN), indolyloctová kyselina (indolyl-CH₂COOH), 3-indolylacetamid (indolyl-CH₂CONH₂), 3-formylindol (indolyl-CH=O), 3-methylindol (indolyl-CH₃) a další deriváty [10].

Glukobrassicin je glukosinolát odvozený od tryptofanu, jehož hlavním hydrolytickým produktem je indol-3-karbinol, který zvyšuje aktivitu některých izoenzymů *CYP450* a *GST* [24].

Askorbigen je hlavním degradačním produktem glukobrassicinu v zeleninách bohatých na vitamin C. V závislosti na řadě různých faktorů se na askorbigen přemění zhruba 20 – 50 % glukobrassicinu. Obsah askorbigenu se v brukvovité zelenině pohybuje v rozmezí 5 - 60 mg/kg. Stabilita askorbigenu a 3-indolyliothiokyanátu je za vyšších teplot omezená a vzniká tak celá řada transformačních produktů [1].

Askorbigen se v žaludku částečně rozkládá a uvolňuje se askorbová kyselina a produkty s antikarcinogenním a antimutagením účinkem [10].

1.3 Změny obsahu glukosinolátů

Glukosinoláty jsou tepelně velice stabilní, ale enzym *myrosinasa*, který zapříčiňuje jejich přeměnu, se teplem inaktivuje. Glukosinolátů se při vaření vyluhují do vody (40 – 70 %) a tím se snižuje jejich obsah v dané zelenině. Množství glukosinolátů v červeném i bílém zelí po tepelné úpravě vařením ve vodě, trvajícím 10 minut, bylo o více než 50 % nižší než jejich původní obsah, po 30 minutách již až o 87 % méně [25].

U mikrovlnného ohřevu je zapotřebí menší množství vody vzhledem k působení mikrovln na vodu obsaženou v zelenině obsah glukosinolátů je tímto způsobem úpravy snížen o 74% [25].

Zeleninové konzervy a zavařeniny procházejí vysokým tepelným záhřevem – sterilací či pasterací (teploty 115° - 125°C), proto je v nich hladina glukosinolátů mnohem nižší než v zelenině čerstvé [25].

Zmrazováním zeleniny dojde v důsledku aktivity *myrosinázy* v poškozeném rostlinném pletivu k rozkladu asi 50 % glukosinolátů. Kvašením zelí dojde k téměř úplnému rozkladu glukosinolátů během jednoho týdne [21].

Přítomnost kyseliny L-askorbové je další faktor ovlivňující míru hydrolýzy. S ohledem na obsah sulforafanu v brukvovité zelenině se při výrobě brokolicevé šťávy jeví jako vhodná surovina brokolice čerstvá či chlazená. S klesající hodnotou pH se obsah sulforafanu zvyšuje a ošetření vysokým tlakem v rozsahu 350 – 500 MPa po dobu 3 – 10 minut nemá vliv

na jeho obsah. Časová prodleva po vylisování šťávy dokonce zvýšila obsah sulforafanu na průměrnou hodnotu 16 – 19 mg/l [21].

Doposud neexistuje databáze potravin s obsahem glukosinolátů tak, jak je tomu u polyfenolů či isoflavonů. Nicméně byly zaznamenány první pokusy o vytvoření databáze pro odhadnutí příjmu glukosinolátů z brukvovité zeleniny. Nejvyšší obsah byl zaznamenán u řeřichy (3,89 g/kg) a nejnižší u čínského zelí (0,2 mg/kg). Údaje o analýzách obsahu glukosinolátů ve vařené brukvovité zelenině jsou nedostatečné, nicméně průměrná ztráta během vaření se pohybuje okolo 36 %. Bylo prokázáno že, nejen stáří rostliny, ale i různé odrůdy brukvovité zeleniny mají značný vliv na poměr a množství jednotlivých glukosinolátů [21].

1.4 Zdravotní účinky glukosinolátů

Glukosinoláty jsou indiferentní sloučeniny. Biologické účinky vykazují pouze degradační produkty glukosinolátů. Ty se liší podle skladby vznikajících látek. Je tedy dobré znát, které glukosinoláty jsou zastoupeny v zelenině, v jakém množství, které produkty vznikají jejich rozkladem, v jakém množství a s jakou biologickou aktivitou [1, 2, 5].

Obecně platí, že výživa a životní styl, vedle genetických faktorů, hrají klíčovou roli v etiologii nádorového onemocnění. Exogenní faktory vzniku malignit značně převyšují endogenní faktory a mohou se spolupodílet až na vzniku 90 % nádorů [26].

Rakovina je onemocnění způsobené zhoubným nádorem. Nádor (tumor, neoplazma) je patologický útvar vytvořený v tkáni mnohobuněčného organismu, jehož růst se vymkl kontrole. Dělení buněk v něm není omezováno žádným regulačním mechanismem. Proces vzniku a vývoje nádorů se označuje jako karcinogeneze. Karcinogeneze je mnohastupňový proces, při kterém dochází ke kumulaci mutací určitých genů, vedoucích k porušení normální funkce jimi kódovaných proteinů podílejících se zejména na regulaci dělení a diferenciaci buňky a stabilitě genomu [16, 27].

Nádorová onemocnění jsou v ekonomicky vyspělých státech druhou nejčastější příčinou úmrtí. V roce 1990 bylo na světě zaznamenáno přes osm milionů nových případů těchto onemocnění (v tomtéž roce zemřelo přes 5 milionů nemocných). V roce 2000 to bylo již o dva miliony více. Podle Národního onkologického registru bylo v České republice v roce 2000 nově hlášeno přes 56 tisíc nádorových onemocnění. Průměrně v České republice

každý den na následky této diagnózy zemře okolo 76 pacientů, to je ročně přes 27 tisíc osob [16].

Brukvovité zeleniny mají ze všech zelenin nejprůzračnější vliv na lidské zdraví. Výzkumy prokazují, že brukvovité zeleniny snižují riziko tvorby chemicky indukovaných nádorů, tj. rakoviny vyvolané příjmem karcinogenů. Značnou měrou se uplatňují produkty rozkladu glukosinolátů, tedy isothiokyanáty. Biologická úloha glukosinolátů a jejich degradačních produktů není zcela přesně známa. Může se uplatňovat i vliv ostatních přítomných sloučenin v zelenině jako jsou L-askorbová kyselina, α -tokoferoly, β -karoteny, fenolové antioxidanty (např. flavonoidy) a vláknina. Některé rozkladné produkty jako benzylisothiokyanát a 2-fenylethylisothiokyanát vznikající z aromatických glukosinolátů (glukonasturtiinu a glukotropaeolinu) aktivují detoxikační enzymy. V brokolici, ředkvi a ředkvičce je přítomen glukorafanin, z kterého vzniká 4-methylsulfinylbutylisothiokyanát (sulforafan) - $\text{CH}_3\text{-SO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NCS}$, který má příznivé účinky na zdraví. V čínském zelí tvoří indolové glukosinoláty 95 %. Jedním z nejvýznamnějších produktů jejich degradace je 3-hydroxymethylindol [10]

Z glukorafaninu se hydrolýzou uvolňuje sulforafan vykazující chemoprotektivní vlastnosti. Kromě sulforafanu se může z glukorafaninu hydrolýzou uvolnit i sulforafan-nitril, který však nevykazuje výrazné chemoprotektivní vlastnosti a jeho tvorba je závislá na teplotě při technologické úpravě [26].

Uvedené isothiokyanáty snižují toxicitu xenobiotik snižováním *cytochrom-P450* enzymové aktivity a indukováním aktivity *glutathion-S-transferázy*. Samotné glukosinoláty se nezdají být v tomto směru bioaktivní [14].

Konzumace tepelně upravené brukvovité zeleniny vede k příjmu glukosinolátů, zatímco konzumace syrové zeleniny vede k příjmu směsi isothiokyanátů a glukosinolátů. Faktor, který ovlivňuje poměr těchto dvou složek, je intenzita žvýkání [14].

Jedním z nejvýznamnějších degradačních produktů glukobrassicinu (3-indolylmethyl) je 3-hydroxymethylindol. Reakcí 3-hydroxymethylindolu s L-askorbovou kyselinou vzniká askorbigen, který byl dříve považován za vázanou formu vitamínu C. Po perorálním příjmu dochází v žaludku k celé řadě reakcí vedoucí k produktům s antikarcinogenními a antimutageními vlastnostmi. Vzniká např. 5, 11-dihydroindol(3,2- β)karbazol, který inhibuje některé karcinogeny poškozující DNA [1, 2].

Sulforafan je přirozený isothiokyanát. Podobně jako indol-3-karbinol se uvolňuje v žaludku po konzumaci brokolice nebo jiné brukvovité zeleniny. Sulforafan byl objeven v roce 1991 Dr. Paulem Talalayem a jeho kolegy z univerzitní lékařské školy Johnse Hopkinse. Bylo prokázáno, že sulforafan zvyšuje zásobu detoxifikačních enzymů v játrech, střevech i dalších tkáních. Sulforafan je považován za monofunkční induktor, tzn., že reguluje řadu enzymů II. fáze [28, 29].

Aktivita isothiokyanátů, jako např. sulforafanu, působí proti mnoha lidským patogenům (např. *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida* sp.) a také může přispět k léčivým vlastnostem připisovaným brukvovité zelenině, např. zelí a hořčice, které byly používány k obkladům. Antagonistické interakce nejsou omezené pouze na mikroorganismy, ale byly popsány účinky např. i proti škrkavkám. Po dlouhou dobu jsou sledovány pozitivní účinky i proti škůdcům a predátorům [15].

Konzumace rozkladných produktů indolových glukosinolátů, které jsou obsažené přirozeně ve většině brukvovitých zelenin, ze kterých má největší zastoupení 3-indolylmetyl – indol-3-karbinol, vede ke snížení počtu a velikosti karcinomů prsu u pokusných potkanů. Prekurzorem indol-3-karbinolu je glukosinolát glukobrassicin. Několik studií prokázalo, že indol-3-karbinol zvyšuje množství 2-hydroxyestrogenu (neaktivní forma estrogenu vznikající v procesu odbourávání) a zároveň snižuje koncentraci 16- α -hydroxyestrogenu (tato forma způsobuje mutace prsních buněk a vzniká více u žen, které rakovinu prsu už mají nebo jsou ohroženy vyšším rizikem vzniku) [26, 30, 31].

Isothiokyanáty vytvořené z indolových glukosinolátů jsou nestabilní a spontánně se rozkládají na indol-3-karbinol a indol-3-acetonitril, thiokyanátové ionty a 3,3'-diindolylmethan. Indol-3karbinol může spontánně kondenzovat v kyselém prostředí v žaludku za tvorby sloučenin blízkých struktuře, toxicitě a karcinogenně 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxinu. Navzdory této toxicitě je indol-3-karbinol vědci zkoumán pro jeho potencionální chemopreventivní vlastnosti [15].

Isothiokyanáty narušují několik kroků v procesu karcinogeneze [22]:

- Blokují poškození DNA
- Inhibicí enzymů I. fáze (hlavně *cytochrom-P450*)
- Detoxikací reaktivních karcinogenů indukcí enzymů II. fáze (např. *glutathion-S-transferáza*)

- Inhibují buněčný růst zastavením buněčného cyklu
- Odstraňují premaligní a maligní buňky aktivací *apoptózy*.

Rozkladem alifatických glukosinolátů vznikají slabé strumigenní isothiokyanáty. Některé vykazují antimikrobní a insekticidní účinky. Jiné produkty, které vznikají, jsou nitrily kya-noepithioalkany a ty naopak působí hepatotoxicky a nefrotoxicky. Alkylglukosinoláty s hydroxylovou skupinou se vyskytují jak v zelenině, tak v řepce. Jejich nejznámějším zástupcem je progoitrin. Vyskytuje se ve dvou izomerech. Epiprogoitrin byl nalezen v brokolici, nicméně oproti progoitrinu je méně stabilní během vaření a zmrazování. Hydrolyzou progoitrinu vzniká silně strumigenní goitrin, který inhibuje syntézu thyreoidních hormonů (thyroxin, trijodthyronin) a přenos jodu ve štítné žláze. Středně silnou strumigenní aktivitu vykazuje thiokyanátový anion, vznikající z nestabilních aromatických a indolových isothiokyanátů. U člověka nebyly strumigenní účinky prokázány a vzhledem k běžně konzumovaným množstvím brukvovitých rostlin je nelze považovat za významné [1, 2].

Nadlimitní koncentrace rozkladných produktů glukosinolátů ve vedlejších řepkových produktech (řepkový šrot, pokrutiny a výlisky), které jsou přidávány do krmných směsí, vede ke snížení příjmu krmiva a následným nižším váhovým přírůstkům u zvířat [32].

1.5 Stanovení glukosinolátů

V současnosti jsou glukosinoláty diskutovány z hlediska zdravotního, jak pozitivního vlivu, tak i negativního. Z tohoto důvodu se jejich obsah v potravinách a krmivech musí sledovat.

Stanovení glukosinolátů bylo v minulých letech prováděno dle normy platné České republice, která využívá metodu plynové chromatografie (GC). Vzhledem ke vstupu naší země do Evropské unie je při posuzování semena řepky olejky nutné mít na zřeteli nařízení Evropské komise číslo 2316/1999. Jedná se o stanovení glukosinolátů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) podle ČSN EN ISO 9167-1 [32].

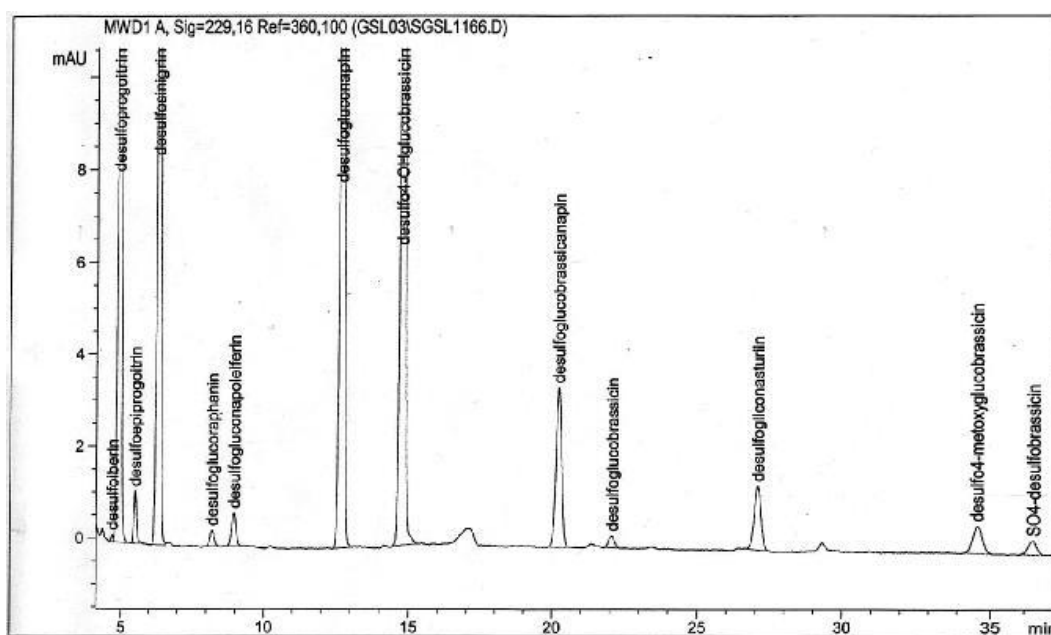
- Stanovení glukosinolátů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC):

Touto metodou lze stanovit 13 jednotlivých glukosinolátů, na rozdíl od plynové chromatografie, kterou lze stanovit jen 4 glukosinoláty [33].

Robustní SPE-HPLC-DAD je metoda sloužící pro stanovení glukosinolátů a isothiokyanátů v zelenině. Isothiokyanáty v zelenině lze stanovit pomocí selektivní extrakce a následnou derivatizací a HPLC-DAD analýzou. Limit stanovení je 10 μmol sinigrinu/kg čerstvé zeleniny [14].

Analýza merkapturových kyselin, které se odvozují od isothiokyanátů, nacházející se v moči, je dobrým indikátorem příjmu isothiokyanátů. K tomuto stanovení slouží specifická metoda SPE-HPLC-MS/MS. Limit stanovení je 0,5 $\mu\text{mol/l}$ v moči, což přibližně odpovídá množství sinigrinu (allylglukosinolátu) obsaženého v jednom listu růžičkové kapusty. Na základě klinických pokusů se zjistilo, že se vylučuje více merkapturových kyselin, pokud se zelenina konzumuje syrová než tepelně upravená [14].

Na Obr. 5 je znázorněn chromatogram stanovení limit glukosinolátů v řepkovém semeni HPLC metodou.



Obr. 5. Chromatogram řepkového vzorku metodou HPLC [32]

- Stanovení glukosinolátů metodou plynové chromatografie (GC):

Principem stanovení glukosinolátů je jejich extrakce vroucí vodou s následným odpařením extraktu a silylací vzorku. Danou metodou lze stanovit čtyři glukosinoláty přítomné v řepkovém semeni – glukonapin, glukobrassicinapin, progoitrin a napoleiferin [32].

Analýza se provádí pomocí plynové chromatografie s plamenoionizačním detektorem (FID). Semena řepky se pomelou v mlýnku na kávu a přes noc přesuší v sušárně při teplotě 50 °C. Tuk obsažený v pomletém vzorku se vyextrahuje petroleterem v Soxhletově extraktoru. Odtučněný řepkový šrot se znovu přemele. Extrakce pro GC metodu se provádí pouze vodou [32].

Účinnost extrakce glukosinolátů metanolem nebo vroucí vodou v neodtučeném řepkovém šrotu jsou srovnatelné. Velká výhoda extrakce vroucí vodou je ve výrazném snížení práce s vysoce toxickým vroucím metanolem [33].

1.6 Legislativa v oblasti glukosinolátů

Obsah glukosinolátů a jejich degradačních produktů v zelenině a olejninách je upravován zákony a normami platnými v České republice i Evropské unii:

- Norma ČSN EN 9167 – 1 Semeno řepky – Stanovení obsahu glukosinolátů. Část 1: Metoda využívající vysokovýkonnou kapalinovou chromatografii.

ČSN EN ISO 9167-1 Tato část ISO 9167 uvádí metodu pro stanovení obsahu různých glukosinolátů v semenech řepky s použitím vysokovýkonné kapalinové chromatografie. Tato metoda nestanoví glukosinoláty, které jsou v molekule glukózy a mají v obchodovatelných semenech řepky malý význam.

Metodu je možné použít pro stanovení sumy glukosinolátů v neodtučeném i odtučněném řepkovém šrotu metodou HPLC extrakcí metanolem nebo vroucí vodou při použití sinigrinu jako vnitřního standardu [33].

Rychlá metoda pro stanovení obsahu glukosinolátů pomocí rentgenové fluorescenční spektrometrie je uvedena v ISO 9167-2.

- Norma ČSN EN 9167 – 2 Semeno řepky – Stanovení obsahu glukosinolátů. Část 2: Metoda rentgenové fluorescenční spektrometrie (XRF).

ČSN EN ISO 9167-2 Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 9167-2:1997. Evropská norma EN ISO 9167-2:1997 má status české technické normy. Tato druhá část (ČSN EN) ISO 9167 specifikuje rychlou metodu pro stanovení celkového obsahu glukosinolátů v semenech řepky metodou rentgenové fluorescenční spektrometrie (XRF). Metoda je použitelná pro semeno řepky s normálním obsa-

hem proteinů od 19 % do 23 %. Pro semeno řepky, které má obsah proteinů mimo tento rozsah, se při výpočtu celkového obsahu glukosinolatů musí brát v úvahu celkový obsah proteinů.

- Norma ČSN 46 2300-2 (2006), Olejnatá semena - Část 2: Semeno řepky.

Tato norma stanoví požadavky pro semeno řepky jako zemědělského výrobku určeného k průmyslovému zpracování. Požadavky na jakost jsou přizpůsobeny podmínkám stanoveným v ČSN EN ISO 658:2002 Olejnatá semena - Stanovení obsahu nečistot, která mění termíny a definice a současně i způsob posuzování nečistot v olejnatých semenech užívaných jako základní surovina k průmyslovému zpracování. Norma stanoví požadavky na organoleptické vlastnosti semene řepky, jeho zdravotní nezávadnost a fyzikální i chemické vlastnosti. Dále stanoví základní hodnoty jednotlivých jakostních ukazatelů pro dodávání.

Tato norma stanoví podmínky pro veškeré dodávky semene řepky olejky (*Brassica napus L. var. napus*) určeného na výrobu olejů. Podle této normy se také posuzuje semeno řepky ladní (řepice ozimá) *Brassica campestris L. syn. Brassica rapa L.*, pokud je určeno pro výrobu olejů.

Podle výchozí odrůdy se rozlišuje řepka:

- 1) s nízkým obsahem glukosinolatů, do 25 mmol/g semene při 8 % vlhkosti;
 - 2) ostatní, s obsahem glukosinolatů nad 25 mmol/g semene při 8 % vlhkosti.
- Norma ČSN 46 2300-4 (2006), Olejnatá semena - Část 4: Semeno hořčice.

Tato norma stanoví požadavky pro semeno hořčice jako zemědělského výrobku určeného k průmyslovému zpracování. Požadavky na jakost jsou přizpůsobeny podmínkám stanoveným v ČSN EN ISO 658:2002 Olejnatá semena - Stanovení obsahu nečistot. Norma stanoví požadavky na organoleptické vlastnosti semene hořčice, jeho zdravotní nezávadnost a fyzikální i chemické vlastnosti. Dále stanoví základní hodnoty jednotlivých jakostních ukazatelů pro dodávání.

Tato norma stanoví podmínky pro veškeré dodávky semene hořčice bílé (*Sinapis alba L.*), semene černohořčice seté (*Brassica nigra*) a semene brukve hořčičné (*Brassica juncea*) určených pro výrobu olejů. Neplatí pro semeno hořčice určené pro přímou spotřebu.

- Novelovaná vyhláška 544/2003 Sb., která upravuje Zákon č. 92/1996, o nežádoucích látkách a produktech; v případě řepky se jedná o vinylthiooxazolidin – nejtoxičtější součást hydrolytického rozkladu progoitrinu. Z progoitrinu ($R \Rightarrow CH_2 = CH - CHOH - CH_3$) hydrolyticky vzniklý 2- hydroxy -3- butenylisothiokyanát cyclizuje za vzniku 5-vinyl-2-oxazolidinethionu [5].
- Zákon o osivu a sadbě pěstovaných rostlin č. 92/1996 Sb.: obsah glukosinolátů pro kategorii Z 15 $\mu\text{mol/g}$ semene, pro kategorii C 20 $\mu\text{mol/g}$ semene.

2 ZDROJE GLUKOSINOLÁTŮ

Nejvýznamnějším zdrojem glukosinolátů je brukvovitá zelenina, mezi nejdůležitější zástupce patří hořčice (černá, bílá), řepka olejka, zelí (červené, bílé), brokolice, křen.

2.1 Brukvovitá zelenina

Brukvovitá zelenina patří do čeledi brukvovité (*Brassicaceae*), starším názvem křížaté (*Cruciferae*). Řadí se do třídy rostlin dvouděložných, řádu kaparotvarých (*Capparidales*). Tato čeleď zahrnuje přes 350 rodů a 3 500 druhů, nacházejících se hlavně v mírném pásu severní polokoule [34].

Jednotlivé druhy zeleniny čeledi *Brassicaceae* se dále třídí do následujících skupin [34]:

- zelenina košťálová (brokolice, kadeřávek, kapusta, květák, zelí hlávkové),
- zelenina kořenová (křen, ředkev, ředkvička, vodnice, tuřín),
- zelenina listová (čínské a pekingské zelí, řeřicha).

Nejvýznamnějšími zdroji glukosinolátů pro člověka jsou zelí, květák, kedluben, brokolice a růžičková kapusta, méně pak příležitostně konzumované zeleniny, jako ředkvička, řeřicha, křen aj. Množství glukosinolátů v rostlině je různé v jednotlivých částech rostliny. V semenech se nachází mnohem více glukosinolátů než v plodech či květech rostliny. Průměrný obsah ve vegetativních částech rostlin je 100–2 500 mg/kg, v semenech se nachází až 60 000 mg/kg [1, 2].

Glukosinoláty jsou obsaženy ve všech částech rostliny, vyskytuje se až 15 různých glukosinolátů ve stejné části rostliny. Obecně platí, že obsah glukosinolátů je v semeni největší (až 10 % sušiny), zatímco množství v listech, stoncích a kořenech bývá až desetkrát menší. Koncentrace se liší v závislosti na typu pletiva, fyziologickém věku, zdravotním stavu rostliny a její výživě. Například v hlávkovém zelí je průměrný obsah glukosinolátů 83 mg/kg, v ředkvi 928 mg/kg [9, 37].

Při enzymatickém štěpení se uvolňují hořčičné silice, jež se nazývají hořčice, které dráždí sliznici zažívacího traktu a zlepšují zažívání. Vyskytují se převážně v křenu, ředkvičce a semenech hořčic. Jedná se o plodiny rodu *Brassica*, jejichž všechny části těla rostliny – listy, stonky, šešule i semena se vyznačují ostře palčivou chutí a vůní [35].

V zeleninách čeledi brukvovitých se běžně vyskytuje 20 – 30 glukosinolátů. [2].

Pro brukvovité zeleniny je charakteristický obsah několika desítek různých glukosinolátů odpovědných za ostré aroma. Pro své strumigenní účinky jsou řazeny mezi antinutriční faktory, interferující s metabolismem jodu. Průměrný příjem glukosinolátů v České republice se pohybuje okolo 10 mg na osobu a den, u vegetariánů to může být i více než desetinásobek. Samotné glukosinoláty jsou sloučeniny většinou indiferentní, biologické účinky vykazují produkty jejich degradace. Malé dávky těchto složek obsažené v zelenině mají u normálních stravovacích návyků spíše ochranný účinek, tudíž jsou v přiměřeném množství žádoucí, např. sulforafan v brokolici, v ředkvičce a ředkvi, dále pak některé indolové deriváty v čínském zelí [7, 9].

V tabulce 2 jsou uvedeny některé druhy zeleniny čeledi *Brassicaceae* spolu se zastoupením přítomných glukosinolátů. Odhadovaný příjem glukosinolátů je uveden v Tab. 3.

Tab. 2 Přehled glukosinolátů přítomných v zeleninách rodu *Brassica* [7]

Druh zeleniny (Latinský název)	Zastoupení glukosinolátů*	Množství [mg/100g]
Hlávkové zelí bílé (<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>alba</i>)	SINI, IBER, GB, NGB	26 – 275
Hlávkové zelí červené (<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>rubra</i>)	SINI, IBER, GB, NGB	16 – 120
Růžičková kapusta (<i>Brassica oleracea</i> convar. <i>Oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>)	SINI, NAPI, PROG, GB	47 – 129
Květák (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>)	SINI, IBER, GB, NGB, MGB	14 – 208
Kadeřavá kapusta (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i>)	SINI, PROG, GB	40 – 140

Růžičková kapusta (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>)	SINI, NAPI, PROG, GB	145 – 394
Kedluben (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>)	SINI, IBER, GB, NGB	109 - 200
Brokolice (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>)	SINI, RAFA, GB, NGB	40 – 340
Čínské zelí (<i>Brassica chinensis</i> var. <i>chinensis</i>)	SINI, GB, NGB, MGB	17 – 136

* Alifatické – SINI – sinigrin, NAPI – glukonapin, PROG – progoitrin, NAPO – glukonapoleiterin, RAFS – glukorafesatin, IBER – glukoiberin, RAFE – glukorafanin, RAFE – glukorafenin,

Aromatické – TROP – glukotropaeolin, NAST – glukonasturtiin,

Indolové – GB – glukobrassicin, NGB – neoglukobrassicin, MGB – 4-hydroxyglukobrassicin

Odhadovaný příjem glukosinolátů uvádí Tab. 3.

Tab. 3 Příjem glukosinolátů [7]

Země	Odhadovaný příjem glukosinolátů [mg/osobu/den]
Japonsko	112
Velká Británie	46
USA	15
Kanada	13
ČR	10

2.1.1 Zelí bílé (*Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *alba*, *B. rubra*), červené

Zelí hlávkové stejně jako další u nás pěstované košťáloviny, bylo vyšlechtěno z divoce rostoucí brukve zelné (*Brassica oleracea*). Ta pochází ze Středomoří a dodnes roste na pobřeží Středozemního moře a Atlantiku. Hlávkové zelí je co do produkce a spotřeby nej-

významnější zeleninou v České republice a patří k nejrozšířenějším zeleninám na světě. Má široké uplatnění ve výživě, je možné je konzervovat a lze jej dlouhodobě skladovat (4 – 5 měsíců). Bílé zelí (*B. alba* Obr. 6) se konzumuje syrové, vařené a jinak tepelně zpracované, ale také konzervované a kvašené, červené zelí (*B. rubra* Obr.6) se konzumuje hlavně v syrové podobě např. jako součást salátů [37].

V zelí se vyskytují vitaminy a minerální látky (využitelnost vápníku je srovnatelná s využitím vápníku z mléka), je také zdrojem mnoha aromatických látek, např. dimetylsulfid a dimetyltrisulfid, které vznikají rozkladem *S*-metylcysteinsulfoxidu, cysteinu a metioninu. Významné ve složení vůně zelí jsou také nitrily, které vznikají jako vedlejší produkty rozkladu glukosinolátů, jejich aroma připomíná česnek. Hlavní složkou nitrilů bývá allykyanid(but-3-enitрил). Celkem bylo v zelí identifikováno na 80 vonných látek. Svěží vůně po krájení je způsobena přítomností allylisothiokyanátu. Vůně vařeného zelí je způsobena především allylisothiokyanát (prop-2-en-1-ylisothiokyanát), který vzniká ze sinigrinu, but-3-en-1-yl-isothiokyanátu vznikající z glukonapinu a 2-fenyletylisothiokyanát, který je přeměněn z glukonasturtiin. Glukonasturtiin má nízké prahové hodnoty rozpoznatelnosti – asi 6 µ/kg [1, 28].

Glukosinoláty, které jsou obsaženy v zelí:

- sinigrin, glukoiberin, glukosibarin, 4-hydroxyglukobrassicin



Obr. 6. Bílé a červené zelí [38]

2.1.2 Růžičková kapusta (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*)

Růžičková kapusta (Obr. 7) je v řadě států označována jako kapusta bruselská, protože pochází z Belgie. Pěstuje se v západní, střední a severní Evropě, v Japonsku a Americe

Růžičková kapusta má svoji typickou a těžko zaměnitelnou, vcelku intenzivní chuť, kterou buď máme, nebo nemáme rádi. Významně se na chuť a vůni podílí allylisothiokyanát vznikající ze sinigrinu [37].

Růžičková kapusta je jednou z nutričně nejhodnotnějších zelenin. Přítomné chuťové a aromatické složky jsou typické obsahem sirných sloučenin [37].

Glukosinoláty sinigrin a progoitrin v růžičkové kapustě vyvolávají vjem hořké chuti [25].

Přítomné glukosinoláty v růžičkové kapustě [2, 25]:

- sinigrin, glukoiiberin, glukosibarin, 4-hydroxyglukobrassicin, neoglukobrassicin, progoitrin



Obr. 7. Růžičková kapusta [39]

2.1.3 Hořčice bílá, černá, rolní (*Sinapis alba*, *Brassica nigra*, *S. arvensis*)

Hořčice spolu s řepkou olejnou patří mezi nejvíce pěstované odrůdy z rodu *Brassica* v České republice. Pomleté či rozdrcené semeno v kombinaci s moštem z vína, se solí a cukrem bylo známé jako „mostum ardeum“ (ostrý mošt) – palčivě sladká až slaná kašovitá pochutina. Ta podporuje trávení a zvýrazňuje chuť některých jídel [8].

Druhy hořčic a jejich dominantní glukosinolát a isothiokyanát [8]:

- Hořčice bílá – sinalbin 12 – 18 %, 4-hydroxybenzylisothiokyanát 6 – 7 %
- Hořčice sareptská – sinalbin 3 – 5 %, allylisothiokyanát 0,7 – 1,5 %
- Hořčice černá – sinalbin 3 – 5 %, allylisothiokyanát 0,7 – 1,5 %
- Hořčice habešská – sinalbin 3 – 5 %, allylisothiokyanát 0,7 – 1,5 %.



Obr. 8. Semeno hořčice bílé [40]

Allylisothiokyanát je hlavní složkou pálivých hořčičných past vyráběných ze semen hořčice černé. Obsah allylisothiokyanátu v pastách z černé hořčice bývá 10 – 18 g/kg. Obsah sinigrinu v těchto semenech se pohybuje v rozmezí 90 – 100 % z celkového obsahu glukosinolátů, které zaujímají hmotnost 18 – 45 g/kg. V množství 0 – 11 % je přítomen glukonapin a v množství 0 – 0,3 % glukobrassicin. V semenech hořčice bílé (Obr. 8) je hlavní a v podstatě jedinou mírně pikantní složkou 4-hydroxybenzylisothiokyanát, který vzniká ze sinalbinu. Obsah sinalbinu se pohybuje v mezích 20 – 50 g/kg. Množství 4-hydroxybenzylisothiokyanátu v semenech bývá 15 – 37 g/kg [1].

2.1.4 Řepka olejná (*Brassica napus* L.)

Řepka olejná (Obr. 10) má v současnosti silné postavení v českém i evropském zemědělství. Zaujímá největší osevní plochy v České republice i v zahraničí. Řepka je plodina pěstovaná jak za účelem potravinářským, krmivářským, tak i za účelem technologickým – k produkci biopaliv a hnojiv. Rostlinné oleje jsou obnovitelné a snadno biologicky odbouratelné zdroje. Řepka je relativně šlechtitelsky tvárným druhem, u kterého došlo v krátké době k několika významným kvalitativním změnám [7, 8].

Glukosinoláty a jejich degradační produkty – isothiokyanáty jsou nejvíce sledovány v řepce olejně, kvůli jejich strumigenním vlastnostem. Řepkové pokrutiny, šroty a výlisky po vylisování oleje jsou přidávány do krmiv. Vysoký obsah glukosinolátů a isothiokyanátů vede k menším přírůstkům na váze zvířete [8].



Obr. 9. Semeno řepky olejné [41]

Semeno řepky olejky je hodnoceno dle normy ČSN 46 2300-2, která uvádí požadavky na kvalitu (Tab. 4) [32].

Glukosinoláty v krmných směsích z výlisků řepky olejky snižují jejich stravitelnost, poškozují štítnou žlázu a vážou selektivně jód. Vysoký obsah glukosinolátů v semenech řepky byl snížen geneticko – šlechtitelskými prostředky. Dnes se již vysokoglukosinolátové odrůdy řepky nepěstují, pěstují se řepky se sníženým obsahem glukosinolátů na desetinu původního množství. Odrůdy pěstované v naší republice jsou výhradně “00“ typu, tj. s nízkým obsahem glukosinolátů po vylisování ve šrotu (a nízkým obsahem erukové kyseliny v oleji) [7, 8].

Obsah glukosinolátů v řepce je dán především genotypem a mezi odrůdami existují také velké rozdíly. Povolené množství glukosinolátů v krmných směsích je různé pro jednotlivé kategorie zvířat. Optimální podíl řepkových krmiv pro monogastriční zvířata je 7 – 9 % krmné dávky, pro dojnice max. 2,5 kg extrahovaného šrotu pro zvíře a den [8].

Tab. 4 Požadavky na kvalitu řepky [8]

Požadavek	Glukosinoláty
“00“ odrůdy v osivu stupně SE a E	do 15 $\mu\text{mol/g}$ semene při 12 % vlhkosti
“00“ odrůdy v osivu stupně C	do 20 $\mu\text{mol/g}$ semene při 12 % vlhkosti
Merkantilní semeno – tržní typ A	do 30 $\mu\text{mol/g}$ beztukové sušiny

Merkantilní semeno – tržní typ B	nad 30 $\mu\text{mol/g}$ beztukové sušiny
Norma pro obsah vinyloxazolidinemionu	do 3 500 mg/kg
Norma pro přihlášení do státních odrůdových zkoušek a registraci odrůdy	do 18 $\mu\text{mol/g}$ semene při 9 % vlhkosti a 49 % oleje

U brukve řepky olejky bylo nalezeno 14 různých glukosinolátů, přičemž v semeni se vyskytují především alkylglukosinoláty, v zelené hmotě jsou pak více obsaženy indolové glukosinoláty. Hlavním alkenylglukosinolátem v řepce olejné je progoitrin, který představuje 30 – 80 % z celkového obsahu glukosinolátů v řepkovém semeni [32].

Přehled glukosinolátů u řepky olejky [32]:

• Alk(en)ylglukosinoláty

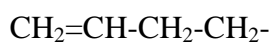
HLAVNÍ

-R

1) Progoitrin



2) Glukonapin



3) Glukobrassicapin



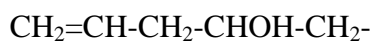
VE STOPOVÉM MNOŽSTVÍ

-R

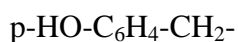
4) Sinigrin



5) Napoleiferin



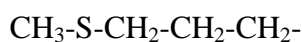
6) Sinalbin



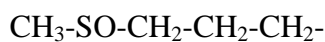
7) Glukoerucin



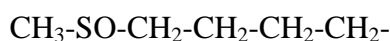
8) Glukoibervirin



9) Glukoiberin



10) Glukoraphanin



11) Glukoalysin $\text{CH}_3\text{-SO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$

12) Glukonasturiin $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$

- Indolyl glukosinoláty

13) Glukobrassicin 3-indolylmethyl

14) Neoglukobrassicin N-methoxy-3-indolylmethyl

2.1.5 Brokolice (*Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *cymosa*)

Brokolice je příbuzná rostlina kvěťáku a konzumuje se syrová, vařená či dušená. Je bohatá na vitamín C, β -karoten, vitamin E, B₁, B₂, kyselinu listovou a také na minerální látky jako draslík, vápník, fosfor. Obsahuje také velké množství vlákniny [37].

Složky aroma brokolice jsou podobné vonným složkám u zelí. Nositelům typického aroma brokolice je 3-(methylsulfinyl)propylisothikyanát, jehož prekurzorem je glukoiiberin [1].

Semena či mladé výhonky brokolice (Obr. 10.) mohou obsahovat množství glukosinolátů 70 – 100 mmol/g v čerstvém stavu, s méně jak 1 % indolových glukosinolátů a vyváženým množstvím alifatických glukosinolátů, glukorafaninu (16,6 mmol/g čerstvé hmotnosti), glukoerucinu (5,41 mmol/g čerstvé hmotnosti), glukoiiberinu a 4-hydroxyglukobrassicinu (0,71 mmol/g čerstvé hmotnosti). Dozríváním se obsah glukosinolátů snižuje na 1 – 4 mmol/g čerstvé hmoty s téměř rovnoměrným rozložením alifatických (glukorafanin 1,08 mmol/g čerstvé hmotnosti) a indolových glukosinolátů (glukobrassicin 1,67 mmol/g čerstvé hmotnosti a neoglukobrassicin 0,62 mmol/g čerstvé hmotnosti). Ačkoli se zastoupení jednotlivých indolů mezi různými odrůdami brokolice liší, zpravidla 67 % celkového obsahu glukosinolátů u zralé brokolice představují právě indoly, u mladých výhonků brokolice se jedná o méně než 10 % [33].

Celkový obsah glukosinolátů představuje 22,7 mmol/g u mladých výhonků a 3,37 mmol/g čerstvé hmotnosti u zralé brokolice. Sto gramová porce zralé brokolice poskytuje 108 mmol methylsulfinylalkyl glukosinolátů a 229 mmol indolových glukosinolátů, to odpovídá zhruba 50 – 100 mg glukosinolátů ve 100 g porci. Glukosinoláty představují asi 0,05 – 0,1 % z čerstvé hmotnosti brokolice. Stáří rostliny se zdá být tedy velmi důležitým ukazatelem složení glukosinolátů v rostlinách [15, 28, 29].



Obr. 10. Brokolice [42]

2.1.6 Řeřišnice hořká (*Cardamine amara*)

Řeřišnice hořká náleží do čeledi *Brassicaceae*. V minulosti byla řeřišnice (Obr. 11) využívána jako zelenina a koření a také se používala v lidovém léčitelství. glukosinoláty jsou hlavními obsahovými látkami a biologicky aktivními látkami. Tyto sloučeniny vyvolávají u řeřišnice dojem palčivé, popřípadě štiplavé chuti. Dominantními glukosinoláty v řeřišnici hořké jsou glukotropeolin, sinalbin, glukolimnantin, neoglukobrassicin, 4-hydroxyglukobrassicin, 4-methoxyglukobrassicin [11].



Obr.11. Řeřišnice hořká [43]

2.1.7 Křen selský (*Armoracia rusticana*)

Křen selský (Obr. 12) je vytrvalá bylina dorůstající až 1 metr vysoko. Má složené květenství, nejdůležitější je ovšem kořen extrémně štiplavé chuti, až 60 cm dlouhý. Nastrouhané kořeny podporují trávení a působí proti kašli. Hlavním isothiokyanátem, který způsobuje

pikantní chuť a aroma je allylisoithiokyanát. Allylisoithiokyanát vzniká ze sinirginu, který je v křenu obsažen 27 – 29 g/kg (což odpovídá 8 – 9 g/kg allylisoithiokyanátu). Na pálivé chuti se podílí dále pak 2-fenylethylisoithiokyanát (vznikající z glukosinolátu glukonasturtiinu, jehož obsah se pohybuje v mezích 4,2 – 7,2 g/kg) a další minoritní isoithiokyanáty [1].



Obr. 12. Křen selský [44]

2.1.8 Ředkev setá (*Raphanus sativus*)

Ředkev setá je malá zelenina, patřící do čeledi brukvovité. Má nezaměnitelnou chuť a vůni. Aroma ředkve seté (Obr. 13) způsobuje (3E)-4-(methylthio)but-3-en-1-ylisoithiokyanát, který vzniká enzymatickou reakcí z glukosinolátu glukorafasatinu, je současně nositelem štiplavé chuti. Jeho obsah bývá 1 – 3 g/kg, obsah vzniklého isoithiokyanátu se pohybuje v rozmezí 0,5 – 1 g/kg [1].



Obr. 13. Ředkev setá [45]

Nejzávažnějším škůdcem rostlin čeledi brukvovité je dřepčík z rodu Brouci a z řádu Motýli záředníček polní u řepky ozimé, řepice ozimé, ředkve olejné a ozimé hořčice sareptské, přičemž nejvíce napadenou listovou plochu měla ozimá hořčice sareptská a dále i řepice ozimá. Záředníček je nejrozšířenějším škůdcem křížokvėtųch rostlin na celém světě. Na některých druzích ale nepřežívají larvy, díky vysoké koncentraci glukosinolátů na povrchu

listů. Nejmenší napadení bylo hořčice bílé. Největší počet rostlin s výskytem hálek způsobených na kořenových krčcích larvami krytonosce zelného a zároveň největší počet hálek byl na podzim u řepky jarní a dále byl větší výskyt napadení sledován i u řepky ozimé. Nejmenší napadení bylo zjištěno u hořčice bílé a dále i u ředkve olejné. Ke kladení vajíček docházelo především v noci, kdy jsou průduchy na povrchu rostliny uzavřené. Pozorováním kladení vajíček na povrch rostliny bylo prokázáno, že se glukosinoláty vyskytují nejenom ve stavebních pletivech, ale také v pletivech krycích. Glukosinoláty mají kvantitativní vliv na kladení vajíček [3, 7].

Chorobami a škůdci byla jednoznačně nejméně napadena hořčice bílá a dále ředkev olejná (většinou zcela bez výskytu škodlivých organismů). Nejvíce napadanou plodinou byla řepice ozimá a dále ozimá hořčice sareptská. Lze usuzovat, že dominantní glukosinoláty obsažené v hořčici bílé (sinalbin) a ředkvi olejné (glukorafanin) by mohly hrát významnou roli z hlediska výskytu škodlivých organismů u těchto plodin [7].

ZÁVĚR

V dnešní době jsou glukosinoláty diskutovány především z hlediska zdravotního, jak pozitivního, tak i záporného vlivu. Z tohoto důvodu se jejich výskyt v potravinách a krmivech musí sledovat. Jejich obsah v zelenině a semenech olejnin z čeledi brukvovitých upravuje legislativa České republiky a Evropského společenství.

Nejdůležitějším zdrojem glukosinolátů pro člověka je brukvovitá zelenina, která je oblíbená hlavně v asijských zemích. Do brukvovité zeleniny patří brokolice, hořčice, křen, kapusta, ředkev, zelí, řeřišnice, řepka.

Konzumace brukvovité zeleniny vede k příjmu glukosinolátů nebo isothiokyanátů. Žvýkáním syrové nebo vařené zeleniny se glukosinoláty z velké části štěpí na příslušné isothiokyanáty. Procesem žvýkání, řezáním, krájením či jinou mechanickou úpravou se uvolňuje enzym *myrosináza*, který katalyzuje degradační proces glukosinolátů. Tepelnou úpravou zeleniny se tento enzym inaktivuje, a tak dochází výhradně k příjmu samotných výchozích glukosinolátů. Obecně platí, že konzumací syrové zeleniny se uvolňují glukosinoláty, zatímco konzumací tepelně upravené zeleniny se uvolňují isothiokyanáty. K absorpci isothiokyanátů dochází v tenkém střevu, glukosinoláty se musí podrobit kyselé hydrolýze nebo degradaci střevní mikroflórou na isothiokyanáty. Po absorpci mohou isothiokyanáty tvořit konjugáty s glutathionem a dále se metabolizovat jako merkapturové kyseliny. Absorbované isothiokyanáty se vylučují ledvinami jako jejich odpovídající merkapturové kyseliny.

Některé rozkladné produkty glukosinolátů, jako benzylisothiokyanát a 2-fenylethylisothiokyanát, vznikající z aromatických glukosinolátů (glukonasturtiin a glukotropaeolinu) aktivují detoxikační enzymy. V brokolici, ředkvi a ředkvičce je přítomen glukorafanin, ze kterého vzniká 4-methylsulfinylbutylisothiokyanát (sulforafan), který má pozitivní zdravotní účinky – antikarcinogenní, zvyšuje zásobu detoxifikačních enzymů v játrech, střevech i dalších tkáních. Vzniká působením střevních mikroorganismů na glukorafanin a dále se pak ve formě sulforafaninu vstřebává v organismu. Sulforafan také působí proti mnoha lidským patogenům (např. *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida* sp.).

Bylo zjištěno, že konzumace isothiokyanátů pozitivně ovlivňuje růst rakovinných buněk. Při jejich perorálním podání se snižuje výskyt rakoviny prsu, žaludku, střev a jiných druhů rakoviny.

Rozkladem alifatických glukosinolátů vznikají i strumigenní isothiokyanáty. Některé z nich vykazují antimikrobní a insekticidní účinky. Jiné vznikající produkty - nitrily kya-noepithioalkany, naopak působí hepatotoxicky a nefrotoxicky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin II*. Praha: OSSIS, 2009. 344 s. ISBN 978-8086659-17-6.
- [2] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. 342 s. ISBN 80-902391-2-9
- [3] GRIFFITHS, D., DEIGHTON, N., BIRCH, N.A.E., et al.: Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. *Phytochemistry*, 57, 5, 2001, 693-700.
- [4] ROTREKL, V.: Rostlinné β -glukosidasy. *Chemické listy* 1998, 92, 883 – 893. ISSN 1213-387.
- [5] PADILLA, G., CARTEA, M.E., VELASCO, P et al.: Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassica rapa. *Phytochemistry*, 68, 4, 2007, 536-545.
- [6] GANG, D. R. *The Biological Activity of Phytochemicals*. Washington: Springer, 2011, 210 s. ISBN 978-1-4419-6961-3.
- [7] ZUKALOVÁ, H., VÝMOLA, J. *Glukosinoláty a krmivářství*. Praha: ČZU v Praze. Katedra rostlinné výroby AF, 2003. 194 s. ISBN 80-213-1007-3.
- [8] PRUGAR, J., a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. 1. vyd. Praha, 2008, 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2
- [9] *Glucosinolates*. [online]. [cit. 2011-03-21]. Dostupný na:
<http://boneslab.bio.ntnu.no/Paal/glucosin.htm>
- [10] STRATIL, P. *ABC zdravé výživy*. Brno : Stratil, 1993. 348 s. ISBN 80-900029-8-6.
- [11] PATOČKA, J., JAKL, J.: Glukosinoláty řeřeshnice hořké. [online], [cit. 2011-2-24].
Dostupné na:
<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=367> –
- [12] HOLM, F. *Glukosinoláty a zdraví. (Glucosinolates and Health)*. Projekt programu FLAIR-FLOW 4. Food Group Denmark, březen 2002. [cit. 2011-03-22] Dostupné na: <http://flairflow4.vscht.cz/SME36.doc>
- [13] BOTTI, M. G., TAYLOR, M. G., BOTTING, N. P. Studies on the Mechanism of Myrosinase. Investigation of the effect of glycosyl acceptors on enzymatic activity. *J. Biol. Chem*, 270, ISSN 20530-20535.

- [14] KVASNIČKOVÁ, A. *Zdravotní prospěch zeleniny z čeledi brukvovitých.. ÚZPI*, článek: 78439, 29.6. 2004. [cit. 2011-03-22] Dostupné na:
<http://www.bezpecnostpotravin.cz/%5CIndex.aspx?ch=552&typ=1&val=78439&ids=0>
- [15] FAHEY, J.W., ZALCMANN, A.T., TALALY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 2001, 5 – 51.
- [16] STRATIL, P., KUBÁŇ, V. Princip karcinogeneze a přírodní karcinogenní sloučeniny v potravinách. *Chemické listy*. 2004. 98, 379 – 387. ISSN 1213-7103.
- [17] Obrázek. *Schéma znázorňující přeměnu glukorafaninu střevními mikroorganismy na sulforafan, který je absorbován do těla*. Dostupné z www:
<http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/image/GA?id=C0FO00110D>
- [18] MATUSHESKI, N. V., JEFFERY, E. H. Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 12, 2001, 5743-5749.
- [19] MATUSHESKI, N.V., JUVIK, J.A., JEFFERY, E.H. Heating decrease epithiospecifier protein activity and increase sulforaphane formation in broccoli. *Phytochemistry*, 65, 9, 2004, 1273-1281.
- [20] MANDELOVÁ, L., TOTUŠEK, J. Antimutagenní aktivita brokolicové šťávy ošetřené vysokým tlakem. Praha: *Hygiena*, 2006, 3, 1, 6-10. ISSN 1214-6722.
- [21] FOWKE, J.H., et al. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Research*, 2003, 15, 63, 2003, 3980-3986.
- [22] ZHANG, Y. Molecular mechanism of rapid cellular accumulation of anticarcinogenic isothiocyanates. *Carcinogenesis*, 22, 3, 2001, 425-431.
- [23] SIBHATU, M.B. - SMITHERMAN, P.K. – TOWNSEND, A.J. – MORROW, CH.S. Expression of MRP1 and GSTP1-1 modulate the acute cellular response to treatment with the chemopreventive isothiocyanate, sulforaphane. *Carcinogenesis*. 29, 4, 2008, 807–815.
- [24] MESKIN, M.J. et al. *Phytochemicals – mechanism of action*. Boca Raton, FL: CRC Press, USA, 2003.

- [25] OERLEMANS, K et al. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, 95, 2005, 19 – 29.
- [26] MANDELOVÁ, L., ZENDULKA, O., TOTUŠEK, J. Antimutagenní a imunomodulační účinky sulforafanu a indol-3-karbinolu. Martin : Jesseniova lékařská fakulta Univerzity K, 2006. *Podpora zdraví, prevence a hygiena v teorii a IV*, 353 – 361. ISBN 80-88866-39-1.
- [27] ŠMARDOVÁ J. – ŠMARD A J. Jak vznikají nádory? Universitas. Revue Masarykovy univerzity, 2004, č.4 Dostupné na World Wide Web: http://universitas.muni.cz/2005_4/smarda.html [cit-2011-5-18]
- [28] FAHEY, J.W.- TALALAY, P. Antioxidant functions of sulphoraphane: A potent inducer of phase II detoxication enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 1997, 973-979.
- [29] VANG, O. et al. Effect of dietary broccoli on antioxidant enzymes. *Clinical Chemistry*, 41, 12, 1995, 1910-1912.
- [30] AMITABHA, R. Cancer preventive role of selected dietary factors. *Indian Journal of Cancer*, 42, 1, 2005, 11-20.
- [31] KLEIN, D. S., MICHNOVICZ, J.J. *Rakovina prsu a zdravá výživa*. 1. vyd. Praha: Pragma, 2002, 216 s. ISBN 80-7205-910-6.
- [32] ZBÍRAL, J., MATĚJOVÁ, E. Bulletin. 8, 2, 2004, 27 – 47. ISSN 121-5466.
- [33] HRNČIŘÍK, K., VELÍŠEK, J., DAVÍDEK, J. Srovnání HPLC a GLC metody pro stanovení glukosinolátů s použitím referenčního materiálu. *Zeitschrift fuer Lebensmittel – Untersuchung und Forschung*, 206, 1998, s. 103-107. ISSN 0044-3026.
- [34] JELÍNEK, J., ZICHÁČEK, V. *Biologie*. Olomouc: 1. vyd. Nakladatelství Olomouc s.r.o., 2003. 6. Vydání. 574 s. ISBN 80-7182-159-4
- [35] BULÁNKOVÁ, I. *Léčivé rostliny na naší zahradě*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2005, 83 s. ISBN 80-247-1274-1
- [36] KOPEC, K. *Zelenina ve výživě člověka*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2010, 159 s. ISBN 978-80-247-2845-2
- [37] MALÝ, I. *Pěstujeme květák, zelí a další košťálové zeleniny*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2003, 87 s. ISBN 80-247-0409-9
- [38] Obrázek. *Bílé a červené zelí*. Dostupný z www:

http://www.bio-gaertner.de/Articles/I.Pflanzen-dieDatenbank/Gemuese-Salate_H-L/Kohl-WeiS-Rot-Butter-Wirs.html

[39] Obrázek. *Růžičková kapusta*. Dostupný z www:

<http://www.kuchyne.cz/vareni-a-stolovani/ruzickova-kapusta-zazene-jarni-unavumame-recept.aspx>

[40] Obrázek. *Hořčice bílá*. Dostupný z www: http://hobby.idnes.cz/foto.aspxc=A080715_085803_herbar_lud&strana=&foto=LUD246afd_horcice.

[41] Obrázek. *Semeno řepky olejné*. Dostupný z www: http://peggytrojans.rajce.idnes.cz/Vyziva_-_vzorky_krmiv

[42] Obrázek. *Brokolice*. Dostupný z www: <http://www.toplekar.cz/archiv-clanku/brokolice-umi-zastavit-rust-nadoru.html>

[43] Obrázek. *Řeřišnice hořká pravá*. Dostupný z www: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id39082/>

[44] Obrázek. *Křen selský*. Dostupný z www: http://hobby.idnes.cz/kren-selsky-armoracia-rusticana-dau-/herbar.asp?c=A080716_154045_herbar_lud

[45] Obrázek. *Ředkev setá*. Dostupný z www: <http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id84489/?taxonid=39256>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

-R	postranní řetězec
kDa	jednotka hmotnosti molekuly <i>myrosinasy</i>
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UV	ultrafialové záření
NAD(P)H	redukováná forma NAD ⁺ nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
CYP450	isoenzym <i>cytochrom-P450</i>
GST	glutation-S-transferáza
DNA	deoxyribonukleonová kyselina
GC	plynová chromatografie
SPE-HPLC-DAD	robustní validovaná vysokoúčinná kapalinová chromatografie
FID	chromatografie s plamenoionizačním detektorem
XRF	rentgenová fluorescenční spektrometrie
“00“	nízkoglukosinolátová odrůda řepky olejně

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Obecná struktura glukosinolátů.....</i>	<i>11</i>
<i>Obr. 2. Obecné schéma enzymatického rozkladu glukosinolátů.....</i>	<i>14</i>
<i>Obr. 3. Schéma rozpadu glukosinolátů.....</i>	<i>15</i>
<i>Obr. 4. Přeměna glukorafaninu na sulforafan.....</i>	<i>17</i>
<i>Obr. 5. Chromatogram reálného vzorku metodou HPLC.....</i>	<i>24</i>
<i>Obr. 6. Bílé a červené zelí.....</i>	<i>31</i>
<i>Obr. 7. Růžičková kapusta.....</i>	<i>32</i>
<i>Obr. 8. Květ a semeno hořčice bílé.....</i>	<i>33</i>
<i>Obr. 9. Květ a semeno řepky olejně.....</i>	<i>34</i>
<i>Obr. 10. Brokolice.....</i>	<i>37</i>
<i>Obr. 11. Řeřišnice hořká.....</i>	<i>37</i>
<i>Obr. 12. Křen selský.....</i>	<i>38</i>
<i>Obr. 13. Ředkev setá.....</i>	<i>38</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1</i> Názvy a substituenty nejrozšířenějších glukosinolátů.....	12
<i>Tab. 2</i> Přehled glukosinolátů přítomných v zeleninách rodu <i>Brassica</i>	29
<i>Tab. 3</i> Příjem glukosinolátů.....	30
<i>Tab. 4</i> Požadavky na kvalitu řepky.....	34