

Výskyt a využití flavonoidů v potravinách

Tereza Francová

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tereza Francová**
Osobní číslo: **T17917**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Výskyt a využití flavonoidů v potravinách**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

Provedte literární rešerši na témata:

- 1. Stručná charakteristika flavonoidů.**
- 2. Výskyt flavonoidů v potravinách a jejich aplikace v potravinářství.**
- 3. Možnosti syntéz přírodních flavonoidů a jejich derivátů.**

II. Praktická část

- 1. Pokuste se o přípravu některého ze zástupců flavonoidů.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] ANDERSEN, O., M., MARKHAM, R., M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. 2005, CRC Press, Boca Raton. eBook ISBN: 978-1-4200-3944-3.

[2] Mezinárodní elektronické databáze (Scopus, SciFinder, Web of Science...).

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Zdeňka Prucková, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

Příjmení a jméno: Obor:

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

.....

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 nevýdělečně 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). Odpirá-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 užít 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

Teoretická část této bakalářské práce byla zaměřena na charakterizaci jednotlivých skupin flavonoidních látek a popis jejich významných zástupců. Práce také obsahuje přehled rostlinných surovin a potravin, ve kterých se flavonoidy vyskytují. Vzhledem k velkému množství flavonoidů nebylo možné je v práci všechny obsáhnout. Z tohoto důvodu jsou uvedeny jen ty, které se vyskytují v největší míře nebo ty, které mají nejvyšší přínos pro lidské zdraví. Dále jsou v práci uvedeny možnosti syntéz některých flavonoidních sloučenin. Cílem praktické části bylo připravit některý ze zástupců flavonoidů.

Klíčová slova: flavonoidy, potraviny, anthokyaniny, proanthokyanidiny, flavany, flavony, flavonoly, flavanoly, chalkony, aurony, isoflavony

ABSTRACT

Theoretic part of this bachelors thesis defines particular groups of flavoloid substances and their important representatives. It contains overview of vegetable materials, foodstuff and list of flavonoids contained. There is a big amount of them, so i focused just on the most famous ones or which provides the biggest benefits for human health. Next I mentioned some possibilities of flavonoid synthese. The aim of practical part of this thesis was synthetize some representatives of flavonoids.

Keywords: flavonoids, foods, anthocyanins, proanthocyanidins, flavans, flavons, flavonols, flavanols, chalkons, aurons, isoflavons

Děkuji vedoucí mé bakalářské práce paní Ing. Zdeňce Pruckové, Ph.D. za vedení, poskytnutí cenných rad a připomínek při zpracování práce. Dále děkuji mé rodině, přátelům a spolužákům za důvěru, podporu a pomoc při studiu. Zvláštní poděkování patří mé sestře za všechno, co pro mě dělá.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA FLAVONOIDŮ	11
1.1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY	11
1.2 KLASIFIKACE.....	12
1.3 ZÁSTUPCI FLAVONOIDŮ	15
2 VÝSKYT A VÝZNAM FLAVONOIDŮ A JEJICH APLIKACE V POTRAVINÁŘSTVÍ	17
2.1 VÝSKYT V POTRAVINÁCH	17
2.2 DETEKCE FLAVONOIDŮ V POTRAVINÁCH.....	20
2.3 VÝZNAM V POTRAVINÁCH	21
2.4 APLIKACE.....	21
3 MOŽNOSTI SYNTÉZ PŘÍRODNÍCH FLAVONOIDŮ A JEJICH DERIVÁTŮ	23
4 METODIKA PRÁCE	29
4.1 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	29
4.2 SYNTÉZA FLAVONU	29
4.3 SYNTÉZA 3-HYDROXYFLAVONU	31
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	32
5.1 SYNTÉZA FLAVONU	32
5.2 SYNTÉZA 3-HYDROXYFLAVONU	36
6 ZÁVĚR	37
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38
8 SEZNAM OBRÁZKŮ	43

ÚVOD

Flavonoidy se spolu s fenolickými kyselinami, taniny a saponiny řadí mezi polyfenolické látky. Jsou to biologicky významné aktivní látky, které si animální organismy neumí syntetizovat. Jako sekundární metabolity rostlin plní nepostradatelnou funkci ochrannou a signalizační (ve formě barviv). Jsou přítomny jako glykosidy v květech, listech a především v plodech celé řady rostlin. Vyskytují se v ovoci, zelenině, cereáliích, semenech a bobech ale i v nápojích připravených z různých částí rostlin (čaj, káva, pivo, víno, ovocné a zeleninové šťávy).

Dnes už víme, že mají důležitou funkci i pro člověka. Jejich nezanedbatelný kladný vliv na zdraví je důvodem, proč vzbuzují značný zájem. Měli bychom věnovat pozornost jejich dostatečnému příjmu v každodenní stravě. Různé druhy flavonoidů působí jako významné antioxidanty, dále také jako prevence mnohých chorob například kardiovaskulárních.

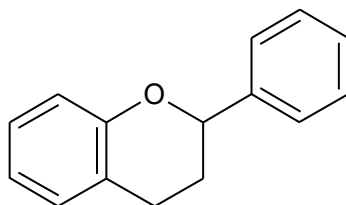
V dnešní době je známo přes 4000 látek řadících se mezi flavonoidy a jejich počet stále roste s izolací a identifikací nových sloučenin.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA FLAVONOIDŮ

1.1 Úvod do problematiky

Flavonoidy jsou nejběžnější a široce obsaženou skupinou rozmanitých látek patřící mezi rostlinné fenoly. Řadí se mezi sekundární metabolity produkované různými druhy zelených rostlin včetně zelených řas. U živočichů a hub se nevyskytují s výjimkou mořských korálů a hub. Ve většině případů jsou flavonoidy přítomny ve formě glykosidů a to ve vakuolách květů, listů, stonků nebo kořenů. Některé flavonoidy se vyskytují jako škrobový exsudát nebo vosk na listech, kůře a pupenech. Pro život rostlin jsou důležité především jako pigmenty. Pro člověka jsou přední jejich chuťové vlastnosti a biologické účinky. [1]



Obrázek 1: flavan

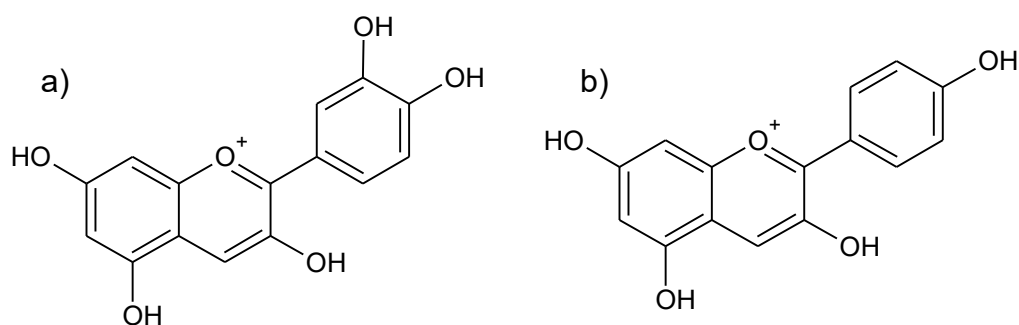
Na nejjednodušší chemické úrovni obsahují flavonoidy dva beznázobné kruhy (A a B) spojené tříuhlíkatým řetězcem v uspořádání C₆-C₃-C₆. U většiny flavonoidů je C₃ řetězec součástí pyranového kruhu. Flavonoidy jsou odvozeny od 2*H*-chromenu, substituovaného v poloze C₂ fenylovou skupinou, tedy flavanu (obrázek 1). A kruh obvykle pochází z molekuly resorcinolu nebo florigluciolu syntetizované v acetátové dráze. B kruh vzniká šikimátovou cestou. [2, 3]

Klasifikace flavonoidů je založena na stupni oxidace pyranového kruhu. Běžně se setkáváme s kruhy substituovanými hydroxylovými nebo methoxylovými skupinami. Jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Glykosidy nebo hydroxyskupiny na jádře zvyšují rozpustnost ve vodě. Přítomnost methylových (nebo jiných) skupin na jádře naopak rozpustnost ve vodě snižuje. Přírodní flavonoidy jsou chemicky velmi stabilní a nemají zvláštní požadavky na skladování. V rostlinách tvoří flavonoidy pigmenty, dále látky jinak sensoricky aktivní (chuťové) nebo látky biologicky aktivní. [4, 5]

1.2 Klasifikace

Anthokyany

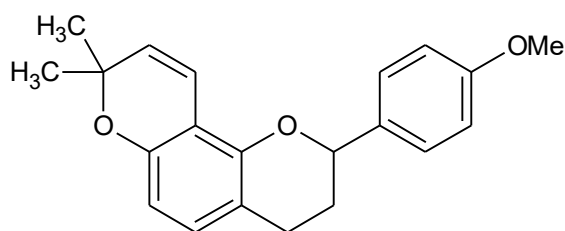
Anthokyanová barviva jsou nezbytná pro zajištění atraktivity rostlin pro ptáčí a hmyzí opylovače, jejich výskyt v mladých listech a semenech je dočasný. Hromadí se obvykle v buňkách pokožky plodů ale i v mladých listech a podzemních listech listnatých stromů jako reakce na nedostatek živin a vody, teplotní změny, změny v množství UV záření, a v souvislosti s poškozením nebo pro obranu proti okusu před býložravci. Barva podzimního listí je také závislá na obsahu látek v půdě (kationtů), na kyselosti a alkalitě půdy. Anthokyany se vyskytují ve spektru barev od červené a hnědé, přes fialovou až po modrou, v závislosti na pH. S jeho změnou se přeskupují elektrony reagující s fotony viditelného světla. Mezi anthokyany řadíme kyanidin (obrázek 2a), červený pelargonidin (obrázek 2b), hnědý delphinidin, šedohnědý petunidin, tmavě fialový myrtillin nebo červenohnědý malvidin. [6, 7]



Obrázek 2: a) kyanidin, b) pelargonidin

Flavany

Jsou to flavonoidy vykazující silnou biologickou aktivitu. Mezi zástupce patří například tupichinol C, kazinol R a acutifolin C (obrázek 3) [6].



Obrázek 3: acutifolin C

Proanthokyanidin

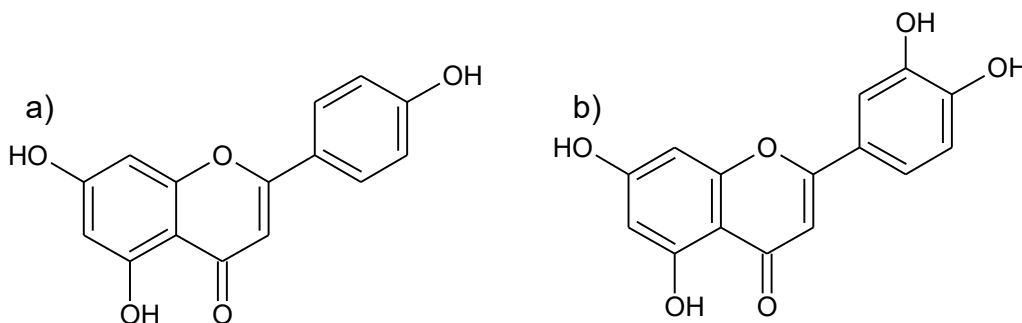
Tyto látky mají velmi pozitivní účinky na lidské zdraví, především na močové ústrojí. Jedná se o širokou skupinu látek s vysokou molekulovou hmotností. Vysoce polymerované molekuly se obtížně analyzují, proto se často v literatuře setkáme pouze s oligomerními proanthokyanidiny. Pokud jsou složeny z jednoduchých flavan-3-olů, pak rozlišujeme tři typy proanthokyanidinů, typ-A, typ-B a typ-C. Typ-B se v přírodě vyskytuje nejčastěji. Mezi jeho podskupiny patří prokyanidiny (zástupci jsou katechin-(4 α →8)-gallokatechin a epikatechin-(4 β →8)-epigallokatechin), prodelphinidiny (zástupci jsou gallokatechin-(4 α →6)-gallokatechin a epigallokatechin-(4 β →8)-epigallokatechin) a propelargonidiny. [4, 8]

Leukoanthokyanidiny

Leukoanthokyanidiny můžeme zařadit mezi proanthokyanidiny. Jsou bezbarvé a štěpí se na bezbarvé katechiny nebo epikatechiny a barevné anthokyanidiny. [6, 8]

Flavony

Flavony jsou rostlinné pigmenty žluté barvy nerozpustné v tucích. Najdeme je v mnoha rodech běžných rostlin a to v celé rostlině. Vznik jejich glykosidů závisí na množství světla, proto jsou lokalizovány převážně v listech, v podzemních částech méně. Ve své struktuře obsahují hydroxylové skupiny i kyslík. Nejvýznamnějšími zástupci jsou apigenin (obrázek 4a), apigetrin a luteolin (obrázek 4b). [9, 10]

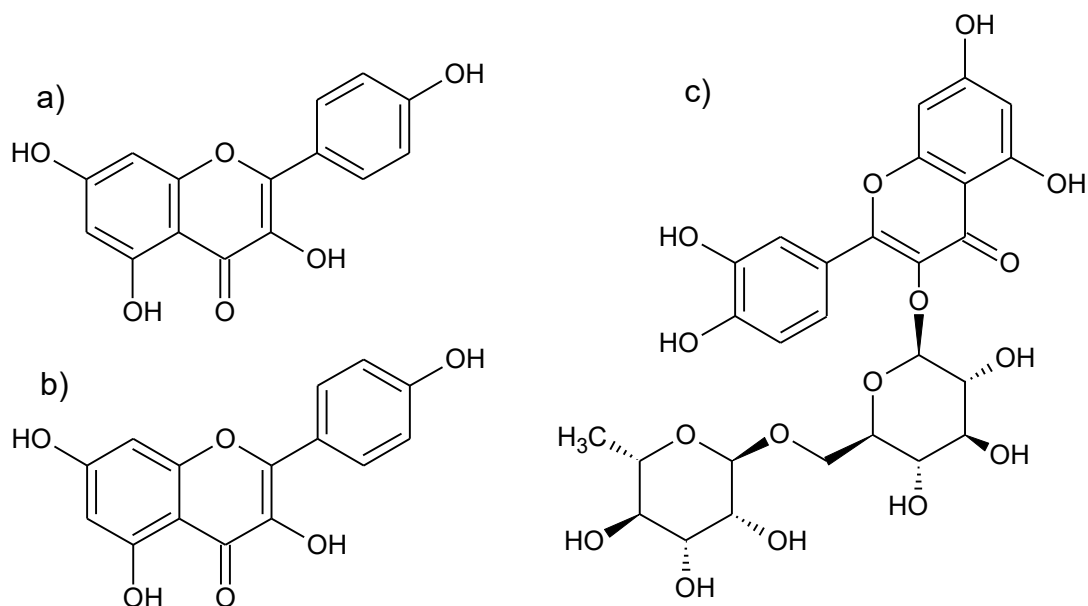


Obrázek 4: a) apigenin, b) luteolin

Flavonoly

Flavonoly jsou špatně rozpustná nebo zcela nerozpustná žlutá barviva. Ve své struktuře obsahují více hydroxylových skupin. Mezi flavonoly patří kvercetin (obrázek 5a),

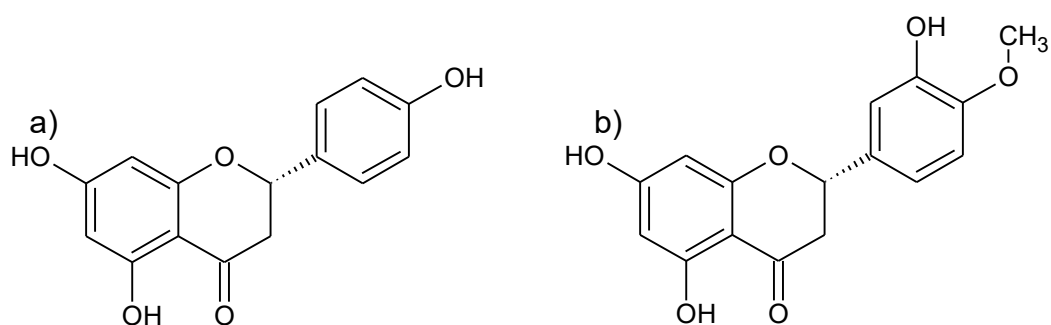
isokvercitrin, kaempferol (obrázek 5b), rutin (obrázek 5c), hesperidin, chrysin a myricetin. [9, 10]



Obrázek 5: a) kvercetin, b) kaempferol, c) rutin

Flavanony

Flavanony jsou nejvíce zastoupené fenolické látky v citrusech. Mají světle žlutou barvu a jejich přítomnost v plodech je důvodem hořké chuti citrusů. Postrádají dvojné vazby v C kruhu své struktury. Každý flavanon má dvě stereoisomerní formy díky asymetrickému C₂ uhlíku. Díky možnostem hydroxylace, methoxylace či methylace existuje mnoho struktur. Zástupci jsou naringin, naringenin (obrázek 6a), hesperetin (obrázek 6b). [6, 9, 10]



Obrázek 6: a) naringenin, b) hesperetin

Chalkony

Tyto látky jsou světle zelená barviva, prekurzory jiných flavonoidů v rostlinném metabolismu. Jejich přírodní i syntetické deriváty mají antifungální, antivirové nebo

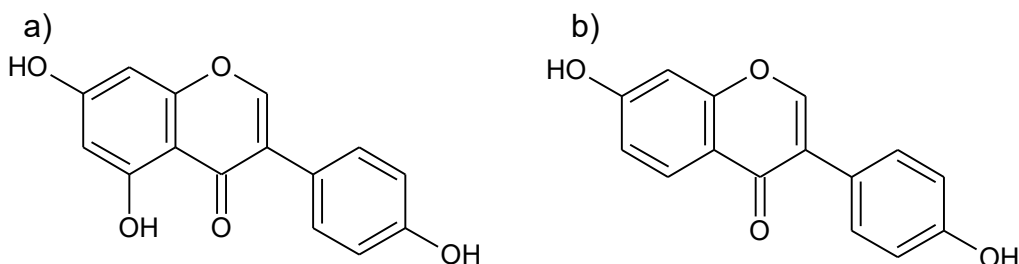
insekticidní účinky. Mezi zástupce patří tepanon, galiposin, linderol A nebo anthyllin. [6, 11]

Aurony

Výrazně žluté látky poskytující barvu květů mnoha okrasných květin. Vyskytují se v přírodě zřídka, do dnes bylo popsáno asi 100 auronů z přírodních zdrojů, zejména z kvetoucích rostlin. Jsou biologicky syntetizovány z chalkonů. Vyskytují se častěji v (Z)-konfiguraci, která je stabilnější. Zástupci jsou aureusidin a sulfuretin. [12, 13]

Isoflavony

Isoflavony jsou skupinou bezbarvých fytoestrogenů, mají estrogení nebo častěji antiestrogení účinky podobně jako lidské hormony. Nejlépe prozkoumány jsou isoflavony obsažené v sóji, kde indukují geny vyvolávající tvorbu hlíz. Zástupci této skupiny jsou genistein (obrázek 7a), daidzein (obrázek 7b), glycitein a biochanin A. [9, 14]



Obrázek 7: a) genistein, b) daidzein

Flavoalkaloidy

Flavoalkaloidy je nově objevená skupina přírodních látek s vysokým potenciálem využití v medicíně. Prvním objeveným flavonovým alkaloidem byl ficin a jeho isomer isoficin v tropickém fikusu (*Ficus pantoniana*). [15]

1.3 Zástupci flavonoidů

Kyanidin

Kyanidin (obrázek 2a) je jedním z nejčastěji se vyskytujících anthokyanů. Nejvíce je přítomen jako glykosid. Z rostlin se získává ve formě hnědo-červeného krystalického chloridu. Kyanidin je v kyselém prostředí červený, v alkalickém modrý. [8, 18]

Kvercetin

Kvercetin (obrázek 5a) se díky pozitivním účinkům na lidské zdraví využívá jako potravinový doplněk. Obsažen je především v čerstvých syrových potravinách, varem, louhováním a skladováním se jeho množství významně snižuje. Může být použit jako standart svíravé chuti při sensorických porovnávacích zkouškách. [17, 18]

Kaempferol

Kaempferol (obrázek 5b) je v čisté formě žlutý prášek. Kromě silné antioxidační schopnosti má mnoho pozitivních účinků, působí protizánětlivě, antimikrobiálně, protirakovinně, analgeticky a antialergicky. Často se vyskytuje spolu s kvercetinem, se kterým působí synergicky. [18]

Rutin

Rutin (obrázek 5c), dříve nazývaný vitamín P, je významně obsažen v pohance. Má silné léčebné účinky, nejvýznamnější je ochrana před kardiovaskulárními nemocemi. Jeho struktura zahrnuje aglykon kvercetin a rutinosu spojených glykosidickou vazbou. Mezi nejvýznamnější zdroje rutinu patří pohanka. [19, 20]

Genistein

Genistein (obrázek 7) je jeden z nejrozšířenějších isoflavonů. Hlavním zdrojem je sója, v ostatních luštěninách se vyskytuje málo. Má podobnou strukturu jako lidský estrogen. Vzniká hydrolýzou glykosidu genistinu. Tato hydrolýza se často odehrává až v žaludku působením kyselin nebo ve střevě působením bakteriálních enzymů. [9, 21]

2 VÝSKYT A VÝZNAM FLAVONOIDŮ A JEJICH APLIKACE V POTRAVINÁŘSTVÍ

2.1 Výskyt v potravinách

Flavonoidy jsou rozpustné nejen ve vodě a v alkoholech, jsou také dobře rozpustné v tucích a olejích. Pro jejich extrakci jsou vhodné vodné roztoky ethanolu a methanolu v koncentracích 80-90%. Z potravin jsou významnými zdroji především zelenina, ovoce, cereálie, luštěniny a ořechy, z nápojů čaj, kakao, pivo, víno, cider. Množství obsažených flavonoidů se významně liší i mezi kultivary stejného druhu. Jejich tvorba závisí ve velké míře na množství světla, proto se nejvíce vyskytují v listech a nadzemních částech rostlin. Dalšími významnými faktory jsou genetické faktory, prostředí (klimatické pásmo, nadmořská výška, typ půdy, počasí během vývoje), klíčení, stupeň zralosti, zpracování a skladování. [3, 22]

Cereálie

Výskyt zejména flavonů a flavonolů v obilných zrnech (zástupci apigenin, kaempferol a kvercetin). U tmavě zbarvených zrn fialové kukuřice anthokyaniny. Ječmen obsahuje hlavně prokyanidin a prodelphinidin. Pohanka tatarská obsahuje ve svém zrně katechiny a flavony (v množství asi 40mg/g), které efektivně redukuje triacylglyceroly a cholesterol v krevním séru a v játrech. Jedná se především o rutin, dále apigenin a luteolin. Čirok a proso obsahují velké množství proanthokyanidinů. Kultivary čiroku, např. čirok dvoubarevný může obsahovat až 10% flavonoidů v sušině. Pseudocereálie merlík je bohatým zdrojem kaempferolu, kvercetinu a myricetinu. [3, 7, 23]

Luštěniny

Luštěniny obsahují nejvíce taniny a isoflavony. Největší podíl najdeme v tmavých odrůdách - v červených fazolích, v tzv. mungo fazolích a v černých fazolích, konkrétně myricetin, kaempferol a kvercetin, významným zdrojem je také bob obecný, který obsahuje velké množství prokyanidinů a katechinů (katechin, epikatechin a epigallokatechin). V sójových bobech se nachází isoflavony genistein, daidzein a glycitein. Jsou obsaženy i ve všech sójových produktech, jako v mouce (zde nejvíce), nápoji ze sójové mouky, sójové omáče, v tofu nebo misu (v těchto produktech méně, z důvodu fermentace). Tolice vojtěška

obsahuje luteolin a chrysin, které podporují množení hlízkových bakterií rodu *Rhizobium*. Cizrna beraní obsahuje anthokyanidiny delphinidin, kyanidin a petunidin. [6, 21, 24]

Ovoce

Bobule se vyznačují vysokým obsahem anthokyanidinů, především ve slupkách. Třešně, višně, maliny, jahody a jiné červené plody, ale také hrušky a banány, obsahují pelargonidin, peonidin, apigenidin a kyanidin. Švestky, meruňky a broskve obsahují kvercetin a katechiny (epikatechin a katechin). Všechny citrusové plody obsahují flavanony naringin, naringenin a velké množství hesperidinu. V citronech se také vyskytují žlutý luteolin a diosmin. Slupky téměř všech druhů ovoce jsou bohaté na flavony chrysin, apigenin a rutin. Grepfruity a všechny bobule, včetně hroznového vína a oliv obsahují flavonoly kaempferol, kvercetin a myricetin. Jablka a hrušky obsahují flavanoly katechin a epikatechin. [6, 7, 24]

Zelenina

V zelenině najdeme méně flavonoidů než v ovoci, přesto mohou být jejich významným zdrojem. Z hlediska flavonoidů je nejbohatší zdrojem červená cibule, která obsahuje velké množství flavonolů kvercetinu a kaempferolu. Lilek, stejně jako jiné fialové plody je bohatý na anthokyaniny pelargonidin, peonidin a kyanidin. Množství anthokyanů najdeme i ve slupkách červených brambor. Hlavními flavony petržele je apigenin, dále jeho glykosid apigetrin a flavanon naringenin. Cibule, kapusta, brokolice, salát a pórek jsou zdrojem flavonolů kvercetinu, kaempferolu a myricetinu. Množství závisí na barvě, více flavonolů obsahují zelenější druhy. Pažitka, celer, řapíkatý celer, locika salátová, chilli paprika i kapie, některé druhy melounů (kantalupe, vodní meloun) obsahují flavony apigenin a luteolin. [9, 21, 25, 26]

Suché skořápkové plody

Arašídové slupky jsou bohatým zdrojem prokyanidinů, katechinu a epikatechinu. Pekanové ořechy, mandle, kešu ořechy a pistácie obsahují z ořechů nejvíce flavonolů (katechinu a epikatechinu). Mandle obsahují na rozdíl od jiných ořechů množství kvercetinu. Jiné flavonoidy se v jádrech vyskytují v malém množství. Resveratrol se vyskytuje pouze v arašídech a pistáciích. V makadamových a para ořeších nebyly zjištěny žádné flavonoidní látky. [22, 27, 28]

Réva vinná a víno

Víno je známým zdrojem zdravý prospěšných fenolických látek. Anthokyany v hroznech jsou kyanidin, peonidin, petunidin, delphinidin a malvidin. Vyskytují se v slupce bobulí, s výjimkou odrůd teinturier, které obsahují anthokyany i v dužině. Flavanoly se vyskytují v hroznech jako monomery, oligomery a polymery. V bobulích jsou lokalizovány většinou ve slupce a semenech, malé množství monomerů a dimerů bylo zjištěno i v dužině, nejvíce opět v odrůdách teinturier (např. Alicante Bouschet). Hlavními monomery jsou katechin, epikatechin a epikatechin-3-gallát. Flavony se vyskytují jako glykosidy v listech, hlavně luteolin-7-glukosid a apigenin-7-glukosid. [6]

Čaj a káva

Nejvíce zastoupené flavonoidy v čaji jsou flavan-3-oly. Čajové lístky obsahují flavanoly katechin, epikatechin, epikatechin-gallát, epigallokatechin, epigallokatechin-gallát, gallokatechin a gallokatechin-3-gallát. Dále obsahují flavonoly kvercetin, myricetin a kaempferol. Významnou skupinou flavonoidů v čaji jsou theaflaviny, a to theaflavin-3-gallát, theaflavin-30-gallát a theaflavin-3,30-digallát. V malém množství jsou zastoupeny i flavony apigenin a luteolin. Množství flavonoidů se snižuje se zvyšujícím se stupněm fermentace. Zelený čaj, který se řadí mezi nefermentované čaje (neproběhla u něj oxidace) obsahuje asi 15 700mg ve výluhu ze 100g vysušených lístků, to je asi 2,5x více flavanolů než oolong a 4x více než čaj černý, tedy čaje fermentované (proběhla u nich oxidace). Pu-erh obsahuje asi 500mg flavanolů ve výluhu ze 100g vysušených lístků. Toto malé množství je způsobeno nejen oxidací ale i pravou fermentací lístků. [4, 29]

Kávové zrna v zeleném stavu obsahují malé, nevýznamné množství flavonoidů, flavanolů a prokyanidinů. Pražením zrn se obsah zvyšuje. [30]

Kakaové boby

Kakaové boby jsou bohaté nejen na flavonoidy ale i na další polyfenolické látky způsobující typickou chuť bobů, trpkou až svíravou. Celkový obsah polyfenolů v kakaových bobech se podle druhu pohybuje mezi 6-8% u fermentovaných bobů. Více flavonoidů, vzhledem k jejich znehodnocení během fermentace, obsahují boby nefermentované, a to 12-18%. Z flavonoidů jsou nejvíce zastoupeny flavanoly katechin, epikatechin, gallokatechin, epikatechin-gallát a *trans*-resveratrol a také proanthokyanidiny. [3, 31]

Byliny

Významným zdrojem flavonoidu silymarinu je ostropestřec mariánský. V extraktu je obsaženo 4-6% silymarinu. Rozšířenou bylinou je pupalka používaná k výrobě oleje, který je bohatý na proanthokyanidiny, katechiny a isoflavony. aloe pravá a máta dlouholistá obsahují flavon luteolin. Bříza bělokorá a konopí seté jsou zdrojem kvercetinu. V lékořici najdeme flavanon likviritin. Měsíček lékařský obsahuje flavonol isorhamnetin. Flavonol rutin je v jinanu dvoulaločném. V heřmánku pravém je obsažen žlutý flavanol apigenin. [7, 22, 24]

2.2 Detekce flavonoidů v potravinách

Nejpřesnější a proto nejčastější technikou je HPLC (High-performance liquid chromatography). Další možností detekce flavonoidů v potravinách i nepoživatelných rostlinných materiálech je MPLC (Medium-pressure liquid chromatography), CPC (Centrifugal partition chromatography) nebo histochemická metoda. Méně přesnějšími metodami detekce flavonoidů v potravinách jsou metody spektrofotometrické.

HPLC je speciální forma sloupcové chromatografie která se obecně používá k oddělení, identifikaci a kvantifikaci aktivních sloučenin. Využívá se čerpadla, které pohybuje mobilní fází skrz stacionární fázi, kterou je náplň kolony. Množství absorbované, tedy i separované látky a množství této látky v mobilní fázi se vyrovnává, a to způsobí rozdílný čas průchodu různých látek kolonou (nazývá se retenční čas). Po průchodu se výstup analyzuje detektorem, který rozlišuje odezvu čisté mobilní fáze a průtoku. Volba rozpouštědel, přísad a gradientu závisí na povaze stacionární fáze a analyzovaném vzorku. [32]

MPLC je forma kapalinové sloupcové chromatografie využívající střední tlak. Kolonou je uzavřený sloupec připojený ke zdroji stlačeného vzduchu nebo k vratnému čerpadlu. Je jednoduchou metodou pro otevřenou sloupcovou chromatografií s vyšším rozlišením výsledků a kratšími časy separace použitelnou pro částice o velikosti 25-200 μm . [6, 34]

CPC nebo také odstředivá dělicí chromatografie je speciální chromatografická technika, ve které jsou stacionární i mobilní fáze kapalně a stacionární fáze je imobilizována silnou odstředivou silou. Výhodami této metody je žádná nevratná adsorpce vzorku, snížení rizika denaturace vzorku, nízká spotřeba rozpouštědel a kvantitativní obnovení použitého vzorku. [6, 35]

Histochemická metoda: Flavonoidy v rostlinném materiálu působí s činidlem za vzniku záření vysílaného analyzovaným vzorkem, při vlnové délce 420 nm se záření jeví jako žlutá fluorescence, při vlnové délce 365 nm je fluorescence oranžová až červená. Tuto fluorescenci detekujeme fluorescenčním mikroskopem. [36]

2.3 Význam v potravinách

Polyfenolické látky jsou zodpovědné za sensorické a nutriční vlastnosti rostlinných potravin. Trpkost a hořkost závisí právě na obsahu polyfenolických sloučenin. Podle struktury se liší chuť, například flavony jsou zpravidla bez chuti až nahořklé, naproti tomu katechiny mají sladko-trpkou chuť. [3]

Flavonoidy jsou málo tepelně stabilní, snadno ztrácejí biologickou aktivitu v důsledku varu a smažení. Jejich biologická dostupnost se značně liší v závislosti na zdroji (např. absorpce kvercetinu z cibule je čtyřnásobná oproti jeho absorpci z čaje nebo jablek). [37]

Oxidace flavonoidů během zpracování nebo skladování má za následek prospěšné i nežádoucí změny v surovinách. Enzymatické hnědnutí (katalyzováno polyfenoloxidázou) je zodpovědné za nežádoucí barvu a chuť ovoce a zeleniny. [3]

Antioxidační aktivita: Všechny flavonoidní sloučeniny mají antioxidační vlastnosti v hydrofilním prostředí, v lipofilním prostředí pouze některé. Antioxidační aktivita závisí na uspořádání funkčních skupin, některé mají tuto aktivitu větší než jiné. U některých flavonoidů, například proanthokyanidinů, byla zjištěna 20x až 50x větší antioxidační aktivita než mají vitaminy C a E. Konfigurace, substituce, a celkový počet hydroxylových skupin podstatně ovlivňují mechanismus účinku. Antioxidační aktivita se zvyšuje se zvyšujícím se počtem hydroxylových skupin. Struktura konjugovaných benzenových kruhů a hydroxylové skupiny umožňují flavonoidům stabilizovat volné radikály zapojené do oxidačních procesů, zhaset singletový kyslík, redukovat vzniklé peroxidy, poskytovat molekulu do reakcí, z nichž vzniklý radikál je méně reaktivní a tvořit cheláty s kovy (např. železo, měď). [23, 24, 37, 38]

2.4 Aplikace

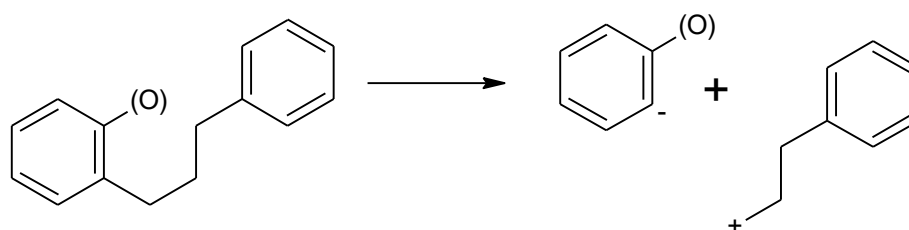
Je zájem používat potravinářské barviva z přírodních zdrojů jako důsledek spotřebitelských preferencí i jako legislativní opatření v souvislosti se syntetickými barvivy. V České republice upravuje používání barviv v potravinářství vyhláška 4/2008 Sb.

(vyhláška stanovuje druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin, barviva jsou stanovena v příloze 4 této vyhlášky). Česká legislativa povoluje použití vybraných barviv jen v některých potravinářských výrobcích. Flavonoidní barviva anthokyany se mohou použít do džemů, rosolů, marmelád a podobných výrobků z ovoce včetně těchto výrobků se sníženým obsahem energie, s uvedením barviva na obalu názvem nebo označením E163. [39]

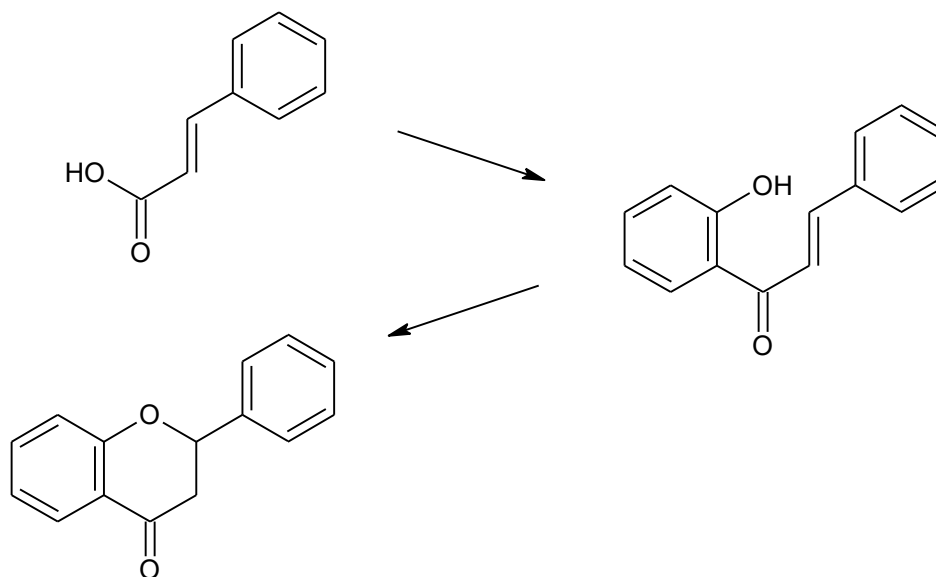
Této vyhlášce je nadřazena evropská legislativa. Výrobce, který chce použít barviva, konzervanty nebo antioxidanty na bázi flavonoidů musí splňovat požadavky nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách (uvedeny v příloze 1). [40]

3 MOŽNOSTI SYNTÉZ PŘÍRODNÍCH FLAVONOIDŮ A JEJICH DERIVÁTŮ

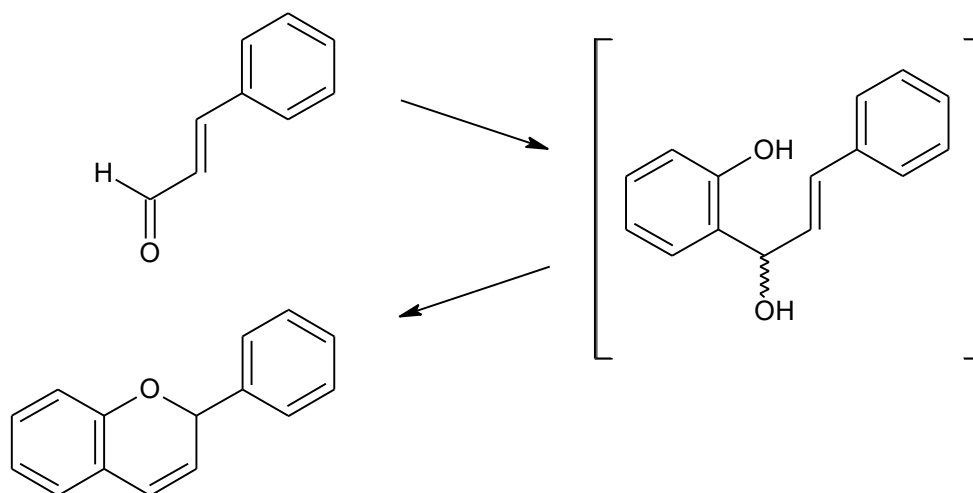
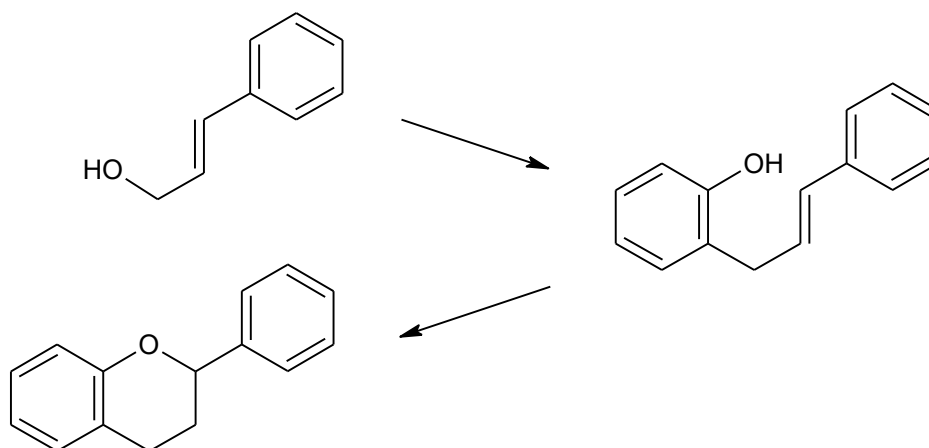
Syntetickou cestou lze základní skelet flavonoidů C₆-C₃-C₆ získat dvěma způsoby. První způsob (obrázek 8) umožňuje rozdělení flavonoidní struktury na fenolickou podjednotku C₆ a na podjednotku C₃-C₆, které jsou deriváty odvozenými od kyseliny skořicové (vzniká 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-on (obrázek 9), syntézou, kdy výchozí látkou je cinnamaldehyd (vzniká 2-fenyl-2*H*-chromen (obrázek 10) a z alkoholu odvozeného od kyseliny skořicové (vzniká 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen (obrázek 11). [41]



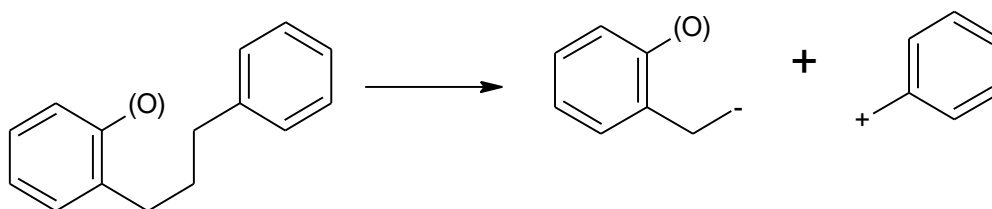
Obrázek 8: vznik podjednotek C₆ a C₃-C₆



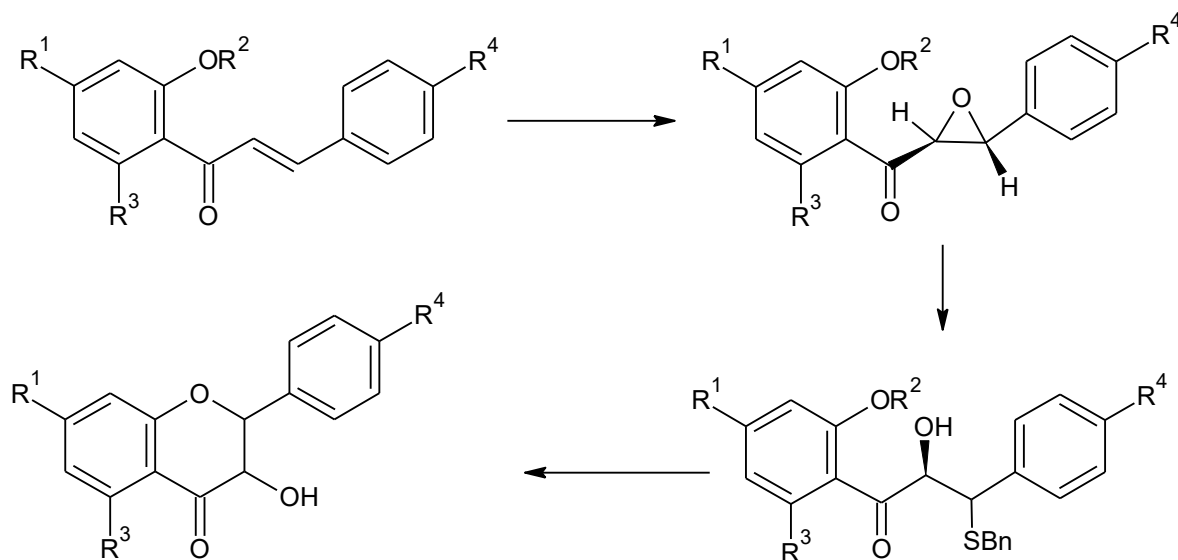
Obrázek 9: vznik 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-onu

Obrázek 10: vznik 2-fenyl-2*H*-chromenuObrázek 11: vznik 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromenu

Druhý způsob syntéz flavonoidů vychází z rozdělení flavonoidního skeletu na acetofenonovou část C₆-C₂ a na benzaldehydovou část C₁-C₆ (obrázek 12). Tento způsob je obvyklejší díky dostupnějším výchozím sloučeninám. [41, 42]

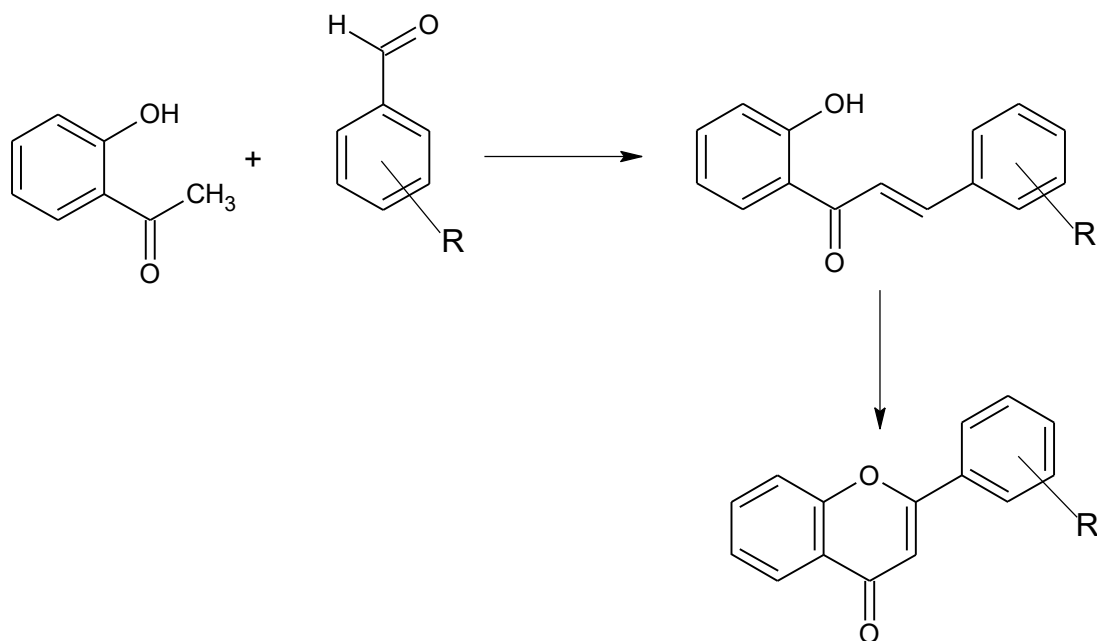
Obrázek 12: vznik podjednotek C₆-C₂ a C₁-C₆

Důležitým krokem je uzavření C₆-C₃-C₆ struktur do cyklických flavonoidních forem. Tyto cyklizace mohou být vedeny přes epoxidové intermediáty (obrázek 13). Takto byly synteticky připraveny např. některé deriváty dihydroflavonu. [43]



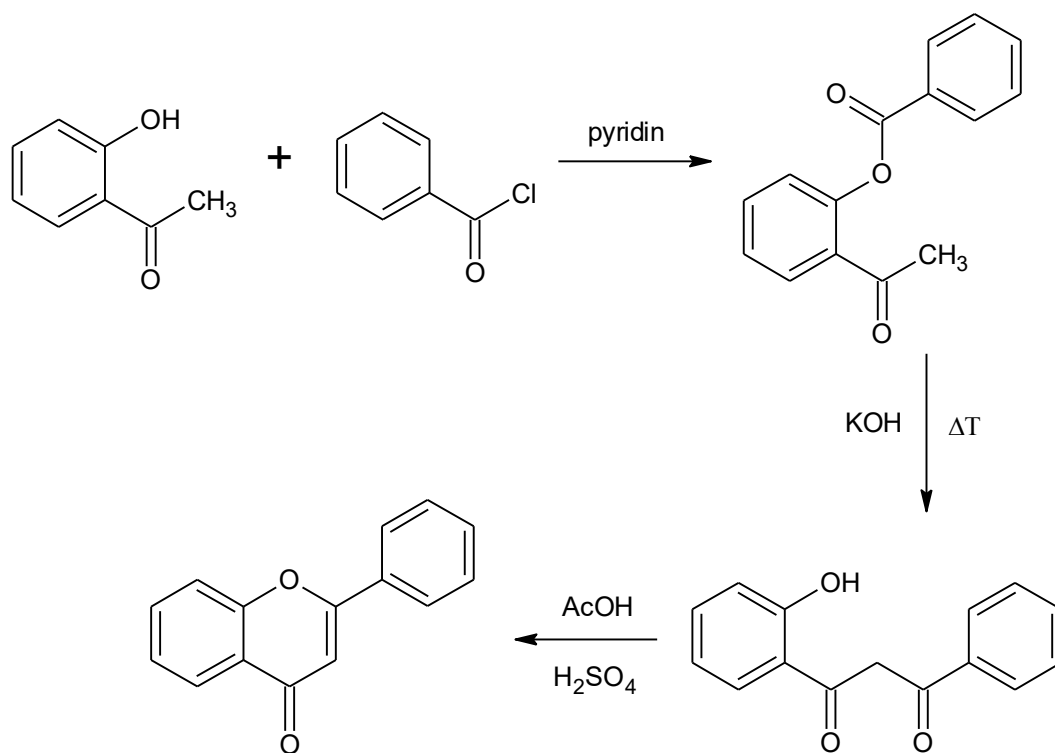
Obrázek 13: cyklizace dihydroflavonu

Typickou reakcí vycházející z principu uvedeném na obrázku 12 je Claisen-Schmidtova kondenzace 2-hydroxyacetofenonu s různě substituovanými benzaldehydy. Cyklizace je prováděna pomocí jódu v dimethylsulfoxidu jako katalyzátoru. Jiným postupem cyklizace využívá 30% peroxid vodíku. Takto lze připravit řadu flavonů substituovaných na postranním benzenovém jádře (obrázek 14). [44, 45]



Obrázek 14: Claisen-Schmidtova kondenzace

Období Claisen-Schmidtovy kondenzace je reakce 2-hydroxyacetofenonu s benzylchloridem (obrázek 15). Reakce probíhá v pyridinu za vzniku 2-acetylfenylbenzoátu, který se přesmykuje v alkalickém prostředí na 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dion. Tato látka se cyklizuje v kyselině octové kyselinou sírovou za vzniku flavonu. [46]



Obrázek 15: Vznik flavonu reakcí 2-hydroxyacetofenonu s benzylchloridem

Postupem uvedeným na obrázku 12 byly připraveny některé deriváty flavan-3-olů, dále katechin, který je zástupcem skupiny flavan-3,4-diolů. Katechin je možno syntetizovat reakcí 3,4-bis(benzyloxy) skořicové kyseliny s 1,3,5-trifenoxybenzenem a vzniklý meziprodukt byl následně cyklizován za kyselé katalýzy. Stejným postupem by byly připraveny například různé deriváty luteolinu, kdy výchozí látka 2-hydroxyacetofenon reagoval se substituovaným benzaldehydem. [47, 48, 49, 50]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 METODIKA PRÁCE

4.1 Přístroje a vybavení

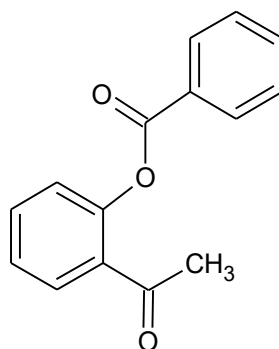
U připravených sloučenin byly stanovovány body tání a infračervená spektra. Pro identifikace látek bylo použito plynové a hmotnostní chromatografie. Kvantitativní analýza reakčních směsí byla uskutečněna na plynovém chromatografu s kvadrupólovým hmotnostním detektorem Shimadzu GC-MS QP2010 s využitím chromatografické kolony EQUITY 1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm). Teplotní program 50 °C po dobu 7 min, za 25 min zvýšení teploty na 250 °C s výdrží 17 min s teplotou nástřiku 250 °C; celkový čas programu 32 min. Teplota iontového zdroje 200 °C. Nosným plynem bylo He s konstantním průtokem 52,4 cm³·s⁻¹. Relevantní fragmenty pozorované v hmotnostních spektrech jsou charakterizovány hodnotou *m/z*. Infračervená spektra byla měřena na spektrometru iS 10, Smart omni technikou KBr tablet. Body tání byly stanoveny na přístroji BÜCHI MeltingPoint B-540.

4.2 Syntéza flavonu

Syntéza flavonu byla prakticky prováděna dle schématu uvedeném v teoretické části této bakalářské práce (viz. obrázek 15).

4.2.1 Příprava 2-acetylfenyl-benzoátu

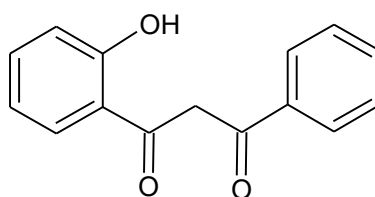
V baňce s kulatým dnem bylo rozpuštěno 40 mmol (4,8 g) 2-hydroxyacetofenonu v 10 cm³ pyridinu. Do směsi bylo přidáno 60 mmol (7 cm³) benzylchloridu a baňka byla uzavřena chlorkalciovým uzávěrem. Směs byla intenzivně míchána magnetickou míchačkou. V míchání se pokračovalo ještě 20 minut poté, co se směs přestala samovolně zahřívat. Následně se směs za stálého míchání nalila do kádinky se směsí 240 cm³ 3% HCl a 80 g drceného ledu. Vysrážený produkt byl odsát za sníženého tlaku, promyt 8 cm³ chladného methanolu a 10 cm³ vody. Surový produkt byl 1 hodinu sušen podtlakem přes filtrační koláč a 20 hodin na vzduchu. Po vysušení byl produkt překrystalizován z 10 cm³ methanolu.



Obrázek 16: 2-acetylphenyl-benzoát

4.2.2 Příprava 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu

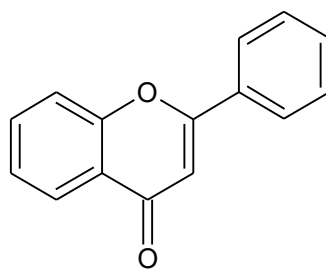
V kádince bylo rozpuštěno 25 mmol (6 g) výchozí látky – 2-acetylphenyl-benzoátu ve 20 cm³ pyridinu. Vzniklý roztok byl zahříván ve vodní lázni na teplotu 50°C. Následně bylo přidáno 2,13 g jemně drceného KOH a skleněnou tyčinkou byl roztok míchán 15 minut. Poté byla směs ochlazená na laboratorní teplotu a bylo přidáno 45 cm³ 10% kyseliny octové. Vyloučený produkt byl odsát za sníženého tlaku a sušen vzduchem přes filtrační koláč.



Obrázek 17: 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dion

4.2.3 Příprava flavonu

V baňce s kulatým dnem bylo rozpuštěno 15 mmol (3,6 g) výchozí látky – 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dionu v 21 cm³ ledové kyseliny octové. Za intenzivního míchání na magnetické míchačce bylo po kapkách přidáno 0,75 cm³ koncentrované kyseliny sírové. Poté byla baňka připojena na zpětný chladič a zahřívána ve vodní lázni, tak aby měla směs teplotu 90°C po dobu 1 hodiny. Po uplynutí této doby byla za stálého míchání skleněnou tyčinkou reakční směs nalita na směs drceného ledu a vody (120 g + 300 cm³). Po roztátí veškerého ledu byl vysrážený produkt filtrován za níženého tlaku. Zbytky kyseliny byly z filtračního koláče vymyty vodou. Produkt byl sušen na vzduchu a v sušárně. Surový produkt byl překrystalizován z hexanu. Výtěžek reakce byl 2,2 g (61 %).

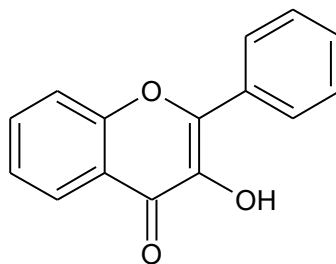


Obrázek 18: Flavon

4.3 Syntéza 3-hydroxyflavonu

V baňce s kulatým dnem bylo smícháno 5 mmol (0,6 ml) 2-hydroxyacetofenonu, 5 mmol (0,5 ml) benzaldehydu, 15 mmol (0,6 g) hydroxidu sodného a 30 ml ethanolu. Směs byla míchána na magnetické míchačce a refluxována pod chladičem po dobu 90 minut. Následně byla směs ochlazená ve vodní lázni na laboratorní teplotu. Výsledný produkt nebyl dále zpracován a reakční směs byla použita do dalšího kroku.

Po ochlazení bylo do směsi přidáno 6,7 g hydroxidu sodného, 30 ml methanolu a 3,4 ml 35 % peroxidu vodíku a následně byla znovu míchána po dobu 2,5 hodin. Po uplynutí této doby byla směs vylita na ledovou tříšť a míchána do úplného rozpuštění ledu. Poté byla směs zfiltrována za sníženého tlaku.



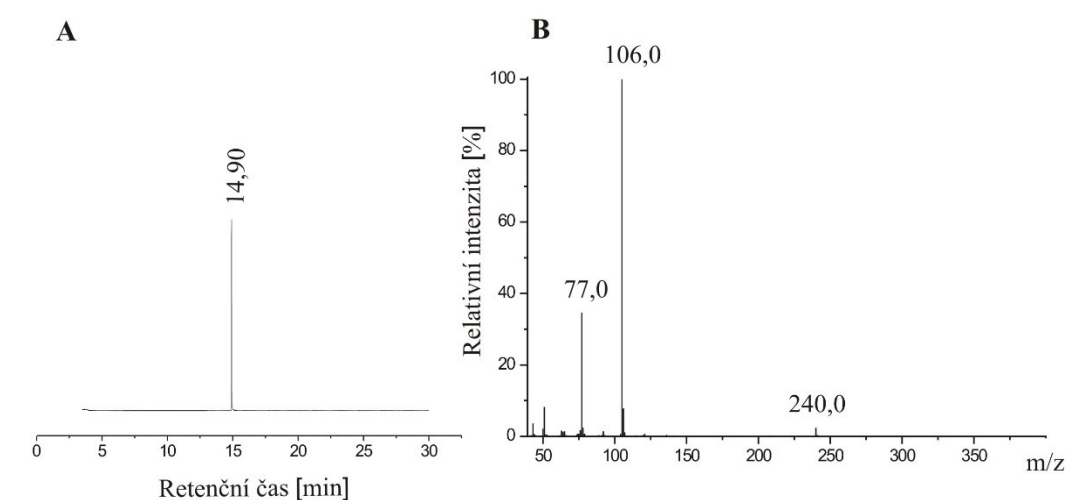
Obrázek 19: 3-hydroxyflavon

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Syntéza flavonu

5.1.1 Příprava 2-acetylfenyl-benzoátu

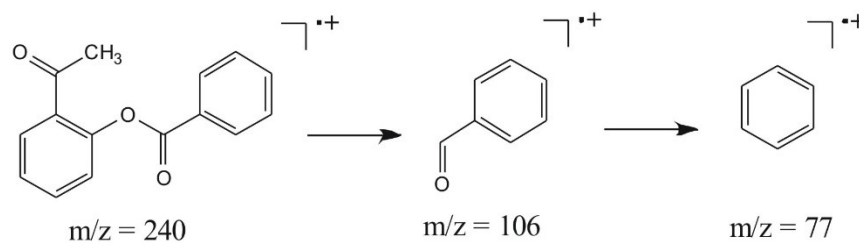
Při míchání spolu použité suroviny reagovali za vzniku husté bílé kapaliny. Během reakce se směs samovolně zahřívala. Po úplném doreagování se směs vylila na led s HCl a vznikla sraženina, která se po rozmělnění skleněnou tyčinkou filtrovala a byla požadovaným produktem reakce. Po vysušení měl produkt vzhled bílých lesklých krystalů. Výtěžek reakce byl 7,52 g (78 %). Bod tání byl stanoven na 85-89°C.



Obrázek 20: Záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) 2-acetylfenyl-benzoátu

Na obrázku 20, část A je záznam plynové chromatografie 2-acetylfenyl-benzoátu. Jak je z obrázku patrné, byl zaznamenán pík a to v čase 14,9 minut, z čehož usuzujeme na čistou látku 2-acetylfenyl-benzoátu. V části B téhož obrázku je hmotnostní spektrum dané látky. Při analýze byl detekován iont s nejvyšší intenzitou o m/z 106.

MS: 51 (8), 77(35), 105 (100), 106 (8), 240 (2) m/z (%).



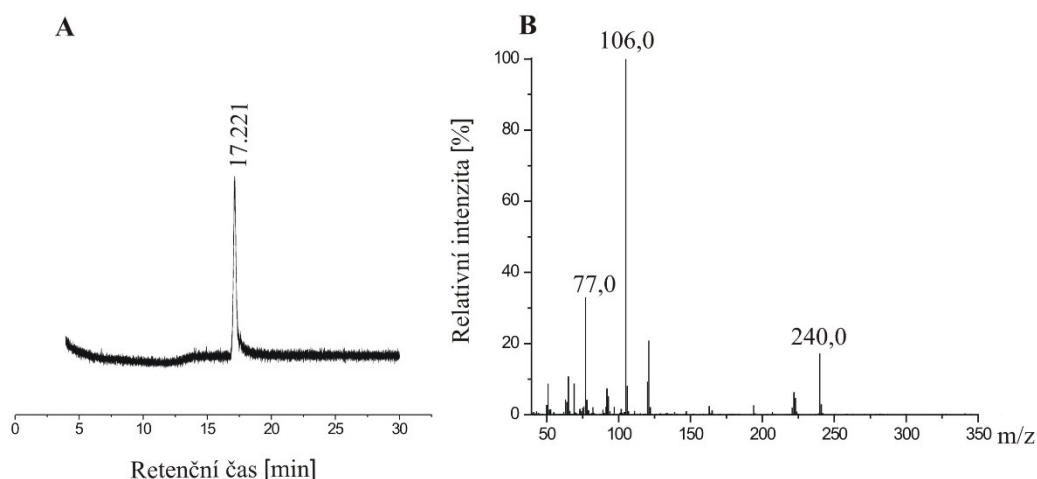
Obrázek 21: Návrh fragmentace 2-acetylphenyl-benzoátu při MS analýze

Na obrázku 21 je návrh štěpení molekuly 2-acetylphenyl-benzoátu před detekcí iontů hmotnostních detektorem. 2-acetylphenyl-benzoát byl identifikován porovnáním výsledků hmotnostního spektra s knihovnou hmotnostních spekter pro MS.

IR (KBr): 2997, 1736, 1686, 1602, 1484, 1451, 1361, 1271, 1203, 1603, 767, 705, 608 cm^{-1} .

5.1.2 Příprava 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu

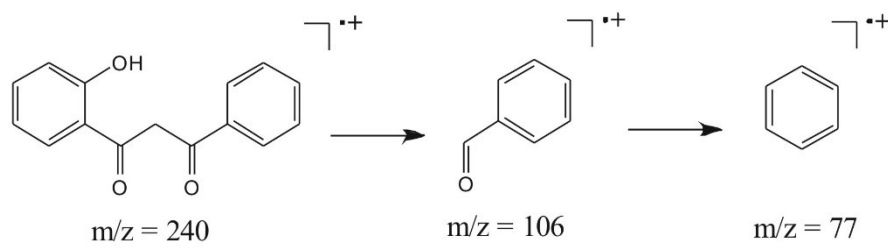
V kádince byl rozpuštěn 2-acetylphenyl-benzoát v pyridinu. Tento roztok byl čirý a měl nažloutlou barvu. Při zahřívání se barva změnila na jasně žluto-oranžovou a roztok zhoustl. Po přidavku KOH se roztok začal srážet, tvořily se v něm hrudky a barva se změnila na zeleno-žlutou. Po ochlazení ve vodní lázni měl produkt v dolní části kádinky žlutou barvu, ve středu zelenou barvu a v horní části na stěnách ulpělé zbytky hnědou barvu. Toto bylo způsobeno nedostatečným promícháním, neboť po důkladném promíchání byla barva v celém objemu sjednocena na žlutou. Po přidání kyseliny octové se vysrážel požadovaný produkt v podobě malých žlutých částic. Po zfiltrování měl produkt jasně žlutou barvu a vzhled jemných krystalů. Výtěžek reakce byl 4,9 g (81 %). Bod tání byl stanoven na 119-123°C.



Obrázek 22: Záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu

Na obrázku 22, část A je záznam plynové chromatografie 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu. V čase 17,221 minut je viditelný pík. V části B stejného obrázku je hmotnostní spektrum téže látky. Při analýze byl detekován iont s nejvyšší intenzitou o m/z 106.

MS: 51 (9), 65 (11), 69 (9), 77(33), 92 (7), 93 (5), 105 (100), 106 (8), 121 (21), 222 (6), 240 (17) m/z (%).



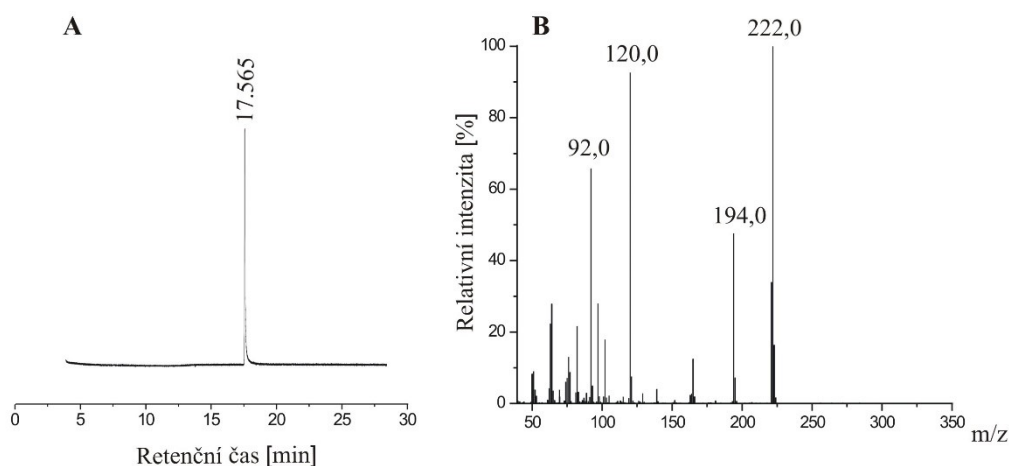
Obrázek 23: Návrh fragmentace 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu při MS analýze

Na obrázku 23 je návrh štěpení molekuly 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu před detekcí iontů hmotnostních detektorem.

IR (KBr): 3063, 1608, 1573, 1489, 1302, 1188, 1046, 1023, 901, 732, 620 cm^{-1} .

5.1.3 Příprava flavonu

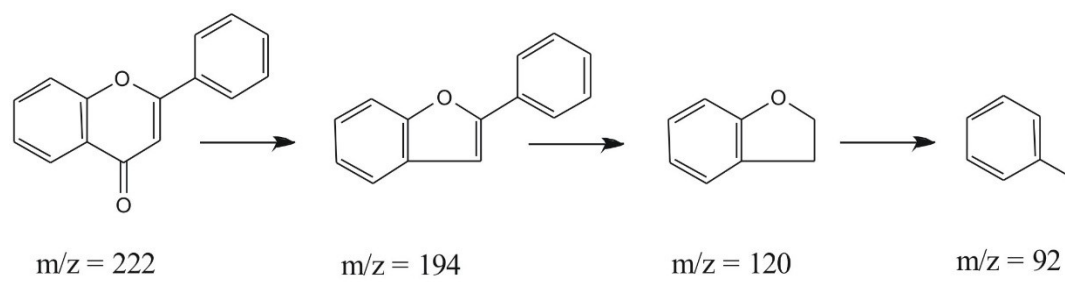
V baňce s kulatým dnem byl rozpuštěn 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dion v ledové kyselině octové. Za intenzivního míchání na magnetické míchače byla přidána kyselina sírová. Směs v baňce měla krémovou barvu. Poté byla baňka zahřívána ve vodní lázni při 90°C pod zpětným chladičem po dobu 1 hodiny. Během zahřívání se barva směsi změnila na téměř bílou. Po uplynutí určené doby byla za stálého míchání skleněnou tyčinkou reakční směs nalita na směs drceného ledu a vody. Vysrážený produkt měl světlou barvu, a vzhled krystalů. Po roztátí veškerého ledu byl vysrážený produkt filtrován za níženého tlaku. Zbytky kyseliny byly z filtračního koláče vymyty vodou. Produkt byl sušen na vzduchu a v sušárně. Surový produkt byl přefiltrován z hexanu. Po přečištění měl produkt vláknitou strukturu, a vzhled dlouhých jehliček světlé barvy s leskem. Výtěžek reakce byl 2,2 g (61 %). Bod tání byl stanoven na 95-98°C.



Obrázek 24: Záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) flavonu

Na obrázku 24, část A je záznam plynové chromatografie flavonu s viditelným píkem v čase 17,565 minut. V části B obrázku 24 je hmotnostní spektrum flavonu. Při analýze byl detekován iont s nejvyšší intenzitou o m/z 222. Flavon byl identifikován porovnáním výsledků hmotnostního spektra s knihovnou spekter pro MS.

MS: 50 (8), 51 (9), 52 (4), 62 (4), 63 (22), 64 (28), 65 (4), 70 (4), 74 (6), 75(7), 76 (13), 77 (9), 82 (21), 92 (66), 93 (4), 97 (28), 102 (18), 120 (92), 121 (8), 165 (12), 194 (48), 220 (34), 222 (100), 223 (16), m/z (%).



Obrázek 25: Návrh fragmentace flavonu při MS analýze

Na obrázku 25 je návrh štěpení molekuly flavonu před detekcí iontů hmotnostních detektorem.

IR (KBr): 3071, 1647, 1569, 1495, 1466, 1376, 1226, 1130, 1029, 907, 769, 673, 606, 530 cm^{-1} .

5.2 Syntéza 3-hydroxyflavonu

V baňce s kulatým dnem byl smíchán 2-hydroxyacetofenon, benzaldehyd, hydroxid sodný a ethanol. Směs míchána na magnetické míchačce měla jasně žlutou barvu. Barva se nezměnila ani během refluxování a ochlazení na laboratorní teplotu. Po ochlazení byl do směsi přidán hydroxid sodný, methanol a 35 % peroxid vodíku a směs byla znovu míchána po dobu 2,5 hodin. Po uplynutí této doby byla směs vylita na ledovou tříšť a míchána do úplného rozpuštění ledu. Poté byla směs zfiltrována za sníženého tlaku. Získaný produkt měl žluto-oranžovou barvu a vzhled malých krystalů. Filtrát byl zahuštěn na vakuové odparce. Po úplném odpaření a krystalizaci byly získány krystaly hnědé barvy. Tyto krystaly se nedaly roztavit na bodotávku ani rozpustit v dostupných rozpouštědlech, proto nebylo možné provést analýzy a identifikaci získaného produktu.

6 ZÁVĚR

Cílem teoretické části této bakalářské práce bylo pomocí dostupné literatury charakterizovat flavonoidy a skupiny potravin, ve kterých se flavonoidy vyskytují, uvést jejich aplikace v potravinářství a popsat možnosti synézy flavonoidů a jejich derivátů.

Toto bylo splněno především s využitím zahraničních zdrojů. V práci byli uvedeni zástupci ve skupinách cereálií, luštěnin, ovoci, zelenině, suchých skořápkových plodech, ve vinné révě a víně, čaji a kávě, kakaových bobech a bylinách. V kapitole 2.4 jsou stručně zmíněny možnosti aplikace flavonoidů v potravinářství s ohledem na platnou legislativu České republiky a Evropské unie. V poslední kapitole teoretické části jsou stručně zmíněny některé možnosti syntézy přírodních flavonoidů a jejich derivátů včetně schémat těchto syntéz.

Cílem praktické části bylo pokusit se o přípravu některých zástupců flavonoidů.

Byl připraven flavon, a to tříkrokovou syntézou přes 2-acetylfenyl-benzoát a 1-(2-hydroxy-fenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dion. Flavon i meziprodukty syntézy byly identifikovány pomocí GC-MS. Pro analýzy byly použity roztoky o koncentraci 1mg/ml.

Jako druhý zástupce byl vybrán 3-hydroxyflavon. Příprava této látky se nezdařila. Získaný produkt nebylo možné analyzovat a identifikovat.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] TSUKASA, I. *The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants*, Journal of Plant Research, 2000, 113:287 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [2] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-X.
- [3] BRAVO, L. *Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance*. Nutrition Reviews 56.11 (Nov 1998): 317-33 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [4] BOHM, B., STUESSY, T. *Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae)*. Vienna: Springer Vienna, 2001. ISBN 9783709161814.
- [5] VOLF, K., ANDRS, F. *Flavonoidy a jejich biologické působení*. Česko: s.n., c2008. ISBN 978-80-254-4225-8.
- [6] ANDERSEN, O. M., MARKHAM, K. R., *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. ISBN 9780849320217.
- [7] ČOPIKOVÁ, J., UHER, M., LAPČÍK, O., MORAVCOVÁ, J., DRAŠAR, P. *Přírodní barevné látky*. Chemické listy 99, 802-816 (2005) [online]. [cit. 2017-03-02].
- [8] BOGS, J., DOWNEY, M. O., HARVEY, J. S., ASHTON, A. R., TANNER, G. J., ROBINSON, S. P. *Proanthocyanidin Synthesis and Expression of Genes Encoding Leucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing Grape Berries and Grapevine Leaves*. Plant Physiology, 2005,139(2): 652-663 [online]. [cit. 2017-14-04].
- [9] BAČOVSKÁ, N., KOMÍNKOVÁ, M., RUTTKAY, B., KOPEL, P., TRNKOVÁ, L., ZÍTKA, O., ADAM, V., KIZEK, R. *Elektrochemical Study of Flavonoids in Wine*. Journal of Metallomics and Nanotechnologies 2014, 53-56 [online]. [cit. 2017-08-04].
- [10] NARAYANA, K. R., REDD, M. S., CHALUVADI, M. R., KRISHNA, D. R. *Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential*. Indian Journal of Pharmacology 2001, 33: 2-16 [online]. [cit. 2017-19-04].
- [11] CHALUPÁČOVÁ, M., OPLETALOVÁ, V. *Chalkony jako potenciální inhibitory aldoseduktasy*. Chemické listy 2004, 98, 320-323. [online]. [cit. 2017-17-04].
- [12] AGRAWAL, P. K. *Carbon-13 NMR of Flavonoids*. Elsevier, 1989. ISBN 9780444874498.

- [13] DETSI, A., MAJDALANI, M., KONTOGIORGIS, Ch. A., HADJIPAVLOU-LITINA, D., KEFALAS, P. *Natural and Synthetic 2'-hydroxy-chalcones and Aurones: Synthesis, characterization and Evaluation of the Antioxidation and Soybean Lipoxygenase Inhibitory Activity*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17 (2009) 8073-8085 [online]. [cit. 2017-17-04].
- [14] YU, J., BI, X., YU, B., CHEN, D. *Isoflavones: Anti-Inflammatory Benefit and Possible Caveats*. *Nutrients* 2016, 8(6):361 [online]. [cit. 2017-15-04].
- [15] HARBORNE, J. B. *The Flavonoids Advances In Research Since 1986*, Journal of Chemical Education, Chapman and Hall, 1993, ISBN 9780412480706.
- [16] ONSLOW, M. W. *The Anthocyanin Pigments of Plants*. Cambridge, University Press, 1916.
- [17] D'ANDREA, G. *Quercetin: A Flavonol with Multifaceted Therapeutic Applications?* *Fitoterapia*, 2015, 106:256-71 [online]. [cit. 2017-15-04].
- [18] BUŇKA, F., HRABĚ, J., VOSPĚL, B. *Senzorická analýza potravin I*. Zlín, UTB, 2010. ISBN 978-80-7318-887-0.
- [19] GANESHPURKAR, A., SALUJA, A. K. *The Pharmacological Potential of Rutin*. *Saudi Pharmaceutical Journal* (2017) 25, 149-164 [online]. [cit. 2017-24-04].
- [20] ŠIMÁNEK, V., VOSTÁLOVÁ, J., HOLČAPEK, M., ULRICHOVÁ, J. *Bioaktivní složky potravy v primární a sekundární prevenci některých chronických onemocnění*. *Chemické listy* (2012), 106, 568-570 [online]. [cit. 2017-24-04].
- [21] FUKUTAKE, M., TAKAHASHI, M., ISHIDA, K., KAWAMURA, H., SUGIMURA, T., EAKABAYASHI, K. *Quantification of Genistein and Genistin in Soybeans and Soybean Products*. *Food and Chemical Toxicology*, May 1996, 34(5):457-61
- [22] SCHMIDT, Š., POKORNÝ, J. *Potential Application of Oilseeds as Sources of Antioxidants for Food Lipids*. 2005, *Czech J. Food Sci.*, 23: 93-102 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [23] YU L.L., TSAO, R., SHAHIDI, F. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*. 2012, str. 4, ISBN 978-0-8138-1839-9 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [24] KUMAR, S., PANDEY, A. K.. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview*, *The Scientific World Journal Volume 2013* (2013), Article ID 162750 [online]. [cit. 2016-12-09].

- [25] YAMAUHI, N., WATADA, A., E. *Effectiveness of Various Phenolic Compounds in Degradation of Chlorophyll by In Vitro Peroxidase-Hydrogen Peroxide System*, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 63(2): 439-444, 1994 [online]. [cit. 2017-08-04].
- [26] KOLEČKÁŘ, V., ŘEHÁKOVÁ, Z., BROJEROVÁ, E., KUČA, K., JUN, D., MACÁKOVÁ, K., OPLETAL, L., DRAŠAR, P., JAHODÁŘ, L., CHLEBEK, J., CAHLÍKOVÁ, L. *Proanthocyanidiny a jejich antioxidační aktivita*. Chemické listy 106, 113-121 (2012) [online]. [cit. 2017-15-04].
- [27] HARNLY, J. M., DOHERTY, R. F., BEECHER, G. R., HOLDEN, J. M., HAYTOWITZ, D. B., BHAGWAT S., GEBHARDT S. *Flavonoid Content of U.S. Fruits, Vegetables, and Nuts*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54, 9966-9977 [online]. [cit. 2017-06-01].
- [28] CHEN, C-Y. O., BLIMBERG, J. B. *Phytochemical Composition of Nuts*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 2008; 17 (S1):329-332 [online]. [cit. 2017-06-01].
- [29] GARDER, E. J., RUXTON, C. H. S., LEEDS, A. R. *Black tea – helpful or harmful? A Review of the Evidence*. European Journal of Clinical Nutrition, 2007, 61, 3-18[online]. [cit. 2017-08-04].
- [30] HEČIMOVIC, I., BELŠČAK-CVITANOVIC, A., HORŽIC, D., KOMES, D. *Comparative Study of Polyphenols and Caffeine in Different Coffee Varieties Affected by the Degree of Roasting*. Food Chemistry 129 (2011) 991-1000 [online]. [cit. 2017-11-04].
- [31] OTHMAN, A., ISMAIL, A., GHANI, N. A., ADENAN, I. *Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans*. Food Chemistry. 2007, 100(4), 1523- 1530. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.12.021. ISSN 03088146. [online]. [cit. 2017-06-01].
- [32] NOLLET, L. M. L. *Food Analysis by HPLC*. New York, Marcel Dekker, Inc., 2000, ISBN: 0-8247-8460-X.
- [33] MALVIYA, R., BANSAL, V., PAL, O. P., SHARMA, P. K.. *High Performance Liquid Chromatography: A Short Review*. Journal of Global Pharma Technology, 2010, ISSN 0975-8542 [online]. [cit. 2017-15-04].
- [34] CASTANEDA-OVANDA, A., PACHECO-HERNANDEZ, M., PAEZ-HERNANDEZ, M. E. RODRIGUEZ, J. A., GALÁN-VIDAL, C. A. *Chemical Studies of Anthocyanins: A Review*. Food Chemistry (2009) 113. 859-871 [online]. [cit. 2017-24-04].

- [35] RENAULT, J.-H., THÉPENIER, P., ZECHES-HANROT, M., LE MEN-OLIVIER, L., DURAND, A., FOUCAULT, A., MARGRAFF, R. *Preparative Separation of Anthocyanins by Gradient Elution Centrifugal Partition Chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 763 (1997) 345-352 [online]. [cit. 2017-24-04].
- [36] VALETTE, C., ANDARY, C., GEIGER, J. P., SARAH, J. L., NICOLE, M. *Histochemical and Cytochemical Investigations of Phenols in Roots of Banana Infected by Burrowing Nematode Radopholus similis*. *The American Phytopathological Society* 1998, 88, (11): 1141-1148 [online]. [cit. 2017-19-04].
- [37] YAO L. H., JIANG, Y. M., SHI, J., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., DATTA, N., SINGANUSONG, R., CHEN, S. S. *Flavonoids in Food and Their Health Benefits*, *Plant Foods for Human Nutrition* 59: 113-122, 2004 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [38] CUSHNIE, T. P. T., LAMB, A. J. *Antimicrobial activity of flavonoids*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26 (2005) 343-356 [online]. [cit. 2016-12-09].
- [39] Vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin.
- [40] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách.
- [41] NAY, B., ARNAUDINAUD, V., VERCAUTEREN, J. *Total Synthesis of Asymmetric Flavonoids: The Development and Applications of C-labelling*. *Comptes Rendus Chimie* 5 (2002) 577-590 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [42] GROTEWOLD, E. *The Science of Flavonoids*. Springer. 2005. ISBN 978-0-387-28821-5.
- [43] RENSBURG, H., HEERDEN, P. S., BEZUIDENHOUDT, B. C. B., FERREIRA, D. *The First Enantioselective Synthesis of Trans- and Cis-dihydroflavonols*. *Chemical Communications* 1996, 2747-2748 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [44] PATEL S., SHAH U. *Synthesis of flavones from 2-hydroxyacetophenone and aromatic aldehyde derivatives by conventional methods and green chemistry approach*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2017, 2455-3891 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [45] KURZWERHART A., KANDIOLLER W. *Targeting the DNA-topoisomerase complex in a double-strike approach with a topoisomerase inhibiting moiety and covalent DNA binder*. *Chemical Communications*, 2012, 48, 4839-4841 [online]. [cit. 2017-05-05].

-
- [46] EHEELER, T. S. *Flavone*. *Organic Syntheses*. 1952, 32, 72 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [47] RENSBURG, H., HEERDEN, P. S., FERREIRA, D. *Enantioselective Synthesis of Flavonoids. Part 3¹. Trans- and Cis-Flavan-3-ol Methyl Ether Acetates*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction 1*, 1997, 3415-3421 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [48] RENSBURG, H., HEERDEN, P. S., FERREIRA, D. *Enantioselective Synthesis of Flavonoids. Part 3¹. Trans- and Cis-Flavan-3-ol Methyl Ether Acetates*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction 1*, 1997, 3415-3421 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [49] NAY, B., ARNAUDINAUD, V., PEYRAT, J.-F., NUHRICH, A., DEFFIEUX, G., MÉRILLON, J.-M., VERCAUTEREN, J. *Total Synthesis of Isotopically Labelled Flavonoids, 2 ¹³C-Labelled (±±)-Catechin From Potassium [¹³C]Cyanide*. *European Journal of Organic Chemistry* 2000, 1279-1283 [online]. [cit. 2017-05-05].
- [50] KIM, S. H., KIM, H., J., JIN, CH., LEE, Y. S. *Synthesis of 7-O-(2-Amino)ethyl Flavones and Their Antioxidant Activities*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2012, Vol. 33, No. 5, 1773-1776 [online]. [cit. 2017-05-05].

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: flavan

Obrázek 2: a) kyanidin, b) pelargonidin

Obrázek 3: akutifolin C

Obrázek 4: a) apigenin, b) luteolin

Obrázek 5: a) kvercetin, b) kaempferol, c) rutin

Obrázek 6: a) naringenin, b) hesperetin

Obrázek 7: a) genistein, b) daidzein

Obrázek 8: vznik podjednotek C_6 a C_3-C_6

Obrázek 9: vznik 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-onu

Obrázek 10: vznik 2-fenyl-2*H*-chromenu

Obrázek 11: vznik 2-fenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromenu

Obrázek 12: vznik podjednotek C_6-C_2 a C_1-C_6

Obrázek 13: cyklizace dihydroflavonu

Obrázek 14: Claisen-Schmidtova kondenzace

Obrázek 15: vznik flavonu reakcí 2-hydroxyacetofenonu s benzylchloridem

Obrázek 16: 2-acetylphenyl-benzoát

Obrázek 17: 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1, 3-dion

Obrázek 18: flavon

Obrázek 19: 3-hydroxyflavon

Obrázek 20: záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) 2-acetylphenyl-benzoátu

Obrázek 21: návrh fragmentace 2-acetylphenyl-benzoátu MS analýze

Obrázek 22: záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu

Obrázek 23: návrh fragmentace 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,3-dionu při MS analýze

Obrázek 24: záznam chromatogramu (A) a MS spektra (B) flavonu

Obrázek 25: návrh fragmentace flavonu při MS analýze