

Biologicky aktivní látky brokolice a jejich stanovení

Marie Bačáková

Bakalářská práce
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství a chemie
akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Marie BAČÁKOVÁ**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Biologicky aktivní látky brokolice a jejich stanovení**

Zásady pro vypracování:

1. Fyziologický popis rostliny
2. Princip kapalinové chromatografie
3. Biologicky aktivní látky v brokolici
4. Chromatografické metody pro stanovení vitaminů přítomných v brokolici
5. Závěr práce + přílohy

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

dle doporučení vedoucího BP

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Kramářová, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zadání bakalářské práce:

10. října 2005

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2006

Ve Zlíně dne 20. dubna 2006


prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Tato práce je zaměřena na získání komplexních informací o brokolici (*Brassica oleracea convar. Italica*). Brokolice je zelenina patřící do čeledi brukvovitých a obsahuje řadu biologicky aktivních látek. Nejdůležitější z nich jsou vitaminy skupiny B a dále vitaminy C, A, E, kyselina listová, karotenoidy, glukosinoláty a flavonoidy. Tyto látky mají pozitivní vliv na lidské zdraví a některé z nich mají i antioxidační účinky. Vědecké poznatky prokázaly, že brokolice obsahuje látky, které chrání před vznikem rakoviny. Tím se brokolice řadí mezi velmi zdravé zeleniny. Práce dále pojednává o stanovování těchto látek pomocí metody HPCL (Vysoceúčinná kapalinová chromatografie).

Klíčová slova: brokolice, antioxidanty, vitamin C, kyselina listová, glukosinoláty, sulforafan, karotenoidy, flavonoidy, HPCL

ABSTRACT

This thesis is focused on obtaining complete information about broccoli (*Brassica oleracea convar. Italica*). Broccoli is one of the *Brassicaceae* vegetable and it contains a lot of biological active substances. The most important are B vitamins as well as vitamin C, A, E, folic acid, carotenoids, glucosinolates and flavonoids. These substances have a great benefit for human health and some of them shows out antioxidant activities. Scientific research has proved that some compounds in broccoli protect the human body against cancer. That's the reason why broccoli is taken as a very healthy vegetable. The next part of this study is intended on substances determination by HPCL (High Performance Liquid Chromatography).

Keywords: broccoli, antioxidants, ascorbic acid, folic acid, glucosinolates, sulforafan, carotenoids, flavonoids, HPCL

Poděkování, motto

Chtěla bych poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing. Daniele Kramářové, PhD. za velmi cenné připomínky k danému tématu, odborné vedení a trvalý zájem při vypracování bakalářské práce. Ráda bych zároveň chtěla poděkovat své rodině za podporu během celého studia.

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA BROKOLICE	10
OBR.1 BROKOLICE CHŘESTOVÁ	10
1.1 PŮVOD BROKOLICE.....	10
1.2 ZÁKLADNÍ DRUHY BROKOLIC	11
1.3 PĚSTOVÁNÍ BROKOLICE	12
1.4 ZPRACOVÁNÍ BROKOLICE	12
2 FYZIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY BROKOLICE	13
2.1 AMINOKYSELINY	13
2.2 MINERÁLNÍ LÁTKY	15
2.2.1 Draslík	15
2.2.2 Vápník	15
2.2.3 Hořčík	15
2.2.4 Fosfor	16
2.2.5 Síra	16
2.2.6 Železo	17
2.2.7 Zinek	17
2.2.8 Selen.....	17
2.3 VITAMINY	18
2.3.1 Vitamin B ₁ - Thiamin.....	18
2.3.2 Vitamin B ₂ – Riboflavin.....	19
2.3.3 Vitamin B ₃ – Kyselina nikotinová a její amid	20
2.3.4 Vitamin B ₅ - Pantothenová kyselina	22
2.3.5 Vitamin B ₆ - Pyridoxin.....	23
2.3.6 Vitamin B ₉ – Kyselina listová.....	24
2.3.7 Biotin.....	25
2.3.8 Vitamin C	26
2.3.9 Vitamin A a jeho provitaminy.....	26
2.3.10 Tokoferoly (vitaminy skupiny E).....	28
2.4 PŘIROZENÁ BARVIVA	29
2.4.1 Karotenoidy	29
2.4.2 Flavonoidy.....	30
2.5 ROSTLINNÉ FENOLY	30
2.5.1 Hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny	30
2.5.2 Chalkony a aurony	31
2.6 SACHARIDY	31
2.6.1 Monosacharidy	32
2.6.2 Oligosacharidy	32
2.7 TUKY.....	32
2.7.1 Mastné kyseliny	32

2.7.2	Steroly	34
2.8	PŘIROZENÉ TOXICKÉ SLOŽKY POTRAVIN	35
2.8.1	Glukosinoláty	35
2.8.2	Steroidní glykosidy a jim příbuzné glykosidy	37
2.9	ANTIOXIDANTY	38
3	VYSOCEÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (HPLC)	39
3.1	PŘÍSTROJE A POMOCNÁ ZAŘÍZENÍ	41
3.2	POUŽITÍ HPCL K ANALÝZE VITAMINŮ	42
3.3	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ KVANTITATIVNÍCH ANALÝZ	43
3.4	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU C METODOU HPCL.....	43
3.5	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ β -KAROTENU METODOU HPCL	43
3.6	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU E METODOU HPCL.....	44
3.7	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ KYSELINY LISTOVÉ METODOU HPCL	44
3.8	URČENÍ SULFARAFANU V BROKOLICI A ZELÍ POMOCÍ METODY HPCL	44
3.9	ANALÝZA GLUKOSINOLÁTŮ BROKOLICE A JINÝCH PŘÍBUZNÝCH ZELENIN HYDROFYLICKOU INTERAKCÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE	44
3.10	SPECIFIKACE KOLON POUŽÍVANÝCH V NAŠÍ UNIVERZITNÍ LABORATOŘI	45
	ZÁVĚR.....	46
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	48
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	51
	SEZNAM OBRÁZKŮ	52
	SEZNAM TABULEK.....	53
	SEZNAM PŘÍLOH.....	54

ÚVOD

Konzumace zeleniny se v České Republice od konce 80. let výrazně zvyšuje. Je to dáno rozšířením nabídky sortimentu a také změnou stravovacích zvyklostí obyvatelstva. Tento vývoj je velmi pozitivní avšak pořád ještě v konzumaci zeleniny zaostáváme za vyspělými zeměmi. Odborníci doporučují konzumovat až 600 g ovoce a zeleniny denně. Nejvhodnější je konzumace ve formě zeleninových salátů. Tím je zaručen dostatečný a různorodý příjem zeleniny během dne. Zelenina obsahuje mnoho vitaminů rozpustných v tucích, proto je vhodné přidávat do salátů olej.

Bereme-li v úvahu další nedostatky ve výživě obyvatelstva České Republiky, je nutno poukázat především na nadměrný příjem sacharidů, nedostatečný příjem vlákniny a nedostatek vitamínu C. Nadbytečný příjem sacharidů je způsoben jejich nevhodnou skladbou. Je konzumováno příliš mnoho jednoduchých sacharidů a málo stravy obsahující nerozpustnou vlákninu. Spotřeba vitamínu C u průměrného obyvatele České Republiky činí pouze 80 % doporučeného množství. Právě brokolice je dobrým řešením všech těchto problémů. Obsahuje jak nerozpustnou vlákninu, která pozitivně působí na trávicí trakt, tak i vysoké množství vitamínu C. Brokolice je považována za jednu z nejzdravějších zelenin, obsahuje totiž sulforafan, látku, která negativně ovlivňuje růst a množení *Helicobacter pylori*, bakterii zodpovědnou za rakovinu žaludku. Vědecké poznatky prokázaly, že pravidelná konzumace brokolice chrání náš organismus před vznikem plicních nádorů u kuřáků, před rakovinou tlustého střeva a děložního čípku. Kromě toho pomáhá organismu snášet ionizující záření.

Brokolice dále účinkuje proti překyselení organismu, pomáhá při léčbě osteoporózy, doporučuje se při onemocněních jater, žlučníku, žaludku a ledvin. K jejím dalším dobrým vlastnostem patří, že není náchylná k přijímání dusičnanů z půdy.

Z uvedeného výčtu pozitivních vlastností brokolice, je zřejmé, že by tato zelenina neměla chybět v našem jídelníčku.

I. TEORETICKÁ ČÁST

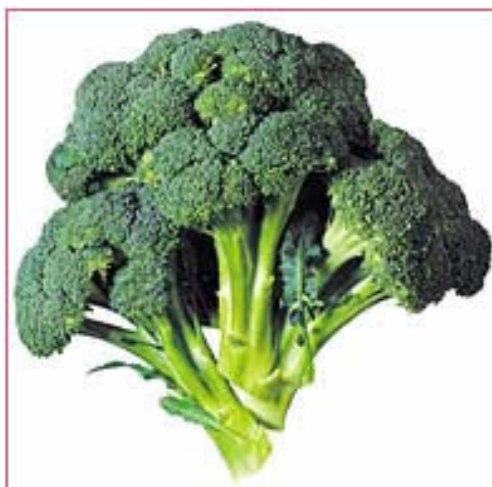
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA BROKOLICE

latinský název: *Brassica oleracea convar. italica*

český název: Brokolice chřestová nebo Kapusta chřestová

anglický název: Broccoli

Zelí, brokolice, květák, kedluben, kadeřávek a růžičková kapusta patří do velké skupiny rostlin z čeledi **brukvovitých (*Brassicaceae*)**. (1)



Obr.1 Brokolice chřestová

1.1 Původ brokolice

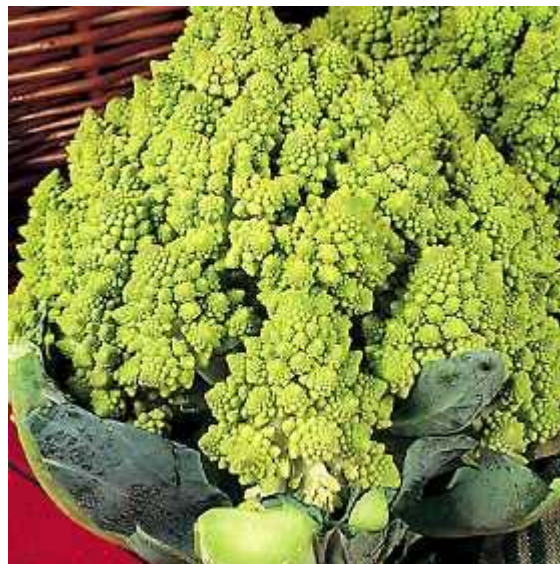
Název brokolice (*Brassica oleracea convar. italica*) pochází z latinského výrazu *brocco*. V Itálii se jí pak postupem doby začalo říkat *broccolo*, v množném čísle *broccoli*. (2) Brokolice (*Brassica oleracea convar. italica*) vznikla z divoce rostoucích druhů v oblasti Středozemního moře. Jejím domovem je pravděpodobně Apeninský poloostrov. Odrůda, která je známá i u nás se pěstuje v italské Kalábrii od 16. nebo 17. století. (3)

První pěstitelé byli Římané a z Itálie se postupně dostávala do ostatních evropských zemí. V 18. století se začala s oblibou pěstovat v Anglii, ale její největší popularita začala kupodivu stoupat až po druhé světové válce, kdy se její konzumace rozšířila prakticky po celé Evropě. Ve 20. letech minulého století získala na popularitě v USA. V Severní Americe se sice první zmínky o brokolici objevují již v roce 1806, ovšem s největší

pravděpodobností se zde začala pěstovat s prvními italskými přistěhovalci už mnohem dříve. Nejvíce se doposud pěstuje zejména v okolí New Yorku a Bostonu.

1.2 Základní druhy brokolice

Existuje několik základních druhů brokolice - výhonková, hlávková a květáková. U nás je rozšířená především brokolice výhonková. Středová růžice je největší, boční jsou menší a sklízí se postupným odřezáváním těchto růžic (zdužnatělá květenství). Méně je rozšířená hlávková brokolice s jednou růžicí. Většinou je známe pouze jako dováženou zeleninu z obchodů. Brokolice květáková se u nás nepěstuje vůbec, protože je velmi pozdní. Brokolici je chuťově podobný květák „Romanesco“ (2), který se na pultech našich zelinářských obchodů již pomalu začal objevovat. Květák romanesco (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* Alef var. *botrytis* L.) má zelenožlutou barvu a tvarově představuje růžice uspořádané do pyramidy. Má pevnější konzistenci než klasický květák. Je zdrojem vitamínu B₉ (kyseliny listové) a vitamínu C. V jedné 100 g porci Romanesca je téměř celá denní denní dávka vitamínu C pro dospělého osobu a 30 % denní doporučené dávky vitamínu B₉. (4)



Obr.2 Květák „Romanesco“

1.3 Pěstování brokolice

Jde o dvouletou zeleninu, kterou sklízíme dvakrát ročně. Vyžaduje obdobné pěstitelské postupy jako květák, je však méně náročná, takže není problém pěstovat ji v našich zahradách. (5) Stejně jako ostatní košťáloviny vyžaduje hlubokou nevysychavou humózní půdu s obsahem vápníku. Plodina je citlivá na kyselost půdy, která by neměla být nižší než 6,5 pH. V opačném případě dochází téměř s určitostí k výskytu nádorovitosti způsobené parazitem Nádorovkou kapustovou. Tato choroba způsobuje tvorbu mohutných nádorů hlavně na kořenech a takto napadenou rostlinu je nutné zlikvidovat. Uvnitř nádorů se totiž mohou vyskytovat bílé larvičky, které vyžírají obsah těchto nádorů. (6)

1.4 Zpracování brokolice

Fytochemické látky si svoje vlastnosti uchovávají bez ohledu na způsob zpracování, proto je jedno, jestli konzumujeme brokolici čerstvou, mraženou, surovou nebo vařenou. Dlouhým vařením se snižuje jen množství vitamínu C asi na poloviční množství a proto brokolici připravujeme raději v páře, dusíme, nebo jen krátce opražíme na rostlinném oleji.

Brokolice obsahuje i cennou vlákninu. 1 kg brokolice obsahuje až 13 mg vlákniny, potřebné pro správnou činnost střev a žaludku. Někdy však toto množství vlákniny může být i nevýhodou, může totiž u citlivých jedinců způsobit nadouvání. Tento problém se dá zmírnit přidáním výrazného koření, ať už je to česnek, bobkový list, estragon, muškátový oříšek nebo feníkl. (3)

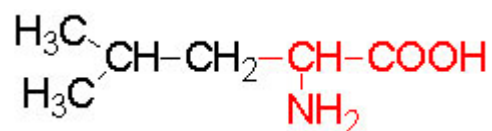
2 FYZIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY BROKOLICE

2.1 Aminokyseliny

Přirozené aminokyseliny vázané v proteinech mají aminovou, někdy iminovou skupinu vázanou na uhlíku bezprostředně sousedícím s karboxylem. Mají, s výjimkou glycinu, jeden symetrický uhlíkový atom v molekule, takže se mohou vyskytovat ve dvou prostorových konformacích. Aminokyseliny vázané v proteinech mají vesměs L-konfiguraci, i když se v přírodě některé D-aminokyseliny také ojediněle vyskytují, a to buď volné, nebo vázané v peptidech. Vzhledem k přítomnosti ionizovatelné bazické aminoskupiny a kyselé karboxylové skupiny mohou aminokyseliny tvořit vnitřní soli.

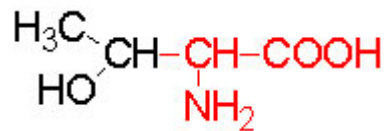
V přírodě již bylo dokázáno kolem 200 různých aminokyselin, ale jen některé z nich jsou hojněji rozšířeny. Z 23 aminokyselin běžně přítomných v bílkovinách dovedou vyšší živočichové a člověk syntetizovat v dostatečném množství ve svém organismu pouze 15, zbývající musí být dodávány v dostatečném množství v potravě. K těmto nezbytným aminokyselinám, tzv. esenciálním, patří: lysin, leucin, isoleucin, fenylalanin, methionin, threonin, valin a tryptofan. (7) V brokolici se vyskytují převážně aminokyseliny: leucin, treonin, fenylalanin a tryptofan, přičemž všechny se řadí mezi aminokyseliny esenciální.

Leucin se vyskytuje ve všech běžných bílkovinách, nejčastěji v množství 7 až 10 %. Obiloviny obsahují proměnné množství leucinu, pšeničné bílkoviny asi 7 %, kukuřičné bílkoviny dokonce 13 %. Volný leucin vzniká ve větším množství při zrání sýrů a činností bakterií.



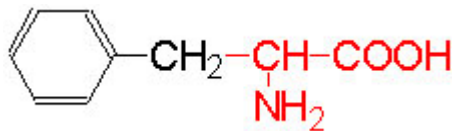
Leucin

Threonin je bohatě obsažen v masu a pivovarských kvasnicích. Jeho obsah v živočišných bílkovinách (maso, vejce, mléko) bývá kolem 5 %, poměrně vysoký obsah má také pšeničná bílkovina. V dalších cereáliích je obsah nižší (často kolem 3%).



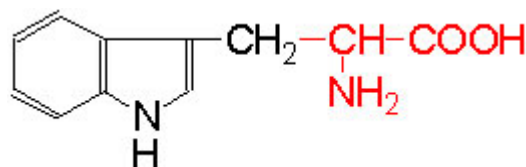
Threonin

Fenylalanin je v potravě obsažen většinou v dostatečném množství, jeho průměrný obsah je 3,5 %. U některých jedinců jeho přítomnost v potravě vyvolává tzv. fenylketonurii. (8) Nedostatečná aktivita *fenylaminooxidasy* způsobuje hromadění fenylalaninu a produktů jeho rozkladu (př. fenyllaktátu), což má za následek poruchy mentálního vývoje. Neléčená fenylketonurie vede k poruchám centrální nervové soustavy. Po 12. a 13. roku věku jedince toto onemocnění zpravidla ustupuje. (9)



Fenylalanin

Tryptofan je v bílkovinách obsažen v množství asi 1,1 %. Obsah tryptofanu v masných výrobcích může proto sloužit jako indikátor použití kvalitního masa. V organismu je tryptofan částečně využíván pro biosyntézu kyseliny nikotinové. (8)



Tryptofan

2.2 Minerální látky

2.2.1 Draslík

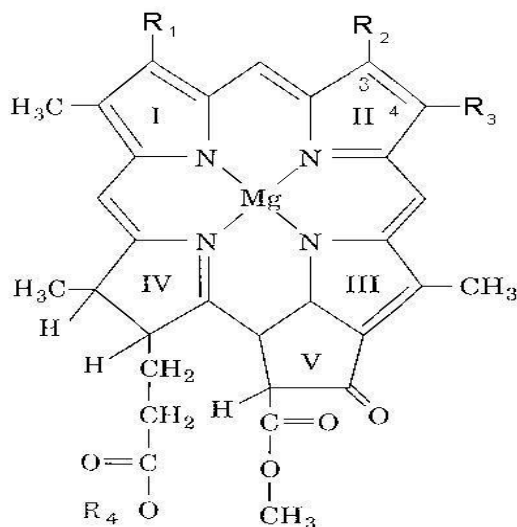
Tento významný prvek se vyskytuje v relativně vyšších koncentracích, v živočišných organismech se nalézají převážně v buňkách a to ve formě K^+ iontů. Draselné ionty se podílejí též na důležitém transportním systému, při kterém transport sodných iontů z buněk směrem ven je spjat s transportem draselných iontů směrem dovnitř. Jde o tzv. spřaženou neutrální pumpu. Jiná situace je v rostlinách, kde draselným iontům připadá mimořádná úloha při řízení metabolických procesů. Obsah draslíku v potravinách je proto zpravidla daleko vyšší než sodíku. Hlavním zdrojem draslíku pro člověka jsou tedy potraviny rostlinného původu. Dobrým zdrojem jsou fazole, špenát, brokolice atd. V 1 kg brokolice se nachází až 4600 mg K^+ .

2.2.2 Vápník

Vápník se podílí na regulaci transportu iontů buněčnými membránami, je nezbytný pro aktivaci některých enzymů, jako např. *pankreatické lipasy*, *fosfolipasy* a apod. Průměrná denní potřeba vápníku u člověka činí 0,8 až 1 g. Vhodným zdrojem vápníku ve výživě člověka je mléko a některé mléčné výrobky, zejména tvrdé sýry. V potravinách rostlinného původu se nalézají ve formě rozličných solí, z nichž např. fytinát a oxalát jsou nevstřebatelné, takže je organismus nemůže využít. V 1 kg brokolice se nachází 1100 mg Ca^{2+} .

2.2.3 Hořčík

V zelených rostlinách je převážná část hořčíku vázána jako centrální atom v chlorofylu, látky nezbytné pro fotosyntetické děje. Růžice a stonky brokolice jsou bohaté na chlorofyl. V rostlinách se vyskytují ještě některé další biokomplexy hořčíku a též anorganické a organické hořečnaté soli. Na rozdíl od potravin rostlinného původu jsou potraviny původu živočišného poměrně chudým zdrojem hořčíku.



chlorofyl

2.2.4 Fosfor

Převážná část fosforu je v lidském těle uložena v kostech a zubech (asi 70 až 80 %). Zbývající část se nalézá ve svalstvu, menší množství v mozku a játrech, a to opět ve formě různých fosforečných esterů a fosforečnanů. Ve formě fosforečných esterů je součástí fosfolipidů, fosfoproteinů, nukleotidů a nukleosidů a řady dalších fyziologicky důležitých sloučenin. Protože často jde o „makroergické“ vazby, označují se jako „makroergické“ fosfáty (sloučeniny). Vhodným zdrojem fosforu je mléko, mléčné výrobky, obilniny, luštěniny, vejce, vlašské ořechy a také brokolice. V 1 kg brokolice se nachází asi 820 mg fosforu.

2.2.5 Síra

V živočišných i rostlinných organismech bývá obsažen velký počet rozmanitých siřných sloučenin, fyziologicky účinných. Jsou to siřné aminokyseliny, sulfatidy, acyl-SCoA, thiolové enzymy, kyselina lipoová. Síru obsahují dokonce i některé vitaminy, thiamin a biotin. Některé siřné sloučeniny působí pravděpodobně v organismu detoxikačně.

V mnoha rostlinách se nalézá ještě značný počet dalších sloučenin síry, např. glykosylmerkaptosloučeniny (thioglykosidy). Produkty enzymově katalyzované hydrolýzy některých těchto glykosidů patří ke strumigenům. Naproti tomu některé deriváty cysteinsulfoxidu, nalézající se v rostlinách čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) a lilkovitých, mají poměrně silný antihypercholesterolemický účinek.

2.2.6 Železo

V mnoha živočišných organismech je tento prvek přítomen jako součást důležitých oxidoredukčních pigmentů a enzymů. Jsou to zejména hemové bílkoviny hemoglobin a myoglobin, dále *cytochromy*, *cytochromoxidasa*, *peroxidasa*, *katalasa* apod.

Transportní formou železa je transferin, což je glykoprotein vázající železo. Zásobní formou železa je ferritin, ve kterém je železo vázáno jako polyhydroxyželezitý polymer na bílkovinu apoferritin.

Zdrojem železa pro člověka bývají potraviny živočišného i rostlinného původu. V potravinách rostlinného původu bývá železo vázáno v různých komplexech, zvláště s alifatickými hydroxykyselinami, aminokyselinami, thioly, fenoly, ale i s polysacharidy, polynukleotidy, peptidy atd. Z hlediska výživy jsou nevyužitelné těžce rozpustné soli, např. fytinát železitý, dále polyhydroxyželezité komplexy, popř. i jiné komplexy.

Dobrym zdrojem železa jsou játra, vaječný žloutek a některé druhy zeleniny jako špenát, brokolice apod. V 1kg brokolice se nachází asi 13 mg železa.

2.2.7 Zinek

Zinek je součástí mnoha enzymů, např. *karboanhydrasy*, *dehydrogenasy* (*alkoholdehydrogenasy*), některých *peptidas*, monofosforečných *esteras* atd. V lidském těle doprovází zinek insulin a prodlužuje jeho hypoglykemický efekt.

V živočišných a rostlinných potravinách bývá zinek vázán v různých komplexech. Nejčastěji se zinek váže přes thiolové skupiny, mimo jiné např. pomocí cysteinu. Známé jsou i jeho vazby s histidinem, někdy též s kyselinou L-askorbovou.

Jeho dobrým zdrojem jsou některé obilniny, luštěniny, maso, játra a některé zeleniny jako je např. brokolice.

2.2.8 Selen

Za esenciální stopový prvek byl selen označen po zjištění, že je součástí tzv. „Faktoru 3“ izolovaného z jater. Ukázalo se, že selen může do jisté míry zastoupit vitamin E a že je pravděpodobně účinným inhibitorem oxidace lipidů v organismu. Příkladá se mu důležitá úloha ochranného faktoru jater. V živočišných a rostlinných organismech byl selen prokázán ve formě některých selenových analogů sirných aminokyselin, např. jako

selenocystein, resp. selenocystin. Rostliny obsahující velká množství selenu jsou nazývány jako rostliny selenofilní. (7)

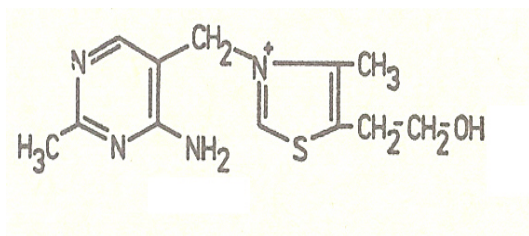
Podle výsledků studie dr. John W. Finleyho z výzkumného centra Ministerstva zemědělství USA v Severní Dakotě prováděném na laboratorních kryších vyplynulo, že strava obsahující speciálně vyšlechtěnou brokolici, která obsahuje vyšší obsah selenu, než je běžný u normální brokolice, dokáže chránit před výskytem rakoviny prsu a prostaty.

Selen jako takový je ve vyšších dávkách toxickou látkou, pokud se ale přijímá jako složka brokolice, jeho toxicita se snižuje. Krysy krmené obohacenou brokolicí měly nižší výskyt nádorů prsních žláz i nižší celkový výskyt nádorů než krysy krmené brokolicí s nižším obsahem selenu anebo krysy, jimž byly podávány doplňky selenu. Výsledky této studie potvrzují podle dr. Finleyho předpoklad, že i lidé by se měli snažit přijímat živiny prostřednictvím potravy, a ne prostřednictvím potravinových doplňků. A i když zrniny (a také maso) jsou nejbohatšími zdroji selenu ve stravě, podle současných poznatků se zdá, že právě brokolice jej obsahuje v nejlépe využitelné formě. (10)

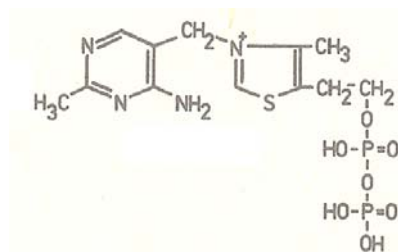
2.3 Vitaminy

2.3.1 Vitamin B₁ - Thiamin

Thiaminhydrochlorid [3-(4-amino-2-metyl-5-pyrimidinyl)methyl-4-methyl-5-(2-hydroxyethyl)thiazoliumchlorid] je v čistém stavu krystalická látka o bodu tání 250°C, která je ve vodě při laboratorní teplotě velmi dobře rozpustná.



Vitamin B₁ – thiamin



Thiamindifosfát, TDP

Z vázaných forem je nejlépe prozkoumán thiamindifosfát, který je koenzymem *dekarboxylas* a *aldehydtransferas*. Hraje podstatnou roli při odbourávání cukrů (pentosový

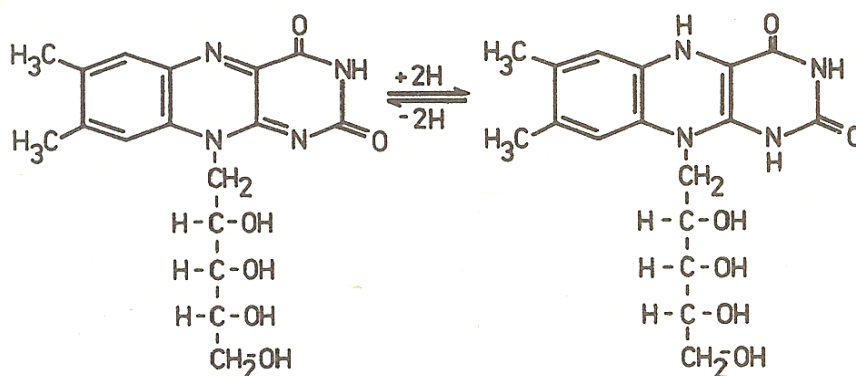
cylus), dekarboxylaci kyseliny pyrohroznové, podílí se rovněž na konečném odbourávání metabolických produktů tuků a bílkovin. *Thiaminasa* štěpí thiamin na pyrimidinovou a thiazolovou složku a lze ji považovat za antivitamin vitamínu B₁.

Denní spotřebu thiaminu u člověka přepočítáváme na energetický příjem, neboť při vyšší energetické spotřebě je nezbytný i vyšší přísun thiaminu. Denní dávka thiaminu činí 1,1 mg. Avitaminosa thiaminu je známá jako nemoc „beri-beri“, která se ve své typické formě projevuje u osob živených převážně loupanou rýží. (7) Tato nemoc se projevuje nervovými příznaky, atrofií svalů, poruchami srdeční činnosti a úbytkem kosterního svalstva. (11)

Hlavním zdrojem thiaminu v potravinách jsou pivo, játra, maso, vejce, mléko, špenát, brokolice atd. V 1kg brokolice se nachází kolem 1 mg tohoto vitamínu.

2.3.2 Vitamin B₂ – Riboflavin

Riboflavin patří do skupiny látek zvaných flaviny. Základem struktury riboflavinu je isoalloxazinové jádro, na které je vázán ribitol, alditol ovozený od D-ribosy. (17) Riboflavin je chemicky 6,7-dimetyl-9-(D-1'-ribityl)isoalloxazin.

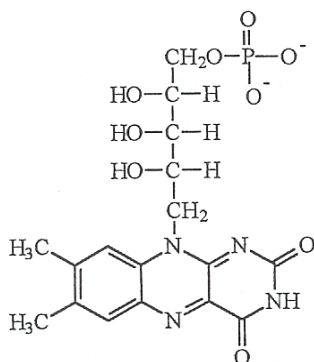


Vitamin B₂ – riboflavin

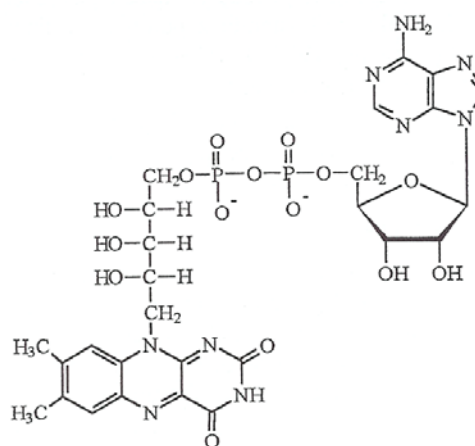
Riboflavin je poměrně značně stálý vůči teple, především v kyselých roztocích.

V neutrálních a alkalických roztocích je velmi labilní a rozkládá se za vzniku fyziologicky neúčinných rozkladných produktů. Je velmi citlivý především na světelné záření. Účinkem světla v neutrálním nebo kyselém prostředí přechází odštěpením postranního řetězce na lumiflavin, v alkalickém prostředí poskytuje za stejných podmínek lumichrom.

Riboflavin se vyskytuje v biochemických systémech ve formě koenzymů oxidoredukčních enzymů. Nejběžnějšími jsou flavinmononukleotid (FMN) a flavinadeninukleotid (FAD). Flavinové koenzymy se snadno redukují. Tato reakce je reverzibilní a umožňuje přenos vodíku ze substrátu na akceptor pomocí flavinových enzymů.



FMN



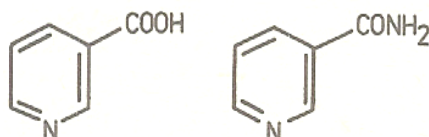
FAD

Avitaminosa se projevuje zánětlivými změnami sliznic a kůže, eventuálně i nervovými poruchami.

K nejbohatším zdrojům riboflavinu patří játra, vejce, sýr a maso a také brokolice. V 1 kg brokolice se nachází až 2,1mg vitamínu B₂. Během technologického a kulinářského zpracování potravin dochází ke ztrátám riboflavinu především vyluhováním.

2.3.3 Vitamin B₃ – Kyselina nikotinová a její amid

Kyselina nikotinová (3-pyridinkarboxylová kyselina) je bezbarvá krystalická látka, na vzduchu i v roztoku naprosto stálá. S řadou kyselin tvoří velmi snadno soli. Amid kyseliny nikotinové tvoří bezbarvé krystaly, které jsou bez zápachu a mají nahořklou chladivou chuť. Je stálý a dobře rozpustný ve vodě. Kyselinami a zásadami se zmýdelňuje na kyselinu nikotinovou.

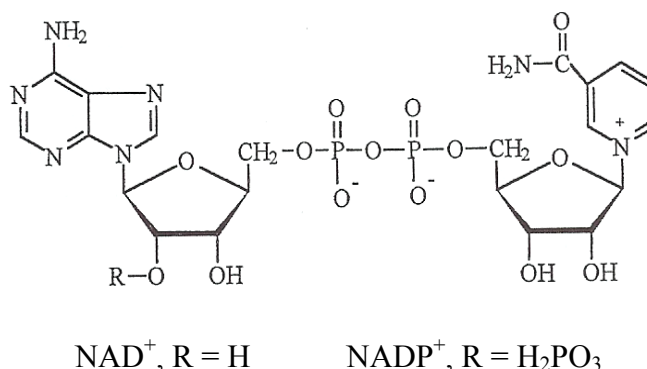


Kyselina nikotinová a nikotinamid

Kyselina nikotinová i její amid jsou stejně fyziologicky účinné. Účinnost vykazují i jiné deriváty kyseliny nikotinové, z nichž se v organismu kyselina nikotinová může uvolňovat.

(1) Lidský organismus je schopen omezeně vytvářet niacin z aminokyseliny tryptofanu pomocí enzymů obsahujících jako kofaktor vitamin B₆. (11)

Nikotinamid je součástí nikotinamidadeninukleotidu (NAD) a nikotinamidadeninukleotidfosfátu (NADP), v nichž je pyridinový kruh spojen N-glykosidicky s ribosou. Ribosid aminu kyseliny nikotinové je prostřednictvím kyseliny fosforečné vázán na adenosin.



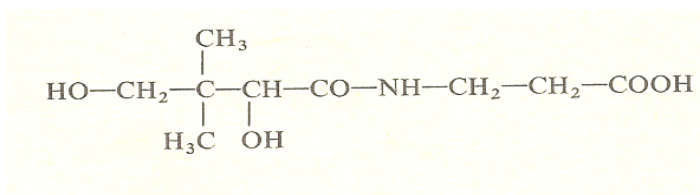
Nukleotidy obsahující amid nikotinové kyseliny jsou koenzymy *pyridinových dehydrogenas*. Nedostatek kyseliny nikotinové v potravě způsobovala dříve pelagru, která se projevovala poruchami nervovými, kožními a chorobami trávicího ústrojí.

Ztráty kyseliny nikotinové a jejího amidu jsou během technologického zpracování potravin a během jejich skladování velmi malé. Největší ztráty jsou způsobeny nepřímo, tj. vyluhováním do vody.

V přírodě jsou kyselina nikotinová a její amid hojně rozšířeny. Nejbohatším zdrojem kyseliny nikotinové jsou kvasnice, z hlediska výživového maso, vnitřnosti a také brokolice. V rostlinných pletivech převažuje kyselina nikotinová, v živočišných tkáních její amid. V 1 kg brokolice je obsaženo 10 mg niacinu.

2.3.4 Vitamin B₅ - Pantothenová kyselina

Kyselina pantothenová (D-(+)- α,γ -dihydroxy- β -dimethylbutyryl- β' -alanin) je většinou viskozní, slabě nažloutlá olejovitá látka. Je velmi dobře rozpustná ve vodě, v roztoku je stabilní v rozmezí pH 5,5 až 7,0. Při zahřátí s kyselinami a alkáliemi se snadno štěpí. Kyselina pantothenová tvoří řadu solí rozpustných ve vodě.



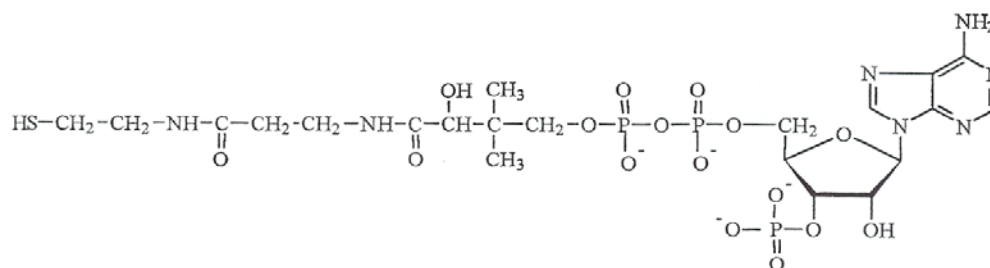
Vitamin B₅ – Kyselina pantothenová

Kyselina pantothenová kyselina je složkou koenzymu A, který přenáší zbytek kyseliny octové a jiných karboxylových kyselin ve formě acetyl-SCoA. Kyselina pantothenová je poměrně stálá, přičemž fosforylované deriváty, které jsou součástí koenzymu A, jsou stabilnější než volná kyselina.

Koenzym A se podílí na řadě metabolických pochodů (β -oxidaci mastných kyselin, citrátovém cyklu, metabolismu aminokyselin, tuků a sacharidů). (7) Koenzym A zasahuje také do biosyntézy cholesterolu, steroidních hormonů, porfyrinu a hemoglobinu.

Kyselina pantothenová se v biochemických systémech vyskytuje ještě v další formě a to vázaná v nosném proteinu označovaném jako ACP-SH (ACP, Acyl Carrier Protein), který má významnou úlohu při biosyntéze mastných kyselin. (11)

Její nedostatek se projevuje degenerativními zánětlivými změnami na sliznicích, především dýchacího a trávicího systému.

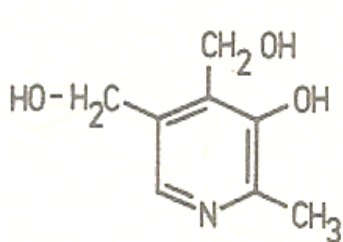


CoA-SH

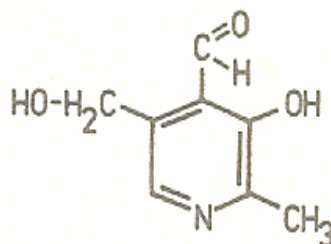
Dobrymi zdroji kyseliny pantothenové jsou kromě kvasnic především vnitřnosti, jako játra, ledviny apod., z ostatních potravin pak vejce a listová zelenin, dále brokolice.

2.3.5 Vitamin B₆ - Pyridoxin

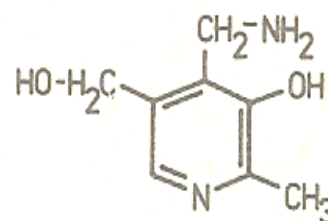
Tímto pojmem se označují všechny tři fyziologicky účinné formy vitaminu B₆, tzv. pyridoxinová triáda, tvořená pyridoxolem (2-methyl-3-hydroxy-4,5-bishydroxymethylpyridin), pyridoxalem (2-methyl-3-hydroxy-4-formyl-5-hydroxymethylpyridin) a pyridoxaminem (2-methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-hydroxymethylpyridin). (7) Všechny tři látky mají bazický charakter a vytvářejí s minerálními kyselinami soli rozpustné ve vodě.



pyridoxol



pyridoxal



pyridoxamin

V biochemických procesech vystupuje pyridoxin ve formě fosfátových derivátů pyridoxalfosfátu a pyridoxaminfosfátu. Pyridoxalfosfát se jako kofaktor *dekarboxylas* zúčastňuje reakcí v metabolismu aminokyselin. Z reakcí se jedná hlavně o transaminaci, při níž je pyridoxalfosfát koenzymem *aminotransferas*, o dekarboxylaci aminokyselin a jejich racemizace. (11)

Nedostatek pyridoxinu způsobuje především nervové poruchy. V evropských podmínkách se s avitaminosou vitaminu B₆ prakticky nesetkáváme.

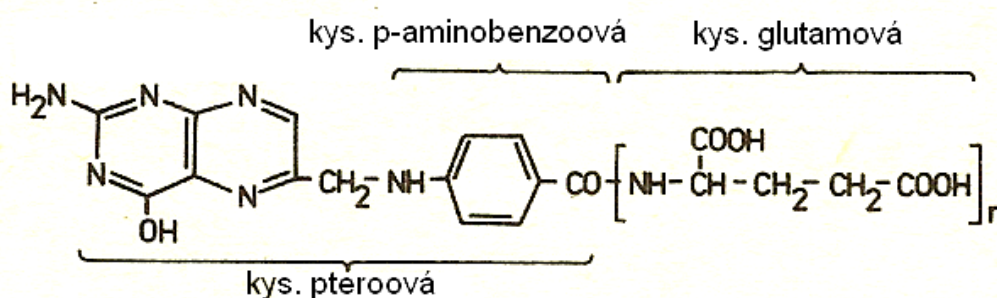
Obecně jsou sloučeniny pyridoxinové triády při tepelných procesech dosti stálé, rovněž vlivem vzdušného kyslíku nedochází k podstatnějšímu rozkladu. Poměrně citlivé jsou však na účinky světelného záření.

K nejbohatším zdrojům pyridoxinu patří droždí, maso, játra, obiloviny a také brokolice.

2.3.6 Vitamin B₉ – Kyselina listová

Kyselina listová neboli kyselina pteroylglutamová je N-(2-amino-4-hydroxy-6-pteridylmethyl)-p-aminobenzoylglutamová kyselina. Kromě této kyseliny se vyskytují v přírodě její další deriváty nazvané foláty, které ve své molekule obsahují několik zbytků kyseliny glutamové (až 6 zbytků).

Kyselina listová je látka krystalická, žluté barvy, při zahřevu se rozkládá. Ve vodě je málo rozpustná, s alkáliemi tvoří soli snadno rozpustné ve vodě.



Vitamin B₉ - kyselina listová

Aktivní formy kyseliny listové kyseliny se v enzymových systémech podílejí na přenosu jednouhlíkatých radikálů, především metylu, hydroxymethylu, formylu a karboxylu.

Při jejich nedostatku v potravě dochází k poruchám tvorby krve. Dobrymi zdroji kyseliny listové jsou zelené části rostlin, to znamená zelenina a v menší míře ovoce. Ze živočišných tkání jsou nejbohatším zdrojem kyseliny listové játra. V biologických substrátech je kyselina listová často vázána na bílkoviny. (1)

Lékaři na celém světě v posledních letech studují vliv kyseliny listové na některá onemocnění. Týká se to převážně onemocnění jako jsou defekty nervové soustavy, kardiovaskulární a nádorová onemocnění.

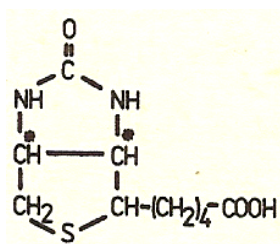
Tabulka 1: Vybrané potravinové zdroje kyseliny listové (12)

Potravina	μg.100g ⁻¹
zelí	70

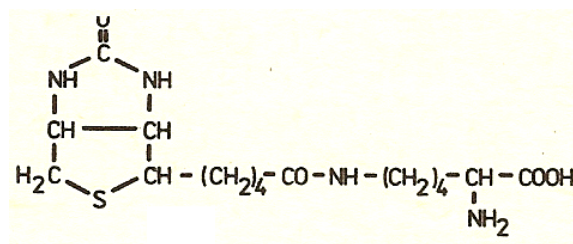
špenát	100
brokolice	100

2.3.7 Biotin

Biotin [(+)-cis-2-(4-karboxybutyl)-3,4-(2-oxo-3,4-imidazolidino)thiofan], za svůj vysloveně hydrofilní charakter vděčí jednak karboxylové skupině, ale také, a to především, vázané močovině. Rozpouští se sice málo ve studené vodě, zato však velmi snadno ve vodě teplé a v alkáliích. Biotin je bílá krystalická látka. Dříve byl nazýván jako vitamin H.



Biotin



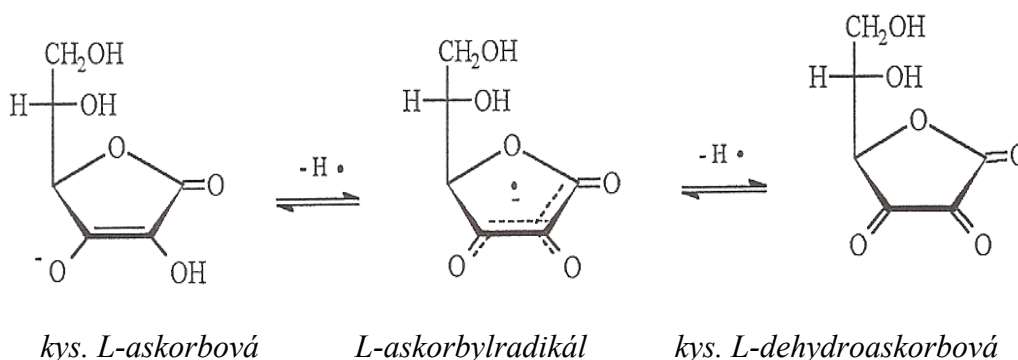
Biocytin

V přirozených systémech je biotin součástí některých *ligas*, které katalyzují inkorporaci nebo přenos oxidu uhličitého. Je také koenzymem *karboxylas*, acetyl-SCoA a uplatňuje se při biosyntéze mastných kyselin. V autolyzátu kvasnic se nalézá derivát biotinu (biocytin), který po kyselé hydrolýze poskytuje biotin. Biocytin je v živočišném organismu *biocytinasou* štěpen na biotin a lysin. (7) Komplex aktivního biotinu s proteinem se označuje BCCP (*Biotin Carboxyl Carrier Protein*) a uplatňuje se při biosyntéze mastných kyselin. (11)

Nedostatek biotinu se u živočichů projevuje šedivěním a šupinatěním kůže, úbytkem tukových rezerv, spavostí a četnými dalšími příznaky. Biotin se vyskytuje v těchto potravinách: maso, játra, vejce, mléko, listová zelenina a taktéž v brokolici.

2.3.8 Vitamin C

Vitamin C tvoří L- askorbová a L-dehydroaskorbová kyselina. Kyselina L-askorbová je bílá krystalická látka, dobře rozpustná ve vodě. Snadno se oxiduje vzdušným kyslíkem na kyselinu L-dehydroaskorbovou. Oxidaci katalyzují některé běžné kovy, především pak soli měďnaté a železité. V biologických systémech katalyzují oxidaci kyseliny askorbové přímo nebo nepřímo různé enzymy jako *askorbasa*, *peroxidasa*, *cytochromoxidasa* a jiné.



Obr. 3 Oxidace kyseliny L-askorbové

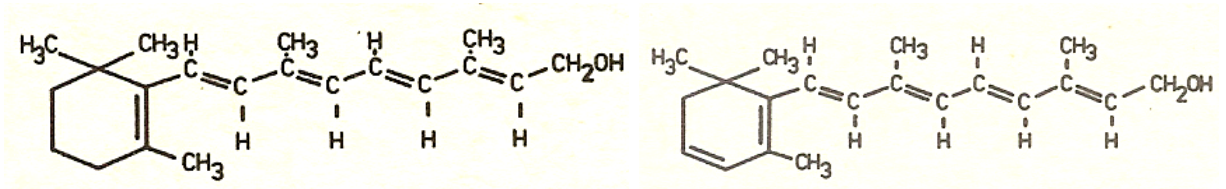
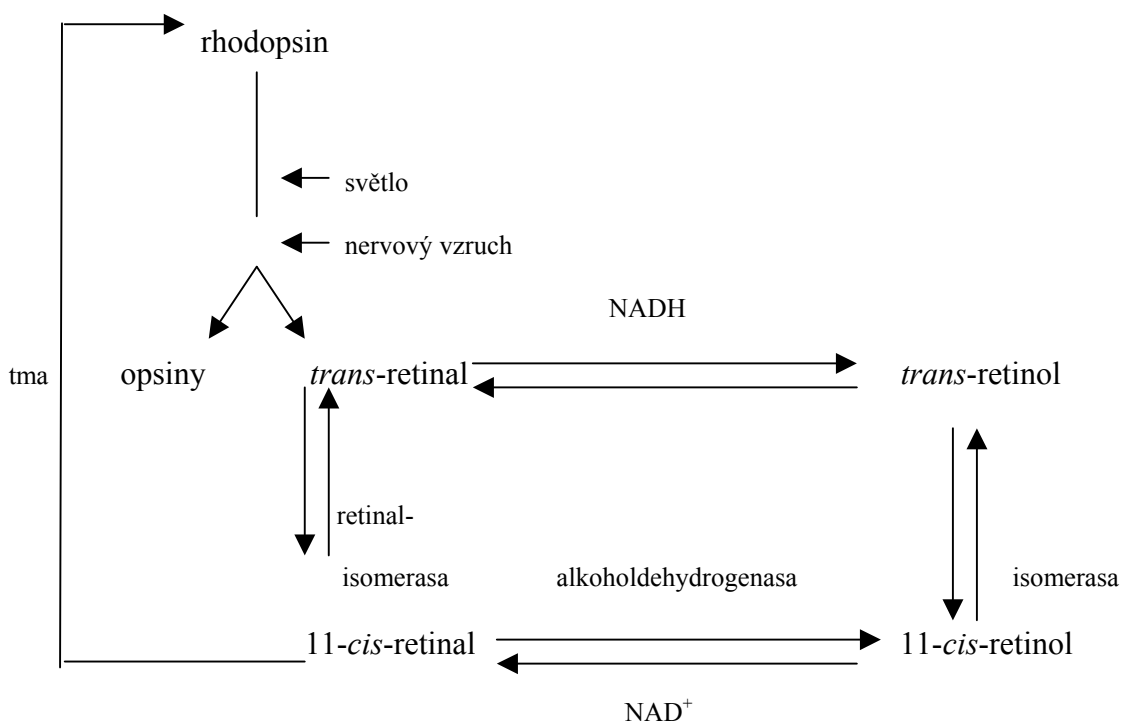
Kyselina askorbová se v biologických systémech účastní hlavně přenosu elektronů v oxidačně redukčních systémech. Podílí se na některých hydroxylačních pochodech (oxidace *p*-hydrofenypropionové kyseliny, hydroxylace prolinu apod.). Kyselina L-dehydroaskorbová má vzhledem k reverzibilnímu redoxnímu systému stejnou fyziologickou účinnost jako kyselina askorbová. Z uvedených důvodů vyplývá, že kyselina askorbová bude během technologických operací podléhat snadno oxidaci, především v prostředí s vyšším pH, za zvýšené teploty a v přítomnosti atmosférického kyslíku. (7)

Brokolice obsahuje 110 mg vitamínu C na 100 g čerstvé hmoty. Jedna hlávka brokolice obsahuje dvojnásobek denní dávky vitamínu C. Čím jsou růžičky brokolice tmavší, tím je v ní více vitamínu C a β -karotenu. (3) V 1 kg brokolice je obsaženo 1140 mg vitamínu C.

2.3.9 Vitamin A a jeho provitaminy

Účinnou formou vitamínu A jsou retinoly a retinaly. Retinol obsahuje ve své molekule β -jononový kruh a pět konjugovaných dvojných vazeb, z nichž čtyři v postranním řetězci mohou vytvářet příslušné *cis* a *trans*-izomery. Z těchto izomerů jsou jen dva fyziologicky

účinné. (7) Podle počtu dvojných vazeb rozlišujeme vitamin A₁ (all-*trans*-izomer) a A₂ (3-dehydroretinol).(11) Retinol má velký význam při fotorecepci v oční sítnici (Waldův cyklus). (7)

Vitamin A₁Vitamin A₂

Obr.4 Waldův cyklus

Retinol a neoretinol se vyskytují pouze v živočišných materiálech (obvykle v poměru 2:1), zatímco v rostlinných systémech se nacházejí pouze provitaminy vitaminu A, prekurzory retinolu – **karotenoidy**.

Při nedostatku vitaminu A poklesne nejprve hladina karotenoidů v krvi, teprve po vyčerpání zásob karotenoidů se snižuje i hladina vlastního vitaminu A. Významným symptomem je šeroslepost. Při těžších formách avitaminosy dochází ke xeroftalmii (vysychání a rohovatění spojivek) a mohou být zasaženy i rohovky (keratomalacie). dobře rozpustná ve vodě. Snadno se oxiduje vzdušným kyslíkem na L-dehydroaskorbovou

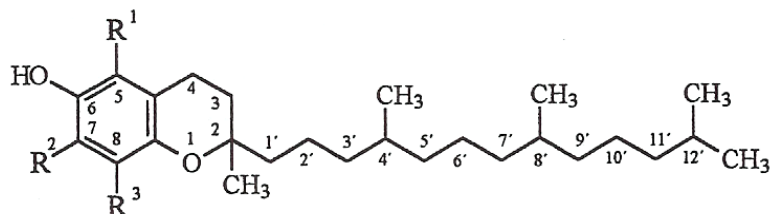
kyselinu. Oxidaci katalyzují některé běžné kovy, především pak soli mědnaté a železité. V biologických systémech katalyzují oxidaci askorbové kyseliny přímo nebo nepřímo různé enzymy jako *askorbasa*, *peroxidasa*, *cytochromoxidasa* a jiné. (11)

Jak již bylo uvedeno retinol se nevyskytuje v rostlinných materiálech, bohatě jsou zde však zastoupeny jeho prekurzory, tj. karotenoidy, které ve své molekule mají alespoň jeden β -jononový kruh a konfiguraci bočního řetězce, jež umožňuje vznik aktivní molekuly vitamínu A.

Dobrym zdrojem fyziologicky účinných karotenoidů, zvláště β -karotenu, jsou především některé druhy ovoce a zeleniny (mrkev, špenát, petržel, rajská jablíčka, brokolice apod.). Vysoký obsah vitamínu A mají rybí tuky, máslo, játra. V 1 kg brokolice je obsaženo 3,2 mg β -karotenu.

2.3.10 Tokoferoly (vitaminy skupiny E)

Do skupiny tokoferolů řadíme látky, které jsou odvozeny od tokolu (2-methyl-2-(4',8',12'-trimethyltridecyl)-6-hydroxychromanu a tokotrienolu (2-methyl-2-(4',8',12-trimethyldecyl-3';7',11-trienyl)-6-hydroxychromanu). Tyto látky se od sebe liší počtem a polohou methylových skupin. Základní látkou je α -tokoferol (5,7,8-trimethyltokol).



Tokoferol

Jednotlivé tokoferoly nemají stejnou biologickou účinnost. Nejúčinnější je α -tokoferol. Podle Joffa a Harrise klesá účinnost v pořadí tokoferolů α - > β - > γ - > δ -tokoferol v poměru 100 : 40 (5 až 8) : 1.

Tokoferoly jsou za normální teploty téměř bezbarvé nebo jen slabě žluté viskózní oleje, dobře rozpustné v tucích a organických rozpouštědlech. Při nižších teplotách jsou stále vůči alkáliím a za vyšších teplot se rozkládají. Jsou velmi citlivé na kyslík a velmi snadno se oxidují. Ultrafialovým zářením se tokoferoly rychle rozkládají.

Významné jsou také antioxidační vlastnosti tokoferolů; užívá se jich velmi často k stabilizaci tuků v průmyslové praxi. Hlavním zdrojem tokoferolů jsou oleje z obilných klíčků a rostlinné oleje. Ve větším množství jsou obsaženy rovněž v másle, vejcích a luštěninách a v brokolici.

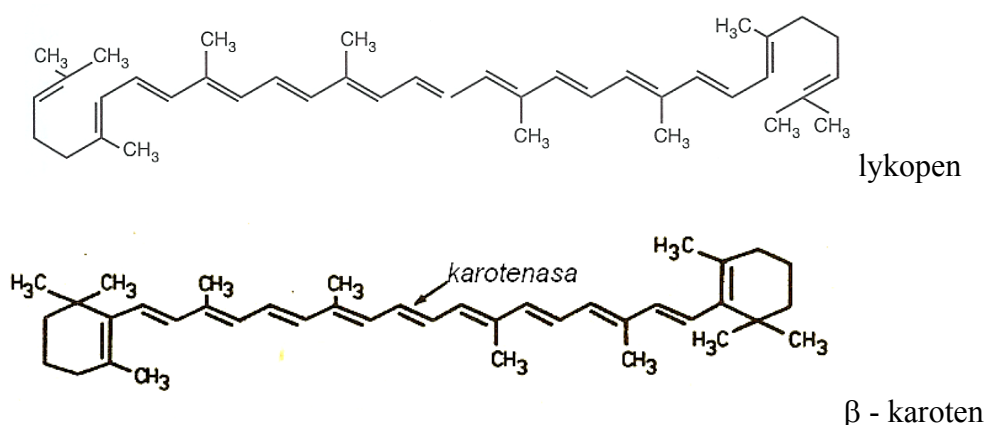
2.4 Přirozená barviva

2.4.1 Karotenoidy

Karotenoidní barviva tvoří skupinu žlutých, oranžových, červených až fialových pigmentů, které ve většině případů doprovázejí chlorofyly v rostlinách. Nacházíme je však i v mikroorganismech a v živočišných organismech. Jsou to především β -karoten, lutein, violaxanthin a neoxanthin.

Z hlediska chemického složení lze rozdělit na karoteny a xantofyly. Karoteny jsou rozpustné v petroletheru a jen velmi málo v ethanolu, xantofyly jsou rozpustné v ethanolu a nerozpustné v petroletheru.

Karotenoidní barviva jsou nenasycené sloučeniny tvořící řadu isomerů. V přirozených systémech se však nejčastěji vyskytují v *all-trans*-konfiguraci. Všechny lze odvodit od lykopenu, hlavního pigmentu rajčat, šípků a jiných plodů. Mají obvykle 40 atomů uhlíku a jsou tvořeny isoprenovými jednotkami. Izomerací a cyklizací lykopenu lze postupně odvodit γ -, α - a β -karoten.



Karotenoidní barviva, která ve své molekule obsahují β -jononový kruh, jsou fyziologicky významná, neboť plní funkci provitaminu A. Z hlediska přirozených barviv je další

důležitou karotenoidní látkou lutein (β -xanthofyl), rozšířený v rostlinách především v chloroplastech.

Brokolice je bohatá na β -karoten. Udává se, že jedna hlava brokolice obsahuje polovinu doporučené denní dávky β -karotenu, která činí 2 až 4 mg na den.

2.4.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou barevné sloučeniny uplatňující se v rostlinných systémech. V přírodě se vyskytují jak ve formě volné, tak i glykosidicky vázané. Obě formy jsou barevné a téměř stejně stálé. S výjimkou anthokyanů jsou málo pestré (světle až citrónově žluté) a během technologických operací ani během skladování potravin se nemění do té míry, aby podstatným způsobem ovlivnily zpracovávané potraviny.

Barevná intenzita může být pozměněna tvorbou komplexních sloučenin flavonoidů s těžkými kovy. Některé flavonoidy ovlivňují i chuťové vlastnosti rostlinných materiálů.

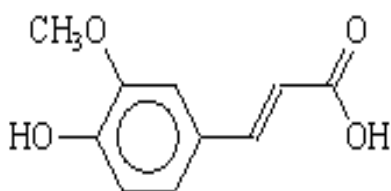
Flavonoidní látky jsou rovněž důležitými antioxidanty.

2.5 Rostlinné fenoly

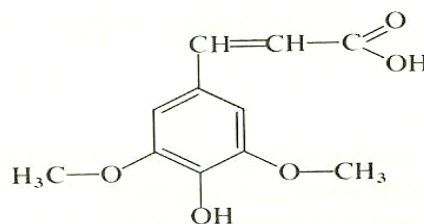
V brokolici se nachází tyto podskupiny rostlinných fenolů hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny, chalkony a aurony.

2.5.1 Hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny jsou v rostlinné říši velmi rozšířeny a vyskytují se téměř ve všech rostlinách. V brokolici se nachází především dvě hydroxyskořicové kyseliny a to 4-hydroxy-3-methoxyskořicová (ferulová), a 4-hydroxy-3,5-dimethoxyskořicová (sinapová).



Kyselina ferulová

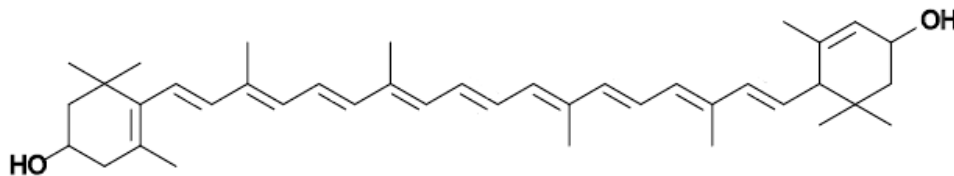


Kyselina sinapová

Uvedené kyseliny se vyskytují ve volné formě jen v nízkých koncentracích. V přírodě jsou převážně zastoupeny ve formě esterů a byly rovněž nalezeny jako aglykony glykosidů. Nejvyšší koncentrace těchto látek byly zjištěny v listech zelených rostlin.

2.5.2 Chalkony a aurony

Skupina chalkonů a auronů není v rostlinách příliš zastoupena. Vyskytují se především v okvěti různých rostlin. Z chalkonů obsažených v brokolici je nejznámější lutein (3,4,2',4'-tetrahydroxychalkon). Obsah luteinu v tepelně upravené brokolici je 2,2 mg na 100 g čerstvé hmoty.



lutein

2.6 Sacharidy

Sacharidy neboli cukry jsou nejrozšířenější složkou potravy. Chemickým složením jsou sacharidy polyhydroxyaldehydy nebo polyhydroxyketony nejméně se třemi alifaticky vázanými uhlíkovými atomy. Sacharidy se dělí podle počtu vázaných monosacharidů na tyto skupiny:

- Monosacharidy** jsou cukry, které hydrolyzou již neposkytují žádný cukr s menší molekulovou hmotností
- Oligosacharidy** poskytují hydrolyzou 2 až 10 molekul monosacharidů.
- Polysacharidy** poskytují hydrolyzou více než 10 molekul monosacharidů. (7)

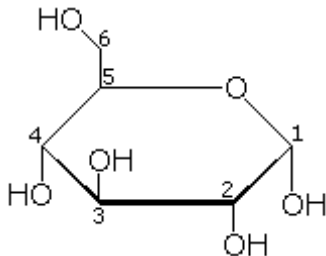
V 1kg brokolice je obsaženo až 44 g sacharidů.

Tabulka 2: Obsah hlavních sacharidů v brokolici a špenátu (% v jedlém podílu) (8)

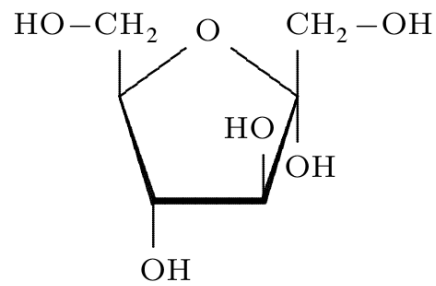
Zelenina	glukosa	fruktosa	sacharosa
brokolice	0,73	0,67	0,42
špenát	0,09	0,04	0,06

2.6.1 Monosacharidy

Hlavními monosacharidy zeleniny jsou, stejně tak jako v ovoci, glukosa a fruktosa.



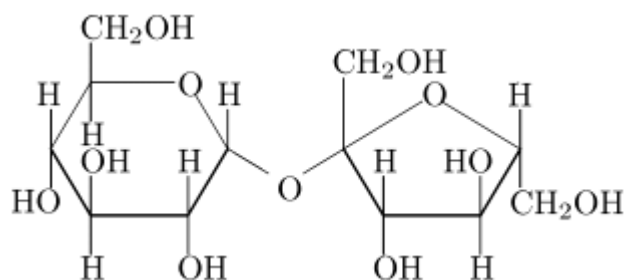
α -D-glukosa



α -D-fruktosa

2.6.2 Oligosacharidy

Z oligosacharidů se v brokolici vyskytuje pouze sacharosa.



Sacharosa

2.7 Tuky

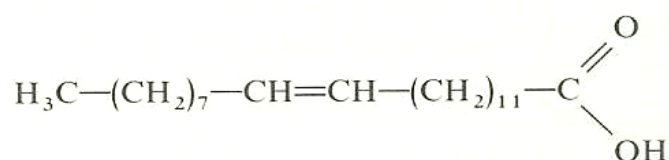
2.7.1 Mastné kyseliny

Z hlediska výživy jsou nejvýznamnější složkou lipidů **mastné kyseliny**.

V brokolici se vyskytují tyto skupiny mastných kyselin:

- a) Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové)
- b) Nenasycené mastné kyseliny několika dvojnými vazbami (polyenové) (8)

Monoenové mastné kyseliny obsahují jednu dvojnou vazbu v molekule, tato vazba má v přírodních lipidech téměř výhradně konfiguraci *cis*. Nejběžnější jsou kyseliny s 18 atomy uhlíku. Z monoenových mastných kyselin je v přírodních lipidech nejrozšířenější kyselina olejová (*cis*-9-oktadecenová), která je zastoupena v lipidech nejvíce. Neobvyklou strukturu má **kyselina eruková** (*cis*-11-dokosenová), která je přítomna v semenech rostlin brukvovitých, hořčičných nebo řepkových. (7)



Kyselina eruková

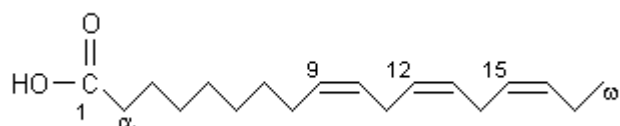
Semena brokolice jsou vydatným zdrojem této kyseliny, která je škodlivá pro lidské zdraví. Z brokolice se nejčastěji konzumují květy. Na pultech obchodů v USA lze však nalézt také výhonky brokolice (vyráběné podle licence Johns Hopkins University) a nedávno bylo patentováno použití semen brokolice a mouky jako potravinářské přísady. Dosud se podrobně nezjišťovalo, zda zvýšená konzumace brokolice je pro spotřebitele bezpečná. Ve výzkumném a vývojovém středisku firmy Kraft Foods (USA) proto zjišťovali složení mastných kyselin a jejich distribuci v různých formách brokolice. Hlavní pozornost se přitom zaměřovala na kyselinu erukovou, která je obsažena v řadě rostlinných druhů z čeledi *Brassicaceae*. O kyselině erukové se zjistilo, že vykazuje různé negativní účinky na organismus (myokardiální lipidosisy, myokardiální nekrosy a narušení oxidační fosforylace). Z tohoto důvodu se obsah kyseliny erukové reguluje v řepkovém semenu, které patří také k rodu *Brassica*.

K analýze byly použity čerstvé a zmrazené květy brokolice, dále čerstvé a zmrazené výhonky a semena brokolice. Zjistilo se, že obsah kyseliny erukové u semen brokolice je 46 %, u výhonků 30 % a u květů 0,2 % z celkového počtu lipidů. V přepočtu na čerstvou

hmotu je obsah kyseliny erukové následující: květy: $0,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, výhonky: $320 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, semena: $12 \text{ } 100 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Na základě těchto výsledků lze předpokládat, že květy a výhonky brokolice podstatně nepřispívají k celkovému příjmu kyseliny erukové ze stravy. Semena brokolice jsou však vydatným zdrojem kyselina erukové. Dříve než dojde k jejich širšímu používání u spotřebitelů, je zapotřebí provést další výzkum zaměřený na biologické účinky. Při konzumaci brokolice je proto nezbytné brát do úvahy účinky nejen fytochemikálií s prospěchem pro zdraví, ale také složek, které jsou pro organismus škodlivé. (13)

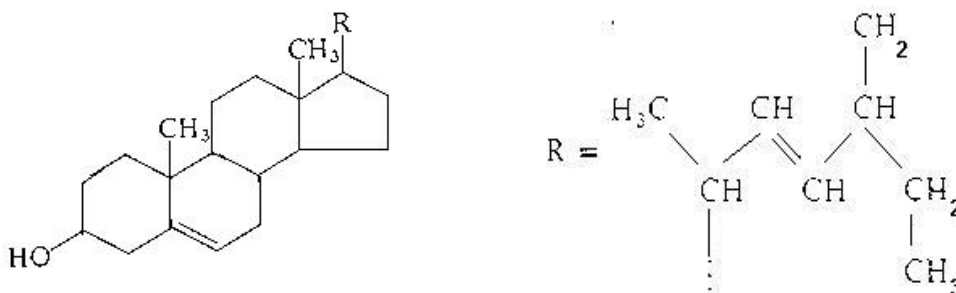
V brokolici se také nachází kyselina linolenová, která obsahuje tři dvojné vazby. V biologických textech často označovaná jako α -linolenová kyselina (9,12,15-oktadektrienová kyselina, řada n-3). (8)



3,7, α -linolenová kyselina

2.7.2 Steroly

Hlavní podíl doprovodných látek lipidů tvoří steroly. Jako steroly označujeme alicyklické alkoholy. Vyskytují se buď volné nebo vázané na mastné kyseliny či aromatické kyseliny. V brukvovitých rostlinách je obsažen brassikasterol. V 1 kg brokolice jsou obsaženy asi 2 g tuku.



Brassicasterol

2.8 Přirozené toxické složky potravin

V potravinách rostlinného původu bývá počet toxicky působících látek zpravidla mnohem větší než v potravinách původu živočišného. Nejčastěji se setkáváme s různými strumigeny (goitrogeny), lathyrogeny, karcinogeny a mutageny. Poměrně hojný je i výskyt různých toxických bílkovin, zvláště různých inhibitorů enzymů, především proteolytických, dále hemagutininů apod. Často jsou zde přítomny i mnohé biogenní aminy, toxicky působící glykosidy apod. Negativně se posuzuje i přítomnost většího množství kyselin šťavelové, fytinové, erukové a sterkulové. Nelze ovšem opomenout ani skutečnost, že některé složky rostlin mohou mít účinky farmakologické. (7) Mezi látky mající jak toxické tak antimutagenní a antikancerózní účinky patří glukosinoláty, které jsou v brokolici obsaženy v hojné míře.

2.8.1 Glukosinoláty

Glukosinoláty se vyskytují především v semenech, ale jsou přítomny ve všech vegetativních a dalších částech rostlin čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Jejich hlavním zdrojem v potravě člověka je zelí, květák, kapusta, kedluben a v současné době také brokolice a čínské zelí.

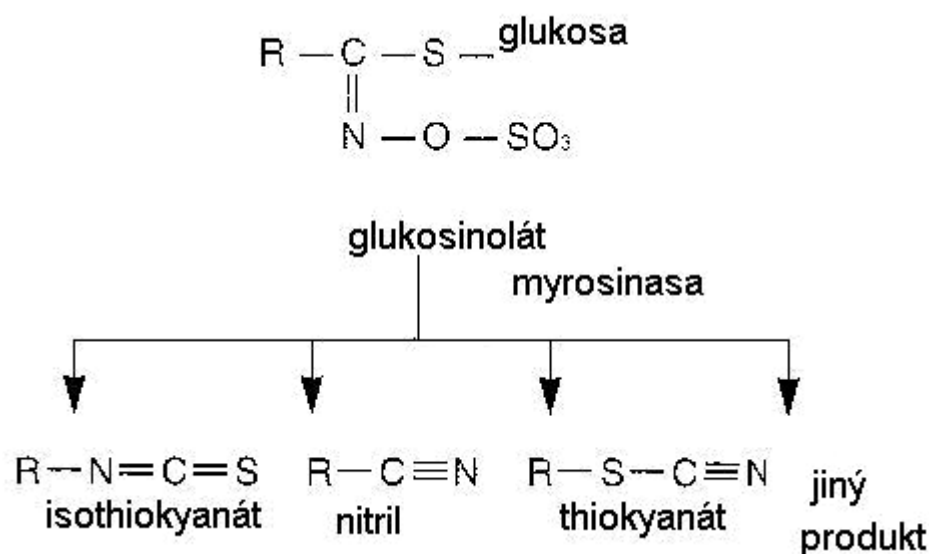
Obsah glukosinolátů v brukvovitých zeleninách je značně proměnlivý v závislosti na druhu zeleniny, odrůdě, podmínkách během vegetace a dalších. Jako příklad je v tabulce 3 uveden obsah glukosinolátů stanovený v laboratoři. Odhaduje se, že denní příjem glukosinolátů je zhruba 50 mg, u vegetariánů dokonce 110 mg, což je množství srovnatelné kupříkladu s denním příjmem vitamínu C. Běžně se v zelenině vyskytuje několik různých glukosinolátů, jejichž zastoupení je charakteristické pro danou zeleninu.

Tabulka 3: Obsah glukosinolátů v některých čerstvých zeleninách

Zelenina	mg.kg ⁻¹
zelí hlávkové	83
květák	295
brokolice	194

Glukosinoláty jsou sloučeniny prakticky indiferentní a nejsou tudíž ani zdraví škodlivé, ani prospěšné. Až do nedávné doby však byly jednoznačně zatracovány pro antinutriční a toxické účinky, které vykazují jejich rozkladné produkty. Bylo totiž prokázáno, že některé produkty degradace glukosinolátů interferují různými mechanismy s metabolismem jodu a působí tedy jako antinutriční, takzvané antithyroidní látky, také nazývané goitrogeny či strumigeny (látky vyvolávající strumu, účinek souvisí s činností štítné žlázy, thyroidea). Některé produkty byly hepatotoxické. Jedinou pozitivní vlastností některých produktů byly antimikrobiální účinky. Od počátku 80. let jsou glukosinoláty, resp. jejich rozkladné produkty, studovány také jako zdraví prospěšné látky s antimutagenními a antikarcinogenními účinky.

Glukosinoláty jsou stabilní látky pouze v nepoškozených rostlinných pletivech. V poškozených buňkách jsou rychle hydrolyzovány zde přítomným enzymem *myrosinase*. Glukosinoláty brokolice zastupuje zvláště glukorafanin, který je prekurzorem sulforafanu, látky prokazatelně bránící nádorovému bujení. Sulforafan zabíjí i bakterii *Helicobacter pylori*, zodpovědnou za vředovou chorobu. Právě tato bakterie je považovaná za původce většiny případů rakoviny žaludku. Po laboratorní úpravě byl sulforafan podáván lidem, kterým léčba antibiotiky nepomáhala. Antibakteriální účinek sulforafanu byl znám už dříve, otázkou bylo jen, nakolik je tato látka účinná při konzumaci brokolice. V pokusech se zjistilo, že sulforafan povzbuzuje tvorbu bílkovin, které působí proti faktorům způsobujícím rakovinu. Dalším krokem do budoucna a výzvou pro vědce bude zjistit, zda by se lidé nemohli vyléčit z nákazy touto bakterií konzumací brokolice a brokolicových výhonků. Antibiotika mohou mít též bakteriocidní účinek na *Helicobacter pylori*. Tato antibiotika jsou však drahá a mají mnoho vedlejších účinků. Pokud budoucí klinické studie ukáží, že přijímaná brokolice může zmírnit průběh nemoci spojené s přítomností této bakterie v lidském těle nebo zabránit jejímu vzniku, mělo by to významný dopad na veřejné zdraví. (3,14,15,17)

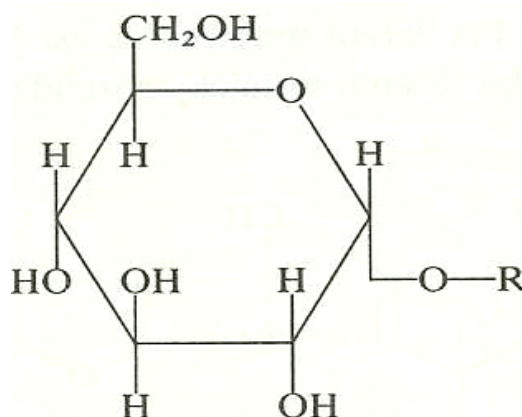


Obr. 5 Produkty degradace glukosinolatů (16)

Sulforafan se uvolňuje porušením rostlinných buněk při kousání brokolice. Syrová brokolice obsahuje této látky málo, zato v brokolici, která je lehce povařená (přibližně při 60°C), jí najdeme dvakrát až třikrát tolik. (18)

2.8.2 Steroidní glykosidy a jim příbuzné glykosidy

Ke steroidním glykosidům patří glykosidy, jejichž aglykony jsou steroidní látky označované jako geniny. Patří sem především srdeční glykosidy a saponiny. Aglykony saponinů nazýváme sapogeniny. Saponiny mohou být přítomny v mnoha rostlinných potravinách, např. špenátu, chřestu, sojových semenech, v brokolici apod. Tyto saponiny se vyznačují nízkou hemolytickou účinností, při požití nejeví téměř žádnou toxicitu. Aglykony těchto téměř netoxických saponinů bývají často esterově vázány na kyselinu glukuronovou.



Saponin

R = steroidní nebo triterpenový zbytek

2.9 Antioxidanty

Jako antioxidanty neboli inhibitory oxidace jsou označovány všechny látky, které svou přítomností zpomalují autooxidační reakce. V užším slova smyslu se jako antioxidanty označují látky, které inhibují autooxidaci tím, že přerušují řetězovou radikálovou reakci. (7)

Hlavními antioxidanty brokolice jsou fytochemikálie, u kterých byla prokázána antikancerózní aktivita *in vitro* i na zvířatech - vitamíny C, E, kyselina listová, selen, karotenoidy a glukosinoláty. (19,20)

Výživové antioxidanty přítomné v zelenině jako je ve vodě rozpustný vitamin C a fenolické směsi, stejně jako v tucích rozpustný vitamin E a karotenoidy, přispívají k prvotní i druhotné ochraně proti oxidačnímu působení. Výsledkem je ochrana buněk před oxidačním poškozením a mohou také zabránit chronickým onemocněním jako je rakovina, kardiovaskulární choroby a cukrovka. (21,22)

Protirakovinotvorné účinky brukvovitých zelenin jsou dány také díky jejich relativně vysokému obsahu glukosinolátů. Určité produkty hydrolýzy glukosinolátů ukázaly antikarcinogenní vlastnosti. Bylo prováděno 7 souběžných studií a 87 kontrolních studií sledující souvislost mezi konzumací zelenin z čeledi brukvovitých a rizikem rakoviny. (23,24)

3 VYSOCEÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (HPLC)

Chromatografie je separační proces, při kterém se látky rozdělují mezi dvě nemísitelné fáze, jednu pohyblivou (mobilní) a druhou nepohyblivou (stacionární), na základě fyzikálně–chemických interakcí, jako jsou adsorpce, rozpouštění, iontová výměna apod. (25)

V nedávné době došlo k velkému rozvoji technologie kolonové chromatografie, která vedla k používání nových a menších praktických velikostí stacionárních fází, které jsou schopné vydržet velké tlaky. Tento rozvoj přispěl k adsorbci, rozdělování, iontové výměně, vylučování a afinitní chromatografii, která vedla k rychlejším a lepším výsledkům a vysvětluje, proč se metoda HPCL stala nejpobulárnější, nejúčinnější a všestrannou formou chromatografického stanovení. (26)

Základní výhodou HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) je široký obor použitelnosti (lze analyzovat až 80 % veškerých známých látek, které se podstatně liší v chemických i fyzikálních vlastnostech). Další předností je možnost účinně ovlivňovat separaci nejenom volbou stacionární fáze, ale rovněž změnami složení mobilní fáze, protože kapalná mobilní fáze není pouze interním nosičem vzorků, ale podílí se přímo na interakcích rozpuštěných látek se stacionární fází. (25) Chromatografickou separaci látek v koloně lze provést třemi rozdílnými technikami:

1. Frontální
2. Vytěšňovací
3. Eluční

Současná praxe využívá výhradně eluční chromatografii. Její princip spočívá v tom, že chromatografickým systémem protéká konstantní rychlostí mobilní fáze o určitém složení a fyzikálních vlastnostech, jejíž složky neinteragují se stacionární fází v koloně. Do proudu této mobilní fáze se nastříkují směsi látek ve formě úzké symetrické zóny. (27)

Zadržování látek rozpuštěných v mobilní fázi – *solutů* – kolonou se nazývá *retence*, zatímco vymývání *solutů* z kolony se nazývá *eluze*. Mobilní fázi se říká eluční činidlo a její schopnost vymývat látky z kolony se posuzuje relativním parametrem *eluční silou*. Mobilní fáze o vyšší eluční síle vymývá látky z kolony rychleji, než mobilní fáze o nižší

eluční síle. Rozpouštědla, seřazená podle stoupající eluční síly, tvoří tzv. eluotropní řadu. Látky lze eluovat třemi způsoby (25):

1. Izokraticky
2. Skokem
3. Gradientem

Pokud se celá chromatografická separace provádí s použitím mobilní fáze o konstantním složení, tedy o konstantní eluční síle, jde o techniku izokratické eluce. Pokud se ovšem eluční síla mobilní fáze podle určitého programu zvyšuje v průběhu separace, pak jde o techniku gradientové eluce. (25) Kolony se vybírají podle tří základních kritérií:

1. Požadovaného rozlišení
2. Požadované rychlosti analýzy
3. Potřebného zatížení kolony

V současné době se jako stacionární fáze používají pórovité částice silikagelu o průměru 10 μm . Umožňují separace s podstatně vyšší účinností, přičemž se dosahuje i vyšší kapacity kolony pro dávkované vzorky a zvyšuje se rychlost analýzy. Účinnost separace vzrůstá s klesajícím průměrem částic. Mikropórové částice používané dnes mají rozměry od 3 do 10 μm . Zavádí se kolony o velmi malém vnitřním průměru. Jde o tzv. mikrokolony s vnitřním průměrem kolem 1 mm a o tzv. kapilární kolony s vnitřním průměrem od jednotek do desítek μm , nejčastěji skleněné nebo z roztaveného oxidu křemičitého, jejichž vnitřní stěny jsou pokryty filmem stacionární fáze. (25,27,28)

Nejběžnějším adsorbentem používaným v HPCL je silikagel. Silikagel je charakterizován průměrem pórů ($5 \cdot 10^{-6}$ až $25 \cdot 10^{-6}$ mm), specifickým povrchem (od 100 do 860 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) a specifickým objemem (0,7 až 1,2 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$). Na povrchu silikagelu jsou volné silanolové – Si-OH a silixanové –Si-O-Si- skupiny. Koncentrace silanolových skupin je nejdůležitějším faktorem při separaci, naopak siloxanové jsou nežádoucí, neboť způsobují nespecifické interakce. V adsorpční chromatografii s polárními adsorbenty se používají nepolární rozpouštědla jako mobilní fáze. Postupem času převládají separace s fázemi méně polárními než fáze mobilní. Zatímco adsorbční chromatografie se hodí pro separace směsi látek nízkomolekulárních, sloučenin lipofilního charakteru a geometrických izomerů, homologické řady látek se nejlépe dělí chromatografií s obrácenými fázemi. Reverzní fáze

se nehodí pro separace silných kyselin a bází, neboť silikagel, který slouží jako nosič reverzní fáze, se rozkládá při extrémních hodnotách pH. Na povrchu silikagelu jsou už zmíněné volné hydroxylové (silanolové) skupiny $-Si-OH$ s aktivním vodíkovým atomem, který může být nahrazen různými organickými skupinami a tak mohou být připraveny stacionární fáze s různými vlastnostmi. V současné době je většina komerčně vyráběných stacionárních fází siloxanového typu $Si-O-Si-R$. Takto se vyrábějí např. fáze se skupinami $-Si-C-Si-ethyl$, $-hexyl$, $-oktyl$, $-odktađecyl$, $-fenyl$, $-amino$ a další. Vysoce účinné kolony, naplněné částicemi o průměru menším než $10 \mu m$, vyžadují k dosažení optimálních průtokových rychlostí vysokých tlaků (jednotky až desítky MPa). (25,27,28)

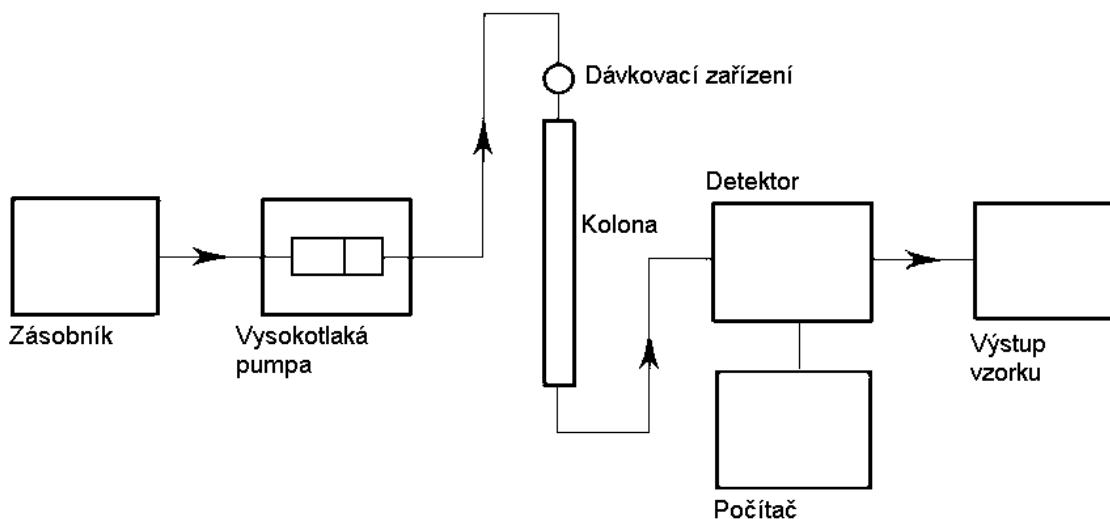
3.1 Přístroje a pomocná zařízení

Mobilní fáze se přivádí ze zásobníku do vysokotlakého čerpadla, které ji přes dávkovací zařízení vzorku dopravuje do kolony. Na výstupu z kolony je připojen detektor, jehož signál se zpracovává na počítači. Pro gradientovou eluci je zapotřebí dvou nebo více zásobníků pro složky mobilní fáze a zařízení pro jejich směšování. Někdy je nezbytné převádět složky vzorku na deriváty, takže systém může obsahovat reaktory pro derivatizaci. Řada vzorků obsahuje balastní látky, proto se do systému zařazuje předkolona, ve které se tyto látky zachytí. Ze zásobníku se mobilní fáze čerpá přes filtr. Některé přístroje umožňují odplynění mobilní fáze. Čerpadlo musí zajistit definovaný a konstantní průtok mobilní fáze.

Nejjednodušší je dávkování vzorku přes septum, které však musí být schopno odolávat velmi vysokým tlakům. Tento dávkovač může potom způsobovat tzv. dodatečné píky (ghost peaks). Proto se v současné době používá dávkování pomocí dávkovacích ventilů, které umožňují podstatně přesnější dávkování a nevyžadují zastavení toku mobilní fáze. Dávkovací ventily jsou vícecestné ventily s vyměnitelnou dávkovací smyčkou. Smyčkové dávkovače umožňují dávkovat libovolný objem vzorku mikrostříkačkou do smyčky při atmosferickém tlaku. Po naplnění smyčky se její obsah vymyje pootočením ventilu mobilní fáze do kolony. Předkolony bývají nejčastěji umístěny mezi dávkovačem a chromatografickou kolonou. Jednotlivé části kapalinového chromatografu se nejčastěji spojují nerezovými kapilárami s minimálním mrtvým objemem. Termostatovat lze kolonu i detektor i celý okruh vedení mobilní fáze. Současně se tím sníží viskozita mobilní fáze. S chemicky vázanými fázemi se obvykle pracuje v rozsahu 10 až $65^\circ C$.

Detektor by měl mít co nejvyšší citlivost detekce solutu a co nejnižší hodnotu meze detekce. Základní linie detektoru (tj. hodnota signálu za nepřítomnosti solutu) by měla mít co nejnižší hodnotou, co nejmenší šum a neměla by vykazovat drift (únik, tj. pomalý systematický posun). Je žádoucí, aby detektor byl stejně citlivý ke všem detekovaným solutům a aby jeho signál co nejméně závisel od experimentálních podmínek. Nejvíce se v praxi používají spektrofotometrické detektory. Jsou selektivní, takže základním požadavkem je, aby při dané vlnové délce detekovaná látka absorbovala co nejvíce. Vlnovou délku lze programovat. Mezi další používané detektory patří fluorimetrické, refraktometrické, elektrochemické, plamenově ionizační nebo kombinace s hmotnostní spektrometrií (LC-MS). (25,28)

V HPLC je nejdůležitější přesnost analýzy, neboť se v ní odráží důvěryhodnost výsledků získaných při dané analýze. Přesnost v HPCL závisí na kvalitě kontroly instrumentálních a separačních podmínek. Správnost metody je dána možnostmi kalibrovat systém standardy o známém složení. (25)



Obr. 6 Schéma chromatografického stanovení (26)

3.2 Použití HPCL k analýze vitaminů

Chromatografické metody našly široké uplatnění jak v analýze potravin, tak i syntetických preparátů. Heterogenní složení těchto matic zapříčiňuje to, že se nedají jednotlivé složky stanovit vedle sebe jinak, než jejich rozdělením. Z těchto důvodů se používají různé dělicí

techniky. K dělení chromatografických látek dochází podle Henryho zákona (koncentrace látek ve fázích se rovnají podílu rozpustnosti). (29)

Na analýzu řady vitaminových složek je dokonale využívána vysokoúčinná kapalinová chromatografie s použitím reverzní fáze (C18). Jako eluční způsob se nejčastěji používá izokratická nebo gradientová eluce. Jako mobilní fáze bývá nejvíce používán methanol, ethanol, acetonitril a voda v různých poměrech, případně v kombinaci s vhodnými pufrů.

3.3 Statistické zpracování výsledků kvantitativních analýz

Výsledky kvantitativní analýzy hodnotíme podle správnosti, tj. schopnosti metody kvantitativně určovat danou veličinu, dále podle přesnosti, tj. schopnosti metody poskytovat konzistentně stejné výsledky pro řadu opakovaných stanovení a podle reprodukovatelnosti, tj. schopnosti metody poskytovat konzistentně stejné výsledky pro nezávislá měření, prováděná se stejným vzorkem a stejným postupem různými pracovníky v různých laboratořích.

3.4 Chromatografické stanovení vitaminu C metodou HPCL

Jednou z možností je chromatografická separace na koloně Biopsher 120-C18, 7 μm , MAC 4,6 x 150 mm. Eluce se provádí nejčastěji izokraticky methanolem při 30°C a průtoku 1,1 ml.min⁻¹. Detekce kyseliny askorbové se provádí spektrofotometricky v UV oblasti při vlnové délce 254 nm. Absorpční maximum je ověřeno stanovením absorpčního spektra standardního roztoku kyseliny L-askorbové. Zpracování dat a vyhodnocení výsledků je prováděno za použití softwaru u příslušného HPCL. Kvantitativní stanovení kyseliny askorbové se provádí pomocí externího standardu.

3.5 Chromatografické stanovení β -karotenu metodou HPCL

Chromatografické stanovení lze provést na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μm) o rozměrech 4,6 x 150 mm, spojené s předkolonou o rozměrech 4,6 x 30 mm se stejnou náplní. Analýza se provádí izokraticky při 45°C a průtoku 1,1 ml.min⁻¹ a jako mobilní fáze se používá methanol. K nástřiku vzorku se používá dávkovací smyčka o objemu 10 μl . Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 450 nm.

3.6 Chromatografické stanovení vitamínu E metodou HPCL

HPCL stanovení vitamínu E lze provést na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μm) o rozměrech 4,6 x 150 mm, spojené předkolonou o rozměrech 4,6 x 30 mm se stejnou náplní. Analýza se provádí izokraticky při 45°C a průtoku 1,1 ml.min⁻¹ a jako mobilní fáze se používá methanol. K nástřiku vzorku se používá dávkovací smyčka o objemu 10 μl . Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 289 nm. Adsorpční maximum tokoferolacetátu se ověřuje změřením absorpčního spektra standardního roztoku. (30)

3.7 Chromatografické stanovení kyseliny listové metodou HPCL

HPCL stanovení kyseliny listové se může provést na koloně Zorbax SB-C18, 3,5 μm , o rozměrech 150 x 2,1 mm. Analýza se provádí při teplotě 30°C a průtoku 200 μl .min⁻¹. Jako mobilní fáze se používá voda + 0,1% kyselina formylová a acetonitril + 0,1% kyselina formylová. Jako detekce se používá hmotnostní detektor (LC-MS). Byla použita hmotnostní spektrofotometrie. (31)

3.8 Určení sulforafanu v brokolici a zelí pomocí metody HPCL

Sulforafan je přirozeně přítomný a běžně konzumovaný isothiokyanát brukvovitých zelenin. Byla popsána jednoduchá a přesná metoda pro analýzu sulforafanu postavená na methylen chloridové extrakci a RP-HPCL využívající lineárních gradientů a acetonitrilu ve vodě. Správnost tohoto postupu byla testována analýzou obsahu sulforafanu v jedlých částech brokolice a zelí, stejně jako v ostatních částech brokolice. Obsah sulforafanu v brokolici byl téměř pětkrát vyšší než v zelí. Nejvyšší obsah sulforafanu byl nalezen v okvěti, zatímco nejnižší obsah byl stanoven v listech. (32)

3.9 Analýza glukosinolátů brokolice a jiných příbuzných zelenin hydrofylickou interakcí kapalinové chromatografie

Pokud se používají metody pro identifikaci a kvantifikaci celkového obsahu rostlinných glukosinolátů jako je desulfatace glukosinolátů, po které následuje chromatografie se reverzní fází, je analýza neporušených glukosinolátů velmi problematická. Chromatografie s hydrofilickou interakcí nabízí novou metodu pro analýzu neporušených glukosinolátů.

Pokud vedle této metody ještě provedeme ionizující párovou chromatografií s reverzní fází, získáme účinnou a kompletní metodu pro analýzu glukosinolátů. (33,34)

3.10 Specifikace kolon používaných v naší univerzitní laboratoři

Supelcosil LC-8 15 cm x 4,6 mm, 5 μ m

Discovery C8 25 cm x 4,6 mm, 5 μ m

Discovery C18 25 cm x 4,6 mm, 5 μ m

YMC Carotenoid S5 25 cm x 4,6 mm, 5 μ m

ZÁVĚR

Brokolice (*Brassica oleracea convar. Italica*) se v posledních letech stala velmi vyhledávanou zeleninou, je to dáno jejími dietetickými účinky na lidský organismus, bohatým obsahem minerálních látek, volných aminokyselin, sacharidů, tuků a v neposlední řadě také vitamínů.

První část této práce je zaměřena na získání obecných informací o brokolici jako je její taxonomické zařazení, původ, fyziologický popis, dále její pěstování a kuchyňské zpracování. Brokolice je zelenina patřící do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) a pochází z divoce rostoucích druhů, které byly původně pěstovány na Apeninském poloostrově.

Podstatně delší část je zaměřena na fyziologicky aktivní látky obsažené v brokolici. Brokolice je jedním z nejlepších zdrojů vápníků a draslíku. Dále obsahuje důležité látky, které mají převážně antioxidační účinky. Jsou to hlavně vitaminy C, A, E, kyselina listová, selen, karotenoidy, flavonoidy a glukosinoláty. Jsou to látky, které mohou jednotlivě nebo společně působit proti rakovinnému bujení. Brokolice je bohatá obzvláště na již zmiňované glukosinoláty, které se v těle přeměňují na isothiokyanáty. Tyto látky, mezi které patří i sulforafan, bývají považovány za nejúčinnější proti rakovinotvorné látce obsažené v potravinách. Sulforafan působí bakteriocidně na *Helicobacter pylori* způsobující žaludeční vředy, které mohou vést až k rakovině žaludku.

Vitamin C je látka hrající důležitou roli v boji proti infekčním chorobám. Kyselina listová zase snižuje riziko rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění a je velmi důležitá zejména v těhotenství. Její dostatek redukuje riziko vzniku zdravotní vady v období prenatalního vývoje - rozštěpu páteře plodu. Vitamin A je důležitou látkou pro proces vidění a jeho provitamin β -karoten je významným protektivním faktorem rakoviny, dále snižuje riziko cévních onemocnění, mrtvice a šedého zákalu. Železo a kyselina listová hrají také značnou roli při prevenci a léčbě anemie (chudokrevnost). Vitamin E rovněž působí proti vzniku rakoviny, navíc napomáhá zpomalovat proces stárnutí. Účinky selenu jako protirakovinotvorné látky byly prokázány v pokusech na laboratorních krysách. Přírodní flavonoidy mohou významným způsobem působit při prevenci chorob majících svůj původ v oxidačním poškození biologických struktur (ateroskleróza, kardiovaskulární onemocnění).

Kyselina eruková, obsažená v květech, výhoncích a semenech brokolice, je lidskému zdraví škodlivá. V květech a výhoncích je obsah této kyseliny zanedbatelný. Naproti tomu semena obsahují vysoký obsah kyseliny erukové. Ty se ovšem u nás zatím nekonzumují, proto není třeba se znepokojovat.

Brokolice je i přesto velmi zdravou zeleninou a rozhodně bychom ji měli zařadit do svého jídelníčku. Nízká konzumace zeleniny patří totiž k záporným faktorům ovlivňujícím výskyt civilizačních chorob a kardiovaskulárních onemocnění.

V poslední části práce je pojednáno o chromatografickém stanovení látek obsažených v brokolici. Jedná se konkrétně o vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), která je velmi rozšířenou a komplexní metodou pro stanovování vitaminů.

Při stanovení vitamínu C se jako mobilní fáze používá nejčastěji methanol a provádí se při 30°C. Detekce se provádí spektrofotometricky v UV oblasti při vlnové délce 254 nm. Stanovení β -karotenu se provádí izokraticky při 45° a jako mobilní fáze se používá methanol. Spektrofotometrická detekce je při vlnové délce 450 nm. Kyselina listová se stanovuje pomocí mobilní fáze, kterou tvoří voda + 0,1% kyselina formylová a acetonitril + 0,1% kyselina formylová při 30°. Jako detekce se používá hmotnostní spektrofotometrie. Vitamin E se stanovuje izokraticky při 45°C a jako mobilní fáze se používá methanol. Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 289 nm.

Dále je možné použít metodu HPCL i pro stanovení glukosinolátů, popřípadě sulforafanu.

Předložená bakalářská práce slouží jako podklad pro navazující diplomovou práci, ve které budou stanovovány vybrané biologicky aktivní látky, převážně vitamíny, a to metodou HPCL s detekcí UV-VIS nebo ECD.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) Dostupné na:
URL:<http://www.agromanual.cz/cz/atlas/plodiny/plodina/brokolice.html>
- (2) Havlů, K., Brokolice na 150 způsobů, vyd. 1., Nakladatelství Vyšehrad 2005, ISBN 80-7021-794-4
- (3) Hallósy, M., Dajme zelenú brokolici, Dostupné na:
URL:<http://www.primar.sk/Page.aspx?ID=3997>, 14.6 2005
- (4) Oldřichová, T., Nový zeleninový hit na našem trhu - Romanesco, Dostupné na:
URL:<http://www.agro-navigator.cz/default.asp?ids=112&ch=1&typ=1&val=9670>
- (5) Dostupné na: URL: <http://www.floranazahrade.cz/zdravi/brokolice.htm>
- (6) Dostupné na: URL: <http://www.pelargonie.cz/brokolice.html>
- (7) Davídek, J., Janíček, G., Pokorný, J., *Chemie potravin*, 1.vyd., Nakladatelství technické literatury, Praha 1983, ISBN 04-815-83
- (8) Velíšek, J., *Chemie potravin I*, 1. vyd. Tábor: Nakladatelství OSSIS, 1999, 352 s, ISBN 80-902391-3-7
- (9) Hoza, I., Kramářová, D., *Potravinářská biochemie I*, UTB ve Zlíně, červenec 2005, ISBN 80-7318-295-5
- (10) Dostupné na: URL: <http://www.magazinzdravi.cz/modules.php?>, Brokolice s vysokým obsahem selenu pomáhá proti rakovině, 10.10.2005
- (11) Hoza, I., Kramářová, D., *Potravinářská biochemie II*, UTB ve Zlíně, březen 2006, ISBN 318-395-1
- (12) Blatná, J., *Výživa a potraviny*, Známe dobře nejmladšího člena skupiny vitamínů-kyselinu listovou?, ročník 60, leden, únor 2005, str.7
- (13) Kvasničková, A., Brokolice nemusí být pouze prospěšná pro zdraví. Obsah kyseliny erukové v brokolici, článek 10691 , Dostupné na:
URL:<http://www.bezpecnostpotravin.cz/default.asp?ids=149&ch=13&typ=1&val=10691>, 17.12.2002
- (14) Prugar, J., Zukalová, H., *Výživa a potraviny*, Dvojitá tvář glukosinolátů, ročník 57, listopad, prosinec 2002, str.184

- (15) Mark, V., Galan, M.D., Arfana, A., *The American Journal of Gastroenterology*, Oral broccoli sprouts eradicate *Helicobacter pylori* infection, Volume 98, Issue 9, Supplement 1, September 2003, Page S57
- (16) Velíšek, J., *Výživa a potraviny*, Glukosinoláty v zelenině: jejich nežádoucí a prospěšné účinky, ročník 51, červenec, srpen 1996, str.36
- (17) Liang, H., Quipeng, Y., *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Effects of metal ions on myrosinase activity and the formation of sulforaphane in broccoli seed, 24 April 2006
- (18) Časopis *Men's health*, Vyzrajte nad rakovinou, září 2003, str.14
- (19) Steinmetz, K. A, Potter, J. D., *Journ. Am. Diet. Assoc* (1996), Vegetables, fruit and cancer prevention: a review, 96, 1027-39
- (20) Jeffery, E. H., Brown, A.F., Kurilich, A.C., *Journal of Food Composition Analysis*, Variation in content of bioactive components in broccoli, Volume 16, Issue 3, June 2003, Pages 323-330
- (21) Podsedek, A., *LWT-Food Science and Technology*, A., Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables, 19 October 2005
- (22) Moreno, D. A, Carvajal, M., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli, 19 May 2006
- (23) Vertoeven Dth., Goldbohm, R. A., Poppel G., Vethagen H., P. A von den Brant, *Cancer epidemiology Biomarkers and Prevention*, Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk, Volume 5, 1996
- (24) Kvasničková, A., Brokolice s různým antikancerogenním potenciálem, Článek 580, Dostupné na: URL: <http://www.agro-navigator.cz/default.asp?ids=161&ch=13&typ=1&val=580>
- (25) Pacáková, K., Štulík, K., *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*, UK Praha, SPN Praha 1986
- (26) Wilson, K., Walker, J., *Principles and Techniques of practical biochemistry*, fifth edition, University Cambridge 2000, ISBN 0521651042

- (27) Frenčík, M., Škára, B. a kol., *Biochemické laboratorní metody*, Alfa, Praha 1981
- (28) Klouda, P., *Moderní analytické metody*, Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 1996
- (29) Davídek a kol., *Laboratorní příručka analýzy potravin*, Nakladatelství technické literatury, Praha 1977
- (30) Kramářová, D., *Účinné složky vitaminových preparátů*, (Diplomová práce), Brno 2000
- (31) Morceau, E., Longlois, D., A quantitative stable-isotope LC/MS method for the determination of folic acid in fortified flour, CFIA, Canada J4K IC7
- (32) Liang H., *Journal of Food Composition and Analysis*, Determination of sulforafan in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography, Volume 19, Issue 5, August 2006, pages 473-476
- (33) Troyer J. K., Stephenson K. K., Fahley J. W., *Journal of Chromatography Analysis*, Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography, Volume 919, Issue 2, June 2001, Pages 299-304
- (34) West, L., Tsui, I., Haas, G., *Journal of Chromatography Analysis*, Single column approach for the liquid chromatographic separation of polar and non-polar glucosinolates from broccoli sprouts and seeds, Volume 966, Issue 1-2, 9 August 2002, Pages 227-232
- (35) Maroubek, M., Březina, P., *Fyziologie a hygiena výživy*, Vyškov 2000, ISBN 80-7231-057-7

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TDP	Thiamindifosfát
FMN	Flavinmononukleotid
FAD	Flavinadenindinukleotid
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
NADP	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
CoA	Koenzym A
ACP	Acyl Carrier Protein
BCCP	Biotin Carboxyl Carrier Protein
HPCL	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie
LC-MS	Kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrofotometrií
RP-HPCL	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází
UV/VIS	Ultrafialová oblast/Viditelná oblast spektra
ECD	Elektrochemický detektor

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr.1 Brokolice chřestová, str.10

Obr. 2 Květák „Romanesco“, str.11

Obr.3 Oxidace kyseliny L-askorbové, str.26

Obr. 4 Waldův cyklus, str.27

Obr. 5 Produkty degradace glukosinolátů, str.37

Obr. 6 Schéma chromatografického stanovení, str.42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vybrané potravinové zdroje kyseliny listové, str.25

Tabulka 2: Obsah hlavních sacharidů v brokolici a špenátu, str.32

Tabulka 3: Obsah glukosinolátů v některých čerstvých zeleninách, str.36

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Doporučené denní dávky minerálních látek.

Příloha II: Doporučené denní dávky vitaminů.

PŘÍLOHA P I: DOPORUČENÉ DENNÍ DÁVKY MINERÁLNÍCH LÁTEK

Minerální látka	Doporučená denní dávka (g)
draslík	2,5 – 5
vápník	0,8
hořčík	0,4
fosfor	1,5
síra	0,5 – 1
železo	0,01 – 0,015
zinek	0,015
selen	0,0001

(35)

PŘÍLOHA P II: DOPORUČNÉ DENNÍ DÁVKY VITAMINŮ

Vitamin	Doporučená denní dávka (mg)
vitamin B ₁	1,1
vitamin B ₂	1,5
vitamin B ₃	16 – 20
vitamin B ₅	7,3
vitamin B ₆	1,7
vitamin B ₉	0,2
biotin	0,03 – 0,1
vitamin A	0,9
vitamin E	12,5
vitamin C	75-100

(17)