

Stanovení biologicky aktivních látek v borůvkách

Zuzana Kolajová

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: **Zuzana KOLAJOVÁ**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Téma práce: **Stanovení biologicky aktivních látek v borůvkách**

Zásady pro vypracování:

1. Fyziologický popis rostliny
2. Princip kapalinové chromatografie
3. Popis biologicky aktivních látek borůvek
4. Výběr optimálních metod pro stanovení vitaminů vyskytujících se v borůvkách
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

Práce pojednává o fyziologických účincích borůvek na lidský organismus, jsou podrobněji popsány její biologicky aktivní látky. Cílem práce bylo rovněž najít vhodné metody stanovení vitaminů vyskytujících se v borůvkách metodou HPCL.

Klíčová slova:

Brusnice borůvka, HPCL, karotenoidy, vitaminy, organické kyseliny

ABSTRACT

This work deals with physiological effects of blueberries on human health, there are especially described biologically active substances. The aim of this work was find out fit methods as well assesment vitamins incident in blueberries by HPCL method.

Keywords:

Billberries, HPCL, carotenoids, vitamins, organic acids

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing.Daniele Kramářové, Ph.D. za velmi cenné připomínky k tématu, za věnovaný čas a za odborné vedení při vypracovávání bakalářské práce. Dále bych chtěla moc poděkovat své rodině za neustálou psychickou i finanční podporu během studia a v neposlední řadě své lektorce jógy Petře Hetmerové, která se starala především o moji duševní pohodu. Děkuji.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucí bakalářské práce a ředitele ústavu. V případě publikace budu uvedena jako spoluautor.

Prohlašuji, že jsem na celé bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Zlíně, 30. 05. 2006

.....

podpis

OBSAH

I	OBSAH	6
II	ÚVOD	8
III	1 BORŮVKY	9
IV	2 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY BORŮVEK	12
2.1	PŘIROZENÁ BARVIVA	12
2.1.1	KAROTENOIDY.....	12
2.1.2	FLAVONOIDY.....	14
2.1.3	ANTHOKYANY.....	17
2.2	VITAMINY BORŮVEK	17
2.2.1	VITAMIN A.....	18
2.2.2	VITAMÍN E.....	21
2.2.3	VITAMÍN C.....	22
2.2.4	VITAMÍN B ₁	26
2.2.5	VITAMÍN B ₂	27
2.3	ORGANICKÉ KYSELINY	29
2.3.1	KYSELINA MLÉČNÁ.....	29
2.3.2	KYSELINA ŠŤAVELOVÁ.....	29
2.3.3	KYSELINA CITRONOVÁ.....	29
2.4	SACHARIDY	30
2.4.1	POLYSACHARIDY.....	30
2.4.2	PEKTINY.....	31
2.5	MINERÁLNÍ LÁTKY	31
V	3 VYSOCEÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE (HPLC)	34
3.1	PŘÍSTROJE A POMOCNÁ ZAŘÍZENÍ	36
3.2	CHROMATOGRFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU C METODOU RP-HPLC	37
3.3	CHROMATOGRFICKÉ STANOVENÍ β-KAROTENU METODOU RP-HPLC	38
3.4	CHROMATOGRFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU E METODOU RP-HPLC	38
3.5	CHROMATOGRFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU A METODOU RP-HPLC	38
VI	ZÁVĚR	40
VII	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	42

VIII SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	45
IX SEZNAM OBRÁZKŮ.....	46
X SEZNAM TABULEK	47

ÚVOD

Konzumace různých druhů ovoce a zeleniny zajišťuje organismu dostatečný příjem většiny vitaminů, minerálních látek, vlákniny a esenciálních látek. Zvýšený příjem ovoce a zeleniny zároveň pomáhá snížit spotřebu potravin s vysokým obsahem nasycených kyselin, cukru nebo solí. V rámci prevence doporučují odborníci sníst minimálně 400 g ovoce a zeleniny denně. Nedostatečná konzumace ovoce a zeleniny patří mezi nejčastější rizikové faktory, které přispívají ke zvýšené úmrtnosti obyvatelstva.

Dostatečný příjem ovoce a zeleniny chrání před mnoha chronickými nemocemi. Snad nejpřesvědčivější výsledky se týkají rakoviny. Výsledky mnoha různých studií jasně ukazují, že strava bohatá na ovoce a zeleninu snižuje výskyt mnoha typů nádorů, především u dýchacích cest a trávicího systému.

Pokud vezmeme v úvahu nedostatky ve výživě obyvatelstva České Republiky, je nutno poukázat na nadměrný příjem jednoduchých cukrů, nedostatečný příjem vlákniny a nedostatek vitamínu C, zvýšenou spotřebu tuků, zejména tuků živočišných a zvýšený příjem cholesterolu.

Zařazením borůvek do svého jídelníčku, i když se jedná o sezónní ovoce, se dají tyto nedostatky značně eliminovat. Obsahují vysoké množství vitamínu C a také látky snižující hladinu cholesterolu v krvi. Preparáty z borůvek by se tedy mohly stát alternativou pro pacienty, kteří trpí vedlejšími účinky při užívání léků ke snížení hladiny cholesterolu.

1 BORŮVKY

Brusnice borůvka (*Vaccinium corymbosum*) je známá pod názvem borůvka chocholičnatá, zahradní, kanadská, vysoká nebo také jako Borůvka americká.

V našich zemích se nejvíce sbírají plody borůvek z přirozených porostů, které však v současnosti nestačí pokrýt zvýšený zájem o toto atraktivní ovoce. Mnohdy se také nejúrodnější plochy nacházejí v přírodních rezervacích nebo v místech, kde je sběr zakázán. I když kanadské borůvky nemají tak silné typické aroma jako plody lesní, je jejich chuť znamenitá (1).

Plody borůvek právem zařazujeme mezi nejzdravější ovoce. Obsahují vitaminy, minerální látky a barviva (anthokyany), které mají příznivý vliv na lidský organismus. Zvyšují obranyschopnost, podporují růst u dětí, výborně působí proti mnohým onemocněním, slouží jako podpůrný prostředek při léčbě cukrovky, dny a revmatismu. Odstraňují únavu očí a zlepšují ostrost zraku. Ulehčují průběh chorob způsobených stárnutím (2,3). Nejnovější výzkumy potvrdily významné protirakovinové účinky na lidský organismus a na kůži poškozenou při nadměrném opalování (4,5). Obecně se doporučuje dospělému jedinci zkonzumovat během léta alespoň 1,5 kg čerstvých plodů pro vyčištění organismu.

Plody lesních borůvek obsahují přes 7 % tříslovin, 20 až 30 % cukru, anthokyanová barviva, dále organické kyseliny citrónovou, jablečnou, jantarovou, mléčnou a šťavelovou, pektin, vitaminy B a C a látky snižující obsah cukru v krvi. Listy obsahují fenolické látky a kyselinu oleanovou a ursolovou. Obsah účinných látek v listech kolísá podle doby sběru a podmínek, kde borůvky rostou. Pozor však na obsah hydrochinonu, který při dlouhodobém užívání zvýšených množství (především při cukrovce), může vést k chronické otravě (6).

Odvar z listů nebo sušených plodů se doporučuje používat jako náhražka pravého čaje. Mají svíravý účinek působící proti průjmům. Mnohem hodnotnější a účinnější než listy jsou plody. Sušené se užívají při průjmových stavech buď přímo, nebo namočené ve studené vodě. Šťáva z čerstvých borůvek byla i klinicky ověřena jako vynikající prostředek k regeneraci sliznic při krčních onemocněních. Stejně účinky vykazují i borůvky zmrazené. Borůvkové barvivo proniká do nemocné sliznice a s její výstelkou vytvoří pevnou černomodrou vrstvičku, pod kterou se vytvoří nová zdravá výstelka a vrchní vrstva se

pozvolna odloupne a zmizí. Účinek byl zaznamenán při onemocnění toxoplasmózou, kterou způsobuje prvok *Toxoplasma gondii*.

Je prokázáno příznivé působení borůvek i na žaludeční stěnu a další části zažívacího traktu, kde má význam především obsah pektinu, který omezuje nepříznivé působení nadměrného množství žaludečních šťáv. Čerstvá borůvková šťáva zředěná vodou má vynikající účinky jako kloktadlo. To je možné připravit i z borůvkového listí. U odvaru z plodů i čerstvého ovoce byl prokázán účinek proti škrkavkám a roupům. Účinek odvaru z listů byl ověřen

u cukrovky, protože podporuje vylučování moči a má dezinfekční účinky při bolestivých zánětech močových cest (7). V plodech i listech byly nalezeny látky s antibakteriálními účinky, které jsou termostabilní. Jsou lépe rozpustné ve vodě než v alkoholu, proto jsou účinnější výluhy a odvary ve vodě, na rozdíl od alkoholických extraktů. Anthokyanové složky zvané myrtilliny mají vlastnosti vitaminů skupiny B s podobnými účinky jako vitamin A. Zpevňují cévní stěny a zlepšují vidění za šera. Některé druhy léčivých rostlin lze použít jako podpůrný prostředek při léčbě cukrovky. Jsou to ty rostliny, které obsahují glukokininy. Tyto látky totiž usnadňují uvolňování insulínu ze slinivky břišní a mírně zvyšují jeho tvorbu. Jejich chemická struktura připomíná například léčiva Amaryl, Diaprel, Glurenorm, Minidiab. Glukokininy jsou obsaženy hlavně v listech rostlin, ale někdy i v jejich podzemních částech, semenech či částech plodů. Stopová množství obsahuje mnoho rostlin. Krátkým varem se glukoniny neničí, proto mohou být sušené rostliny drobně rozmělněny v čajových směsích. Největší účinek pro léčbu cukrovky pak mají jejich kyselé extrakty (8). Pěstování lesních borůvek na zahradě není možné, protože rostlina je pevně vázána na symbiózu s mykorrhizními houbami, které se zatím nepodařilo úspěšně uměle přenést, a ani soužití není dosud dobře prozkoumáno. Pěstovat lze pouze borůvku kanadskou *Vaccinium corimbosum*, které tvoří keře s většími plody, světlou dužninou, ale také s vynikajícími léčivými účinky (1).

Nejvíce osvědčené a nejužívanější jsou **Brusnice borůvka** (*Vaccinium myrtillus*) - list, **Brusnice brusinka** (*Vaccinium vitisidaea*) – list.

V nich obsažené antokyanidiny, které podporují odolnost cév, dále brání shlukování krevních destiček, umožňují regeneraci červeného krevního barviva a zlepšují také kvalitu vidění při tlumeném světle (9).

Během posledních let se značně rozšířilo v řadě zemí EU pěstování borůvek, což platí zejména pro Polsko a některé další nové členské státy.

V Německu rozšířili pěstitelskou plochu borůvek pro sklizeň 2005 asi na 1 400 ha. 80 % této plochy se nachází v regionu Lüneburger Heide, spolkové zemi Dolní Sasko. Polsko bylo v roce 2004 hlavním dodavatelem borůvek do Německa. Dobré odbytové podmínky na zahraničních trzích vedly polské pěstitele k rozšíření plantáží kultivovaných borůvek, které už by měly napřesrok dávat plnou úrodu. Ve Francii se borůvky pěstují hlavně pro export do Německa, kam bylo v roce 2004 dodáno celkem 580 tun. Velkou část borůvkových plantáží ve Francii ovládají němečtí obchodníci, protože potřebují většinu borůvek vypěstovaných ve Francii, podobně jako ve Španělsku, pro zajištění plynulých dodávek během delšího období (10).



Obr.1. Brusnice borůvka

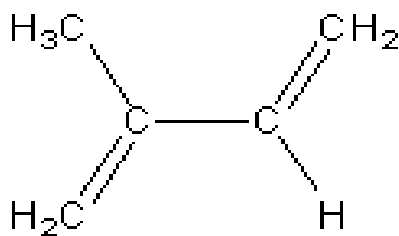
2 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY BORŮVEK

2.1 Přirozená barviva

2.1.1 Karotenoidy

Karotenoidní barviva tvoří skupinu žlutých, oranžových, červených a fialových pigmentů, které ve většině případů doprovázejí chlorofyly v rostlinách. Nacházíme je však i v mikroorganismech a v živočišných organismech. Listy všech zelených rostlin obsahují tytéž hlavní karotenoidy. Jsou to především β -karoten, lutein, violaxanthin a neoxanthin. Kryptoxanthin a zeaxanthin jsou v některých případech minoritními komponentami tzv. xanthofylové frakce. Karotenoidní barviva jsou vázána v chloroplastech ve formě chromoproteinů. Množství jednotlivých karotenoidů v různých rostlinách značně kolísá, obecně je však koncentrace xanthofylů vyšší než karotenoidů (11).

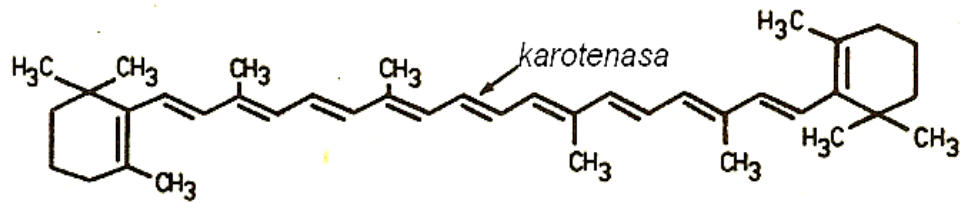
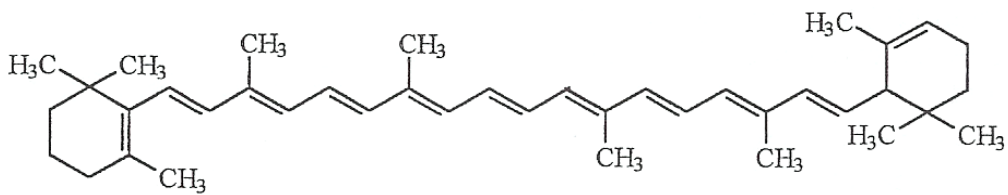
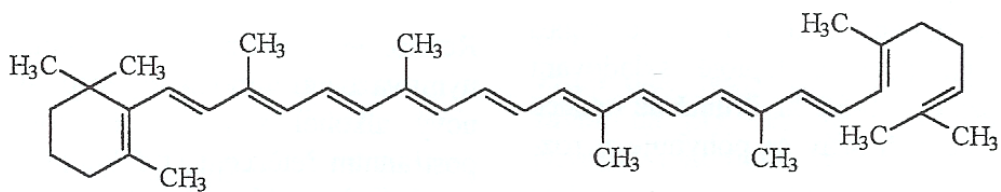
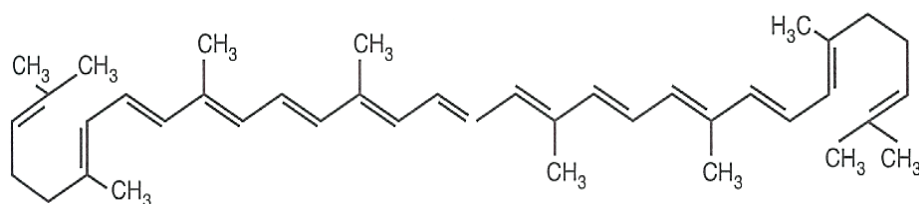
Karotenoidy jsou nerozpustné ve vodě, avšak v tučných a organických lipofilních rozpouštědlech jsou rozpustné. Jsou to nenasycená polyenová barviva složená z isoprenových jednotek.



isopren

Z hlediska chemického složení lze rozdělit na karoteny (bezokysličené uhlovodíky), rozpustné v petroletheru a jen velmi málo v ethanolu, a na xanthofyly (karotenoidní alkoholy, epoxidy, ketony, kyseliny), 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 struktury lykopenu, hlavního pigmentu rajčat, šípků a jiných plodů. Mají obvykle 40 atomů uhlíku. Izomerací a cyklizací lykopenu lze postupně odvodit γ -, α - a β -karoten (12).

 β -karoten α -karoten γ -karoten

lykopen

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

karotenoidní látkou lutein (β -xanthofyl, rozšířený v rostlinách především v chloroplastech) (13).

Stabilita karotenoidních barviv v rostlinných pletivech se liší během technologických operací podle typu přítomných karotenoidů. Ve většině případů se změny karotenoidních barviv posuzují z celkového poklesu obsahu barevných pigmentů sledováním změn absorpance při vlnové délce 450 nm. V kyselém prostředí podléhají karotenoidy isomeraci. Nepříznivý vliv na stabilitu karotenoidních barviv má světlo, jehož působením dochází k isomeraci i k tvorbě epoxyderivátů (11).

β -karoten může pravděpodobně snížit nebezpečí vzniku kardiovaskulárních nemocí. Hraje významnou roli jako velmi silný antioxidační prvek, což znamená, že chrání buňky a tkáně před nebezpečnými látkami, nazývanými volné radikály. Karoteny jsou rovněž důležité pro obranný systém, působí při zánětlivých procesech. β -karoten obsažený v borůvkách pravděpodobně chrání organismus proti několika typům zhoubného bujení (14).

2.1.2 Flavonoidy

Flavonoidní látky neboli flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Svými vlastnostmi se velmi liší od jiných fenolových pigmentů, a proto jsou uváděny jako samostatná skupina rostlinných barviv.

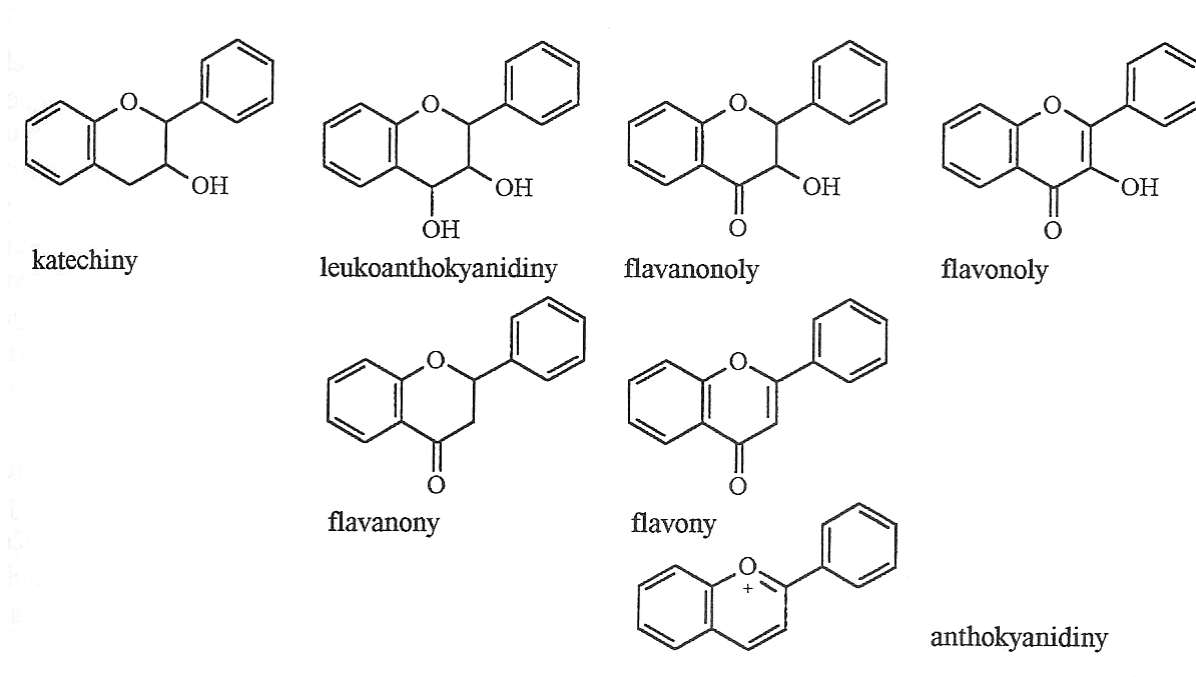
U většiny flavonoidů je C_3 řetězec součástí heterocyklického (pyranového) kruhu. Flavonoidy jsou tedy odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu, substituovaného v poloze C_2 fenylovou skupinou, který se nazývá flavan. Flavanový skelet se skládá ze dvou benzenových kruhů (A a B) a kruhu odvozeného od 2H-pyranu (C). Kruh B je spojen s pyranovým kruhem (C) v poloze C_2 . Běžně bývají všechny tři kruhy substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Vyskytují se jako volné látky nebo častěji vázané v glykosidech (11).

Podle stupně oxidace C_3 řetězce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů:

- **Katechiny** (3-flavanoly)
- **Leukoanthokyanidy** (3,4-flavandioly)
- **Flavanony**
- **Flavanonoly**

- **Flavony**
- **Flavonoly**
- **Anthokyanidy**

Základní struktura těchto flavonoidních látek je uvedena na obrázku č.2. V řádcích zleva doprava roste oxidační stupeň sloučenin a současně také intenzita jejich barvy. Sloučeniny uvedené ve sloupcích pod sebou mají stejný stupeň oxidace.



Obr.2. Flavonoidní látky

Ze strukturně příbuzných sloučenin (vesměs produktů biosyntézy a katabolismu flavonoidů), u kterých jsou kruhy A a B spojeny alifatickým C₃ řetězcem, nebo řetězcem, který je částečně součástí furanového cyklu, se dále rozeznávají:

- **Chalkony a dihydrochalkony**
- **Aurony**

Méně běžné sloučeniny s kruhem B spojeným s pyranovým kruhem C v poloze C-3 se nazývají **isoflavonoidy**, pokud je toto spojení v poloze C-4 nazývají se příslušné sloučeniny **neoflavonoidy**. Potravinářsky významnými jsou pouze **isoflavony**.

Dnes je známo více než 4 000 flavonoidních látek a stále se v různých rostlinných zdrojích nacházejí další sloučeniny. Pouze některé flavonoidy jsou však důležité jako přírodní rostlinná barviva, jiné jsou významné pro svoji chuť (látky trpké a hořké) nebo mají významné biologické účinky.

Katechiny a leukoanthokiny jsou bezbarvé sloučeniny, ale hnědé pigmenty, které z nich vznikají v reakcích enzymového zhnědnutí jsou příčinou zbarvení řady potravin. Z bezbarvých leukoanthokyanů mohou při zpracování ovoce a zeleniny vznikat v kyselém prostředí příslušné barevné anthokianidy. Oligomery těchto sloučenin s trpkou chutí se řadí mezi kondenzované třísloviny čili tanniny. Některé tanniny jsou světle žluté pigmenty (15).

Flavanony a flavanonoly jsou bezbarvé nebo světle žluté sloučeniny a jako barviva nemají velký význam. Některé flavanony jsou však důležitými hořkými látkami grapefruitů a borůvek.

Z flavonoidních barviv jsou nejvýznamnější žlutě zbarvené flavony a flavonoly a zejména anthokyaniny, převážně červené (také žluté či oranžové), fialové a modré pigmenty. Flavonoidy jsou hojně rozšířenou skupinou přírodních polyfenolů. Řada z nich vykazuje silné antioxidační účinky. Je známa též jejich antivirová, antibakteriální, antimutagenní a protizánětlivá aktivita. V současné době se flavonoidním látkám připisuje prominentní role v prevenci nádorových onemocnění. Velice diskutovanou látkou je hlavně *trans*-resveratrol. Jde o trihydroxystilben patřící mezi rostlinné fytoalexiny. Vyskytuje se ve vysoké koncentraci v oplodí hroznů révy vinné (*Vitis vinifera*) v borůvkách (*Vaccinium myrtillus*), v řadě druhů zeleniny a ořechách. Vykazuje silné antioxidační a antimutagenní účinky, působí protizánětlivě, zamezuje agregaci trombocytů. Antikarcinogenní účinek spočívá v inhibici celé řady markerů účastnících se procesu karcinogeneze. *Panax ginseng*-kořen ženšenu je zdrojem ginsenosidů. Ginsenosidy jsou sekundární metabolity ze skupiny triterpenoidních saponinů (16). Zejména ginsenosidy Rb₁, Rb₂ a Rc jsou označovány jako antikarcinogeny, ale jejich mechanismus účinku nebyl plně objasněn. Vzhledem k tomu, že v dnešní době existuje velké riziko vzniku nádorových onemocnění, rozvíjí se snaha o nalezení nových bezpečných látek s chemopreventivní aktivitou.

2.1.3 Anthokyany

Anthokyany, též nazývané **anthokyaniny**, jsou nejrozšířenější a početně velice rozsáhlou skupinou rostlinných barviv. Dosud bylo v přírodních zdrojích identifikováno asi 300 různých anthokyanů. Mnoho druhů ovoce, zeleniny a květin vděčí za svoji oranžovou, červenou, fialovou a modrou barvu, která zvyšuje jejich spotřebitelskou oblibu, právě této skupině ve vodě rozpustných barviv (11). Vysoké množství anthokyaninových barviv obsahují právě borůvky.

Anthokyany izolované z přírodních zdrojů se jako potravinářská barviva používají více než 100 let ve formě koncentrátů šťáv různých plodů. Nevýhodou však je, že intenzivní barvu mají v prostředí o pH menší jak 3,5, takže jsou vhodné jen pro kyselé potraviny. Jejich význam jako potravinářských barviv roste v souvislosti se stoupajícím zájmem spotřebitelů o přírodní látky. Potencionální zdroje těchto barviv jsou omezeny dostupností rostlinného materiálu a celkovými ekonomickými podmínkami jejich výroby, takže pouze několik rostlinných druhů je průmyslově využíváno. Velmi málo je dosud známo o biologických vlastnostech anthokyanů (17). Byla zkoumána jejich toxicita a mutagenita v souvislosti s použitím anthokyanových barviv jako potravinářských aditiv. Toxicita a mutagenita buď nebyla prokázána nebo byla velice nízká, takže anthokyanová barviva jsou povolena k barvení potravin a ve většině zemí není stanoven ani limit pro jejich použití. Velmi nízká toxicita byla zjištěna dokonce i u některých jejich kovových komplexů (hlavně hlinitých a cínatých) (18). Z technologického hlediska je nejdůležitější vlastností anthokyanů barva a její stabilita, ale ta bývá zpravidla poměrně nízká. Hlavními faktory ovlivňujícími barvu a stabilitu anthokyanů jsou struktura molekuly, přítomnost některých enzymů, pH prostředí, teplota, přítomnost kyslíku a působení záření. Z anthokyanů mohou vznikat také jinak barevné nebo bezbarvé produkty reakcemi s jinými složkami potravin, např. s kyselinou askorbovou, oxidem siřičitým, jinými fenoly, kovovými ionty aj. (11).

2.2 Vitaminy borůvek

Vitamíny jsou neenergetické nízkomolekulární organické látky, které lidský organismus v minimálním množství bezpodmínečně potřebuje. Některé vitamíny převážně neumí sám

syntetizovat nebo jen nedostatečně, a proto musí být obsaženy v potravě. Tělo samo je schopné syntetizovat vitamín D a vitamín B₃ (niacin), bakterie v tlustém střevu mohou vytvářet vitamín K a vitamíny z řady B - biotin a kyselinu pantotenovou. Ale bez ohledu na tuto vlastní "doma" produkovanou výrobu stále potřebujeme i tyto vitamíny přijímat zvnějšku (19).

Absence vitamínů v potravě, nebo jejich dlouhodobý nedostatek, vede od latentní karence, projevující se nespecifickými příznaky hypovitaminosy, až k charakteristickým známkám nedostatku, které mohou v těžkých případech avitaminosy končit smrtelně. Nadbytek vitamínů hypervitaminosa přiváděných v potravě je obvykle z těla vyloučen, ale v určitých případech může mít i toxické důsledky (např. vitamín A, D) (20).

Lipofilní vitamíny mohou být v těle ukládány delší dobu, na rozdíl od vitamínů rozpustných ve vodě hydrofilních. Z tohoto důvodu lze jimi organismus předzásobit.

Vitamíny rozpustné ve vodě nejsou v organismu ukládány, a proto musí být jejich přívod potravou plynulý. Slouží jako koenzymy buněčných enzymatických reakcí (s výjimkou vitamínu C, který představuje aktivátor celkového metabolismu). Vitamíny komplexu B se ponejvíce vyskytují pohromadě a jejich účinky jsou podobné.

2.2.1 Vitamin A

Pro svoji úlohu v procesu vidění, konkrétně pro správnou funkci oční sítnice, se tento vitamín nazývá retinol. Vitamin A je po chemické stránce terpenový alkohol s β -jononovým kruhem. Je velmi citlivý vůči oxidačním činidlům, světlu, zvláště jeho UV složce (21).

Významné antikarcinogenní působení vykazují karotenoidy. Jde o velkou skupinu přírodních lipofilních pigmentů nacházejících se zejména v ovoci, borůvkách, zelenině, léčivých rostlinách, ale sekundárně se vyskytujících i v živočišné říši. Poloha a charakter substituentů na jejich šestičlenném kruhu se zdají mít malý vliv na jejich aktivitu. β -karoten je provitaminem vitamínu A, rozštěpením 1 molekuly β -karotenu získá organismus z molekuly vitamínu A. Ten patří mezi antioxidanty, t.j. látky schopné navázat a zneškodnit volné radikály, které vznikají přijetím elektronu molekulou kyslíku. Retinol tyto schop-

nosti nemá. Vyšší podíl karotenů v denní potravě představuje významnou ochranu proti rakovině, ale také proti jiným onemocněním. Vitamín A má v organismu mnoho významných funkcí. Je životně důležitý pro oči, růst, schopnost rozmnožování, normální vývoj kůže a sliznic, růst kostí a zubů a imunitní systém. Vitamín A se podílí na dekódování genetického kódu buněk, což zajišťuje "schematický výkres" pro stavbu a řízení našeho organismu. Vitamín A má velký význam pro výživu kůže a sliznic, které vystylají tělo zevnitř.

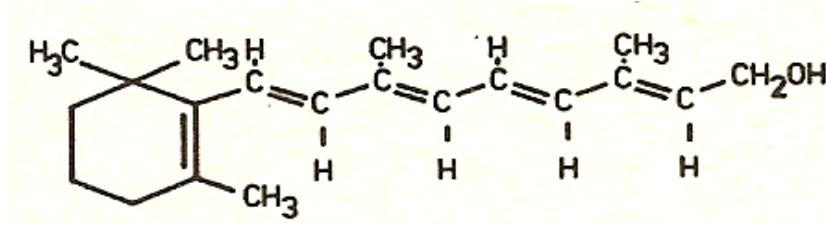
Tabulka č.1 Denní doporučená dávka vitamínu A

Denní potřeba	Mezinárodní jednotky (I.U.)
kojenci	2000
děti od 1 do 3 let	2300
děti od 4 do 6 let	2500
děti od 7 do 10 let	3200
mladiství	4000
ženy	4000
muži	5000
těhotné ženy	8000

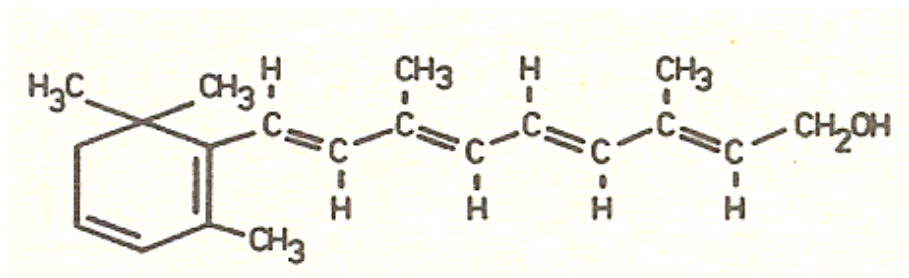
I.U - (International Units, Mezinárodní jednotky)

Nedostatek vitamínu A může způsobit problémy se zrakem v podobě noční slepoty, snížení ochrany proti opotřebením a vysoušení rohovky. Ve vážných případech se mohou tvořit i vřídka vedoucí k oslepnutí. Nedostatek vitamínu A oslabuje imunitní systém, což způsobuje větší náchylnost k bronchiální infekci a působí ztrátu chuti a vznik suché, drsné pokožky. Nedostatek vitamínu A může také způsobit deficitní růst a vývoj dětí. Prvními

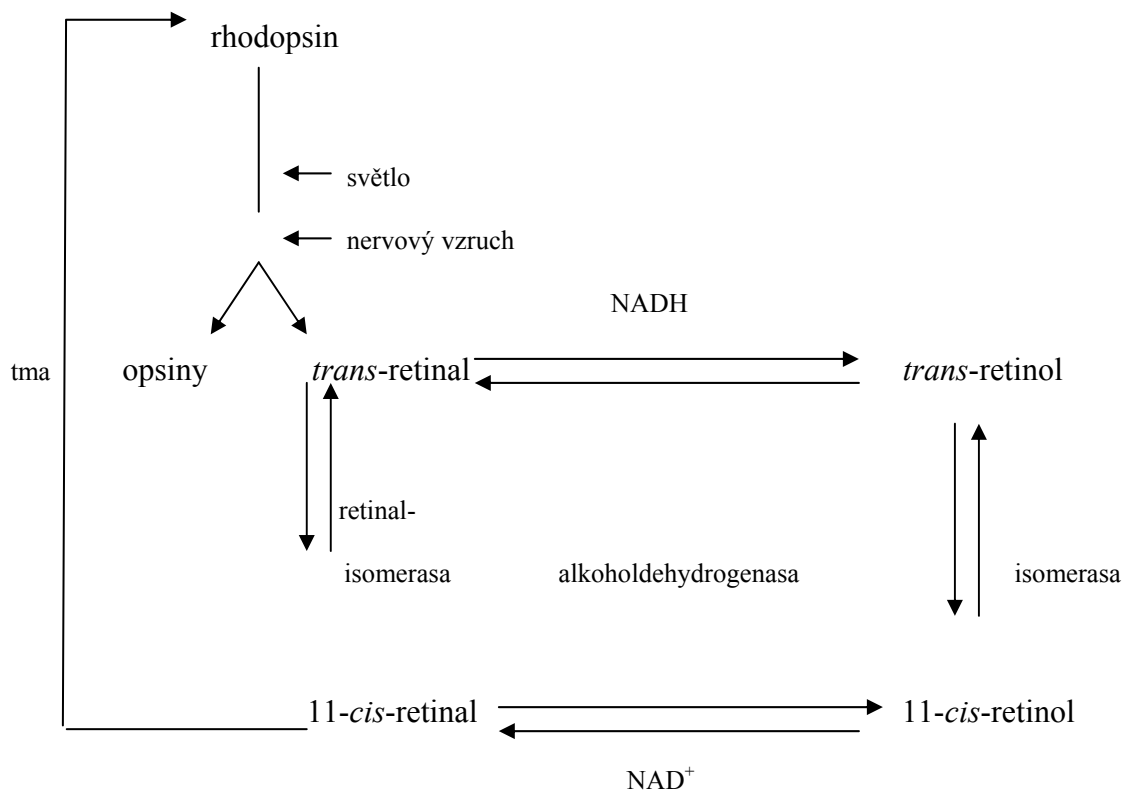
varovnými signály hypovitaminosy vitamínu A jsou lomivé, pomalu rostoucí nehty, suché, lomivé vlasy, suchá kůže, vypadávání vlasů, nechutenství, časté infekce, šeroslepost, poruchy vidění, poruchy růstu, neplodnost (22).



Vitamín A₁



Vitamín A₂



Obr.3. Waldův cyklus

2.2.2 Vitamín E

Je známo 8 tokoferolů a tokotrienolů vykazujících aktivitu vitamínu E. Nejúčinnější je α -tokoferol. Vitamín E je jedním z nejdůležitějších antioxidantů, je rozpustný v tucích a téměř nerozpustný ve vodě. Rozpustnost v tucích je vlastnost, která je důležitá při ochraně organismu před volnými radikály, neboť tyto nejvíce poškozují buněčné membrány a lipoproteiny o nižší hustotě, které ve své molekule obsahují tuky. Při ochraně před radikály je sám přeměňován na radikál a je rychle regenerován v průběhu biochemického procesu, kterého se účastní vitamín C a glutathion. Vitamín E může posílit obranyschopnost těla proti kardiovaskulárním nemocem a proti rakovině, neboť panuje podezření, že volné radikály jsou částečně odpovědné za vyvinutí podmínek ke vzniku těchto nemocí. Jako antioxidantní činidlo chrání vitamín E především polynenasycené mastné kyseliny proti oxidaci volnými radikály (tedy proces nazývaný peroxidace lipidů) (23). Některé polynenasycené mastné kyseliny nacházíme v buněčných membránách, a právě zde může vitamín E chránit tyto buňky před škodlivými volnými radikály.

Vitamín E může pomáhat předcházet arterioskleróze (zesílení stěn artérií vzhledem k nánosům tuků a minerálů). Krev obsahuje nosiče pro látky typu cholesterolu a mastných kyselin, kterým říkáme lipoproteiny. LDL (Low density lipoprotein, lipoprotein s nízkou hustotou) zvyšuje riziko arteriosklerózy, pokud je oxidován volnými radikály (24). Vitamín E pravděpodobně snižuje riziko kardiovaskulárních nemocí především vzhledem k tomu, že chrání LDL proti oxidaci, tím že se na ně váže. Vitamín E se používá jako doplněk léků pro léčení Parkinsonovy nemoci, ale vitamín sám o sobě tuto nemoc není schopen léčit.

Je používán v tomto spojení vzhledem k porušení nervových buněk při této vážné nemoci mozku, které mohou být vyvolány volnými radikály.

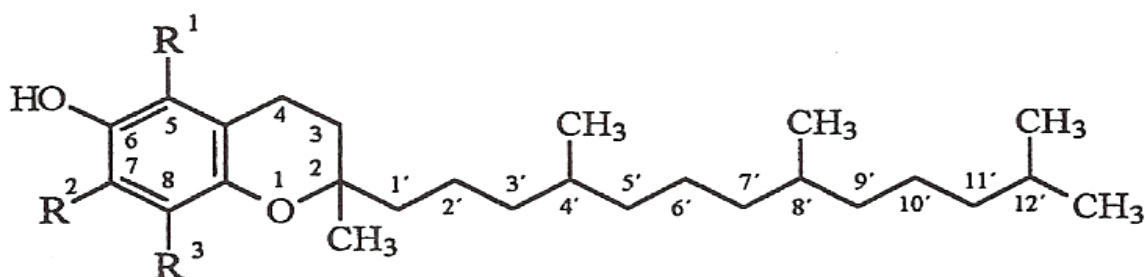
Zdrojem vitamínu E jsou rostlinné oleje, olej z rostlinných klíčků, suché fazole, arašídý, celozrnné výrobky, listová zelenina a v neposlední řadě i borůvky. Vitamín E se používá jako aditivum v potravinářském průmyslu k prodloužení životnosti potravin s vyšším obsahem lipidů (25).

Nedostatkem vitamínu E může dojít k anémii (snížení množství hemoglobinu v krvi), poruchám metabolismu nervů a svalů a poruchám kapilární permeability. Prvními varovnými signály nedostatku vitamínu E jsou poruchy zraku, ochablá suchá kůže, únava,

pokles výkonnosti, záněty v zažívacím traktu, neplodnost, onemocnění srdce, stařecké skvrny, nervová dráždivost, oslabení koncentrační schopnosti, špatné hojení ran.

Pro děti do 14 let je doporučen denní příjem od 6 do 12 μg podle věku, pro dospělé 12 μg , pro těhotné ženy a ženy v klimakteriu až 16 $\mu\text{g}\cdot\text{den}^{-1}$. Nové poznatky však upozorňují na to, že toto množství pro ochranu před volnými radikály nepostačuje. Hodnoty byly získány převážně z výsledného efektu příjmu vitamínu v krvi. Nepřehlednou zůstává skutečná koncentrace významných tokoferolů v buňce. Je osobu od osoby rozdílná podle toho, do jaké míry jsme vystaveni škodlivým a toxickým látkám. Kdo přijímá v poměru příliš mnoho tuků na úkor stravy bohaté na zbytky cukrů (v zelenině, bramborách, obilí), potřebuje rovněž mnohem více vitamínu E. Kdo vaří s rostlinnými oleji, popř. si připravuje saláty, potřebuje příslušný přídavek vitamínu E, aby ochránil vysoce komplikované substance tuku před zničením volnými radikály (19).

V porovnání s jinými vitamíny rozpustnými v tucích není vitamín E toxický. Většina dospělých jedinců snáší vysoké dávky mnoha set mikrogramů bez potíží, ačkoli někteří lidé mohou trpět bolestmi hlavy, nevolností, nebo průjmem. Lidé léčení antikoagulačními léky by neměli přijímat takto vysoké dávky, neboť by se mohlo zvýšit riziko hemoragií (krvácení do tkání).



tokoferoly

2.2.3 Vitamín C

Čistá kyselina askorbová tvoří bezbarvé, ve vodě rozpustné krystalky. Je to látka dosti nestálá, rychle se rozkládá a ztrácí účinnost. Rozklad urychluje teplo, světlo, vzdušný kyslík, styk s některými kovy, zejména s Cu a Fe. Škodí mu i zásadité prostředí a vyluhování.

vání do vody. Příznivější je kyselé prostředí, neboť organické kyseliny, obsažené např. v ovoci brání rozkladu vitamínu C.

Jednou z nejdůležitějších funkcí vitamínu C je katalýza tvorby bílkoviny nazývané kolagen. Kolagen vytváří velkou část našich vazivových tkání, kostí, chrupavek a zubů. Kolagen je také důležitý pro tvorbu tkání při zjizvování, když je poraněna kůže nebo při zlomeninách kostí. Vitamín C se dále výrazně podílí na tvorbě žlučových kyselin, parathyroidních hormonů a dvou klíčově důležitých přenašečů v nervové soustavě, noradrenalinu a serotoninu (16). Vitamín C je životně důležitý pro imunitní systém organismu a funkci bílých krvinek, které napadají nebezpečné mikroorganismy. Přítomnost vitamínu C zvyšuje účinnost našeho příjmu anorganického železa a tento vitamín je také životně důležitý pro naši schopnost využívat vitamíny B komplexu, folacin a vitamín B₁₂ (kobalamin).

Vzhledem k tomu, že vitamín C je antioxidační činidlo, může chránit sliznice v nose před poškozením volnými radikály, které vznikají při útocích bílých krvinek na virus způsobující nachlazení (rýmu). Vitamín C je v těle důležitý především pro metabolismus vápníku, pojivové tkáně, syntézu kolagenu, stěny cév, zubní dásně, zpracování tuků, pevnou hladkou kůži, silné vlasy, zrakovou ostrost, koncentrační schopnosti, spánek a překonání stresu.

Ovoce a zelenina - zelené a červené papriky, borůvky, brokolice, špenát, pomeranče a ostatní citrusové plody, brambory a jahody obsahují velké množství vitamínu C. Malé množství naopak poskytuje maso, ryby, drůbež, vejce a mléčné výrobky. Téměř žádný vitamín C není obsažen v celozrnných výrobcích.



Obr.4. Borůvky

Vitamín C brání tvorbě nitrosoaminů v ústech a žaludku, které vznikají z nitrátů a nitridů v potravinách a pitné vodě. Vzhledem k tomu, že nitrosoaminy mohou vyvolávat rakovinu jícnu a žaludku, je to pravděpodobně důvod, proč nás vitamín C zřejmě chrání proti těmto typům zhoubných nádorů. Vitamín C je také důležité antioxidační činidlo, tedy ochranná látka, která zpomaluje škodlivé účinky volných radikálů. Jako antioxidační činidlo chrání vitamín C i jiné vitamíny, polynenasycené mastné kyseliny, LDL-cholesterol a enzymy před poškozením volnými radikály. Čerstvé ovoce a zelenina obsahující vitamín C mohou snížit riziko výskytu určitých forem rakoviny. Při pokusech na laboratorních zvířatech byl vitamín C schopen bránit působení nitrosoaminů vyvolávající zhoubné nádory. Bylo by však nesprávné očekávat stejný účinek u člověka. Typy rakoviny, proti nimž může vitamín C nabízet určitou ochranu, zahrnují rakovinu plic, úst, hrdla, jícnu, žaludku a tračnicku (tlustého střeva).

Kouření spotřebovává vitamín C v organismu a tím se může zvýšit nebezpečí vzniku jak rakoviny, tak kardiovaskulárních nemocí. Z některých studií vyplynulo, že vitamín C v naší stravě nebo podávaný jako doplněk, snižuje riziko koronární trombózy (krevní sraženiny v srdci), ale z jiných studií to nebylo možno potvrdit. Pravděpodobné vysvětlení je takové, že nedostatek vitamínu C zvyšuje riziko kardiovaskulárních nemocí, zatímco velmi vysoké dávky neposkytují žádnou dodatečnou ochranu. Mnoho lidí je přesvědčeno, že vitamín C užívaný ve vysokých dávkách (tedy několika gramech) pomáhá při běžnému nachlazení. Bohužel toto se nepotvrdilo (26).

Na ochranu proti kurdějím stačí 10 mg denně. To ale není dost na to, aby nám vitamín C pomohl jako antioxidační činidlo. Dávky přes 200 mg jsou většinou ihned vyloučeny močí. Pokud chceme přijímat velké dávky, bylo by lepší je rozdělit do několika menších dávek v rámci dne.

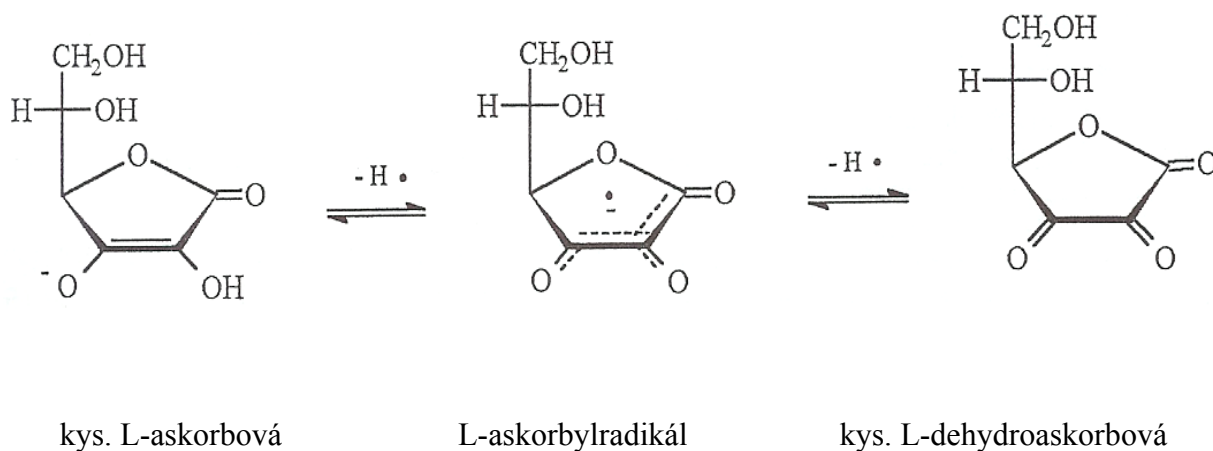
Požadavek se zvyšuje při extrémní tělesné zátěži, trvalém psychickém stresu, alkoholismu apod. U kuřáků dochází ke snížení absorpce, takže denní doporučený příjem se pohybuje kolem 150 mg. Pro doporučený denní příjem vitamínu C pro muže i ženy v produktivním věku v ČR zatím platí hodnota 75 mg.den⁻¹ (27).

Tabulka č.2 Množství vitamínu C ve 100 g potravin

Potravina	Množství (mg . 100 g ⁻¹)
borůvky	37,1
kiwi	36,7
pomeranč	35,4
citron s dužinou	34,0
citrónová šťáva	28,2
maliny	27,7
grepová šťáva (čerstvě vylisovaná)	26,3
ředkve, cibule	26,2
špenát, brokolice	26,1
zelený hrách	26,0
kedluben	25,8

Avitaminosa vede ke skorbutu – kurdějím. Typickými příznaky jsou zhoubnatělé dásně, při stisku krvácející. Zuby se uvolní a vypadávají. Klouby na ruce a nohy zduří a ve svalech, kloubech a vazech pod kůží se objevuje hemoragie, tedy krvácení. Rány se pomaleji hojí. Zpožďuje se růst dětí a jejich kosti se deformují. Pokud je skorbut neléčen, může vést i ke smrti.

Mnoho lidí užívá velké dávky vitamínu C, aby bojovali s rýmou, nebo jako antioxidačního činidla, aby se bránili nemocem. Většina lidí je schopna snášet dávky vysoké až do 1g bez obtíží, zatímco jiní mohou trpět průjmami a bolestmi žaludku. Pravděpodobně je pro žaludek nejnepříjemnější, pokud tablety vitamínu C přijímáme spolu s jídlem. Velké dávky mohou povzbudit příjem železa a to může vést, i když poměrně vzácně, k ledvinovým kamenům.



Obr.5. Vitamín C – kyselina L-askorbová

2.2.4 Vitamín B₁

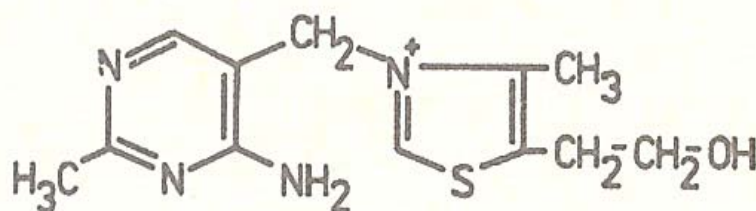
Chemicky se jedná o derivát pyrimidinu a thiazolu. Je rozpustný ve vodě, ničí se konzervováním, průmyslovým zpracováním jídel, zmrazováním, zvláště při rozmrazení a opětovném zmrazení. Jeho největším nepřítelem je uhličitan sodný. Dobře se vstřebává ze zažívacího traktu, objevuje se v mateřském mléku, rozsáhle se distribuuje do většiny tkání. Přebytek se vylučuje močí. Předávkování je možné pouze při vysokých dávkách injekční formou. Vstřebávání thiaminu brání rafinovaný cukr, bílá mouka, alkohol, kofein a čaj. Hladina thiaminu se v těle snižuje při dlouhodobé dialýze, parenterální výživě a při chronických infekcích.

Nalézá se ve většině potravin živočišného původu a v mnoha potravinách původu rostlinného. Většinu vitamínu nám poskytují obilné výrobky, např. chléb. Většina obilných výrobků je obohacena vitamínovými doplňky (19). Libové vepřové, droby, borůvky, hrášek a fazole jsou rovněž dobrými zdroji tohoto vitamínu. Poměrně velká část vitamínu může být zničena při tepelné úpravě potravin, při varu až polovina.

Naše potřeba tohoto vitamínu závisí na tom jak jsme aktivní. Čím více energie musíme vydat, tím více vitamínu B₁ potřebujeme, neboť hraje životně důležitou roli při tvorbě energie v těle. Denní spotřeba thiaminu představuje 0,5 mg na 1000 spotřebovaných kalorií.

Klasický příznak nedostatku je nemoc beri-beri. Je rozšířená mezi lidmi žijícími v Asii, jejichž strava se skládá téměř výhradně z loupané rýže a jejichž práce je fyzicky velmi

náročná. Příznaky hypovitaminosy jsou snížená chuť k jídlu, poruchy soustředění a podrážděnost, provázené ztrátou hmotnosti, zácpami, sníženou silou svalů a mravenčením v prstech rukou i nohou. Jestliže není tento stav léčen doplňky vitamínu B₁, vzniká riziko "Wernickeho nemoci" (kterou známe také jako Wernického encefalopatie), jejímiž příznaky jsou zkomolená řeč, dvojité vidění a obtížná chůze. Tato nemoc může být i smrtelná. Další komplikací je Korsakoffova nemoc (také známá jako Korsakoffova psychóza), která je charakterizována trvalými poruchami paměti (28). Nedostatek thiaminu je spojen nejčastěji s nadměrným užíváním alkoholu.



vitamín B₁, thiamin

2.2.5 Vitamín B₂

Chemicky se jedná o methylderivát isoalloxazinu a ribitolu. Je poměrně stálý v kyselém prostředí, je fotolabilní (rozkládá se na světle) a termostabilní, je odolný vůči oxidaci. Při uskladnění v šeru je úbytek 30 až 50 %. Lidé a ostatní vyšší živočichové nejsou schopni syntetizovat isoalloxazinové složky vitamínu B₂, takže tyto látky musí získávat potravou.

Hraje životně důležitou roli při tvorbě energie ze sacharidů (cukrů), bílkovin a lipidů v rámci látkové přeměny. Vitamín B₂ (riboflavin) je složkou dvou koenzymů (flavinadenindinukleotidu - FAD a flavinmononukleotidu - FMN), které se účastní ve většině chemických reakcí v rámci látkové přeměny, během níž vzniká energie (26).

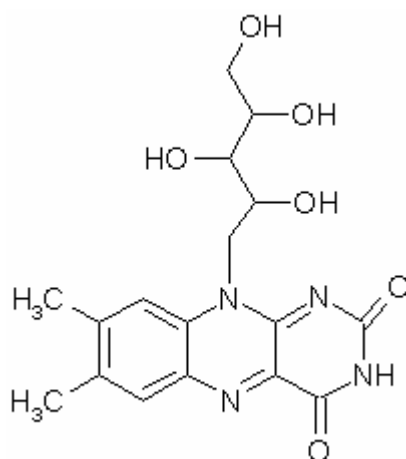
Vitamín B₂ se nalézá ve většině potravin živočišného a rostlinného původu. Nejlepšími zdroji jsou mléko, sýry a maso. Obilné výrobky, které jej obsahují poměrně málo, jsou tímto vitamínem fortifikovány a pokrývají většinu našich potřeb. Dalším hodnotným

zdrojem je rovněž několik druhů zeleniny, např. brokolice, chřest, špenát a samozřejmě borůvky.

Ženy potřebují denně asi 1,2 mg vitamínu B₂. Když jsou vystaveny silnému stresu, potřebují až 1,7 mg za den, v těhotenství a v době kojení 2 mg nebo i více. Muži potřebují v závislosti na energetickém výdeji mezi 1,4 a 1,7 mg riboflavinu (19).

Neznáme přesně žádnou konkrétní nemoc, která by byla následkem nedostatku vitamínu B₂. Vzhledem k tomu, že je nezbytný pro účinnou funkci vitamínů B₃ a vitamínu B₆, jakékoli symptomy lze svést na sníženou funkci vitamínu B₃ a B₆. Je možné, že existuje spojení mezi nízkým příjmem vitamínu B₂ a rakovinou jícnu, ale dosud o tom není příliš mnoho známo v odborné literatuře. Doplnky vitamínu B₂ mohou snížit riziko katarakty, tedy zákalu čočky u osob, které před tím nepřijímali mnoho tohoto vitamínu ze stravy tak, jak se to prokázalo v rámci rozsáhlého výzkumu prováděného v Číně.

Prvními varovnými signály nedostatku vitamínu B₂ jsou zarudlý, zanícený jazyk, drobné trhliny v koutcích úst, pocit přítomnosti písku pod očními víčky, pálicí, zarudlé "unavené" oči, rozšířené panenky, citlivost na světlo, rozpraskané rty, mastné vlasy, šupinatění kůže na nose, ústech, čele a ušních boltcích, vypadávání vlasů, třes končetin, pocit na zvracení, neschopnost soustředění a poruchy spánku.



Vitamín B₂, riboflavin

2.3 Organické kyseliny

2.3.1 Kyselina mléčná

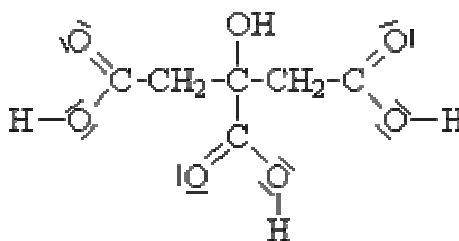
Lehce rozpustná kyselá chutnající kyselina tvoří ve vodě bezbarvé krystaly. Její chemický vzorec je $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$. Vzniká mléčným kvašením cukrů, např. v mléce, sýrech a kyselém zelí. Je používána v pekařství, pivovarnictví, koželužství, k přípravě limonád a při barvení a zušlechťování textilií. Používá se také kvůli svým antiseptickým vlastnostem v mastech, ústních vodách a jako prostředek k ošetřování vlasů. Pravotočivá L-forma vzniká při tělesné práci ve svalech (26). Nachází se v borůvkách.

2.3.2 Kyselina šťavelová

Jedná se o organickou karboxylovou kyselinu, taktéž nazývána jako kyselina oxalová. Její chemický sumární vzorec je $(\text{COOH})_2$. Ve větším množství je obsažena ve šťavelu, šťovíku a také borůvkách. Tvoří bezbarvé, ve vodě rozpustné krystaly. Čistá forma kyseliny šťavelové je jedovatá a má leptavé účinky. Soli kyseliny šťavelové se nazývají šťavelany nebo oxaláty.

2.3.3 Kyselina citronová

Je jedním z klíčových buněčných metabolitů citrátového cyklu. S kationty některých kovů (Fe^{3+} , Ca^{2+}) tvoří komplexy; u živočichů usnadňuje využití vápníku z potravy. Protože váže Ca^{2+} , může tím zabránit srážení krve. Toho se využívá k přípravě roztoků, do nichž se odebírá krev po transfusi. Kyselina citronová se vyrábí ve velkých množstvích nepravou fermentací sacharidů, nejčastěji pomocí plísně *Aspergillus niger* (24). Používá se zejména v potravinářském a farmaceutickém průmyslu a je obsažena taktéž v borůvkách.

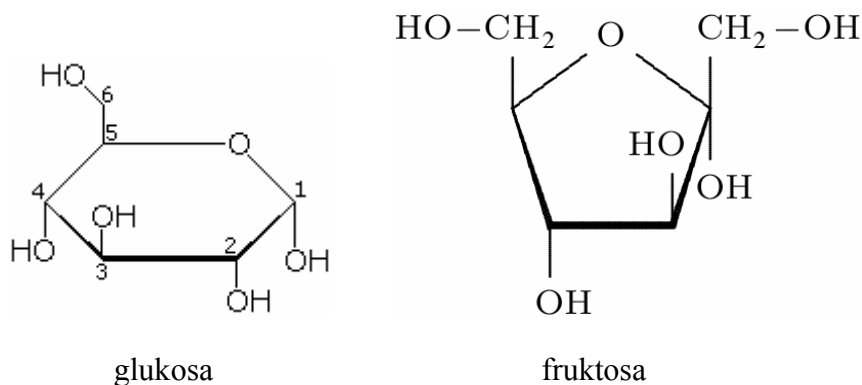


Kyselina citronová

2.4 Sacharidy

Obsahují v molekule aldehydovou nebo ketonovou skupinu a jejich deriváty (aminocukry, deoxycukry, kyseliny aldonové, uronové a aldarové), jsou přítomny ve všech organismech, kde plní několik významných funkcí:

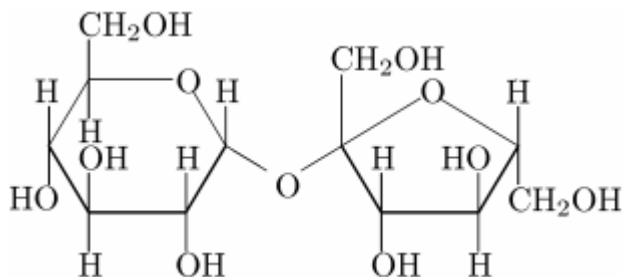
- strukturní (celulosa, chitin, pektiny, hemicelulosa, hyaluronová kyselina atd.) nebo jsou jejich součástí (stavební glykoproteiny, proteoglykany pojivové tkáně, glykolipidy biologických membrán),
- jakožto součásti (deoxy)ribonukleotidů se podílejí na struktuře informačních molekul (DNA, RNA) a dalších látek (ATP),
- tvoří pohotovou energetickou zásobu organismů (glukosa, sacharosa, glykogen, škroby).
- jsou jednou ze základních živin heterotrofních organismů.



2.4.1 Polysacharidy

Sacharidy jsou tvořené více než 10, obvykle však stovkami až tisíci monosacharidovými jednotkami, které jsou navzájem spojeny glykosidovými vazbami. Homoglykany jsou tvořeny jediným druhem monosacharidu, heteroglykany obsahují více typů monosacharidů. Nejběžnějšími složkami polysacharidů jsou hexosy D-glukosa (homoglykany celulosa, škroby, glykogen), D-fruktosa (inulin, levany), D-galaktosa (agar-agar), D-mannosa (mannany), D-glukuronová kyselina (hyaluronová kyselina), D-galakturonová kyselina (pektiny) a aminocukr D-glukosamin (chitin). Polysacharidy mají především funkci zásobní (škroby,

glykogen) a strukturní (např. celulóza, hemicelulózy, chitin, hyaluronová kyselina). Ve vyšším množství se nachází v borůvkách.



Sacharosa

2.4.2 Pektiny

Pektiny jsou polysacharidy obsahující jako monomerní jednotku kyselinu galakturonovou, většinou esterifikovanou methanolem a na konci molekuly mají navázanou L-rhamnosu a D-glukosu. Jsou vázány na polysacharidy buněčných stěn rostlin a tvoří tzv. buněčný tmel (střední lamelu) (24). Získávají se z řepných řízků, z jablek a citrusových plodů. Nachází se také v borůvkách. Díky přítomnosti silně hydrofilních karboxylových skupin mají pektiny velkou schopnost vázat vodu a za určitých podmínek (pH, koncentrace Ca²⁺) vytvářejí gely. Toho se využívá v potravinářství (při výrobě marmelád), ve farmaceutickém průmyslu a v kosmetice.

2.5 Minerální látky

Vápník (Ca) je hlavním stavebním materiálem kostí, zubů a je také důležitou složkou všech svalů. Má význam pro svalovou činnost a srážlivost krve. Při úbytku vápníku dochází k odebírání vápníku z kostí a může tak vznikat nemoc osteoporóza. Také uvolňování zubů paradentosa může být důsledkem nedostatku vápníku. Nedostatek se také projevuje poruchami srdečního rytmu, křečemi a únavou. Zdrojem Ca²⁺ jsou mléčné výrobky, ovoce, borůvky, chléb, ořechy a ryby.

Železo (Fe) je jeden ze zcela nezbytných prvků a bohužel dnes obecně v naší výživě nedostatečně obsažený. Dá se bez nadsázky říci, že nedostatek železa je trvalý a u nás

problémem číslo jedna. Největší nedostatek vzniká při nedostatku potravy bohaté na tento prvek, zvláště při násilných životních změnách ve stravování, jako jsou různé drastické lékařem nedoporučené diety na snížení hmotnosti, nebo vegetariánství. Nedostatek železa v těle má za následek nedostatek červených krvinek, jejichž nejdůležitější úkol nastává již při vývoji mozku ještě nenarozeného dítěte. Další úlohou červených krvinek je doprava kyslíku do plic a tkání. Nedostatečná funkce se projevuje bledou a nezdravou pokožkou, bolestmi hlavy, mdlobnými stavy, poruchami trávení (zácpa, nadýmání), stavy slabosti, dělením nehtů a bolavými ústními koutky. Zdrojem železa jsou játra, pивní kvasinky, celozrnné výrobky, pažitka, borůvky, petržel, brokolice a růžičková kapusta.

Hořčík (Mg) je prvek, bez kterého člověk nemůže být „zdravý“. Má nezastupitelnou úlohu prakticky ve všech procesech probíhajících v organismu. Působí v ochranných procesech jako činitel antistresový, antitoxický, protialergický a protizánětlivý. Dále utiňuje nervový systém, vrací vnitřní vyrovnanost, ovlivňuje srdeční rytmus a je nutný pro tvorbu ochranných látek. Hraje ohromnou úlohu v procesech srážení krve, v činnosti střev, žlučníku a močového měchýře. Nadbytek Mg^{2+} souvisí s ledvinovými chorobami a nedostatek se objevuje při dlouhodobých průjemových stavech. Projevy nedostatku jsou především ranní únava, i po hodinách spánku, nespavost, noční pocení, bušení srdce, náhlé závratě, ztráta rovnováhy, třes víček, padání vlasů, lámavé nehty, křeče, "brnění" v nohou, rychlá únava, citlivost na změny počasí, časté bolení hlavy a potíže s koncentrací. Zdrojem Mg^{2+} jsou potraviny rostlinného původu - mák, fazole, sója, lískové ořechy, ovesné vločky, a dále borůvkách. Z živočišných zdrojů sýry, ryby a drůbež.

Zinek (Zn) je nezbytný pro formování kostí, jako prevence před epilepsií a pro urychlování léčení ran, vředů, zranění a pooperačních ran a jizev. Je velmi nutný pro normální vývoj pohlavních orgánů a pro jejich udržování, pro udržování krásných vlasů. Bez zinku se mnohdy nedá léčit ani ateroskleróza a bolení hlavy. Jeho nedostatek má vliv na zdraví člověka, především na kritické stavy, při poruchách růstu a vývoje a na regeneraci organismu. Zdrojem jsou semena dýní, pšeničné otruby a klíčky, většina hub, hovězí játra, ryby, ořechy, fazole, hrách, čočka, borůvky, kakao a další.

Draslík (K) je důležitý pro mezibuněčnou výměnu a funkci enzymů. Zvýšená potřeba je zejména po chirurgických zákrocích, při redukčních dietách, průjmech, při chronických onemocněních zažívacího traktu a nadměrném pocení. Nedostatek se projevuje poruchou činnosti svalů, poruchou srdečního rytmu, trávení a nervového systému. Zdrojem jsou bílé

fazole, hrách, vlašské ořechy, mandle, rozinky, brambory, špenát, rybíz, sušené švestky, borůvky a paprika.

Selen (Se) má význam pro ochranu buněk, svalovou funkci a srážení krve. Nedostatek se projevuje onemocněním srdce, některými formami rakoviny, revmatismem, šedým zákalem, poruchami jaterních funkcí a zvýšenou náchylností k infekčním chorobám. Zdrojem jsou maso, ryby, pивní kvasinky, celozrnné produkty, houby, ovoce, borůvky a zelenina.

Fosfor (P) podporuje látkovou výměnu a společně s vápníkem pečuje o tvorbu zubů a kostí. Nedostatek se projevuje poruchou funkce ledvin, křivicí a nedostatečným ukládáním minerálních látek v kostech. Zdrojem jsou mléko, maso, obilí, ryby, vejce a borůvky.



Obr.6. Kanadské borůvky

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. (30).

Základní výhodou HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) je široký obor použitelnosti. 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 (30). 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 (31).

Zadržování látek rozpuštěných v mobilní fázi – solutů – kolonou se nazývá retence, zatímco vymývání solutů z kolony se nazývá eluce. Mobilní fázi se říká eluční činidlo a její schopnost vymývat látky z kolony se posuzuje relativním parametrem eluční síly. 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 (30):

1. Izokratickou elucí
2. Elucí skokem
3. Gradientovou elucí

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 (30). Kolony se vybírají podle tří základních kritérií:

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

V současné době se používají jako náplně kolon pórovité částice silikagelu o průměru 10 μm a méně. 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.

Nejběžnějším adsorbentem používaným v HPLC 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 siloxanové –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 adsorpční 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, -odktdacyl, -fenyl, -amino a další. Vysoce účinné kolony naplněné částicemi o průměru menším než 10 μm vyžadují k dosažení optimálních průtokových rychlostí vysokých tlaků (jednotky až desítky MPa) (32,31,30).

3.1 Přístroje a pomocná zařízení

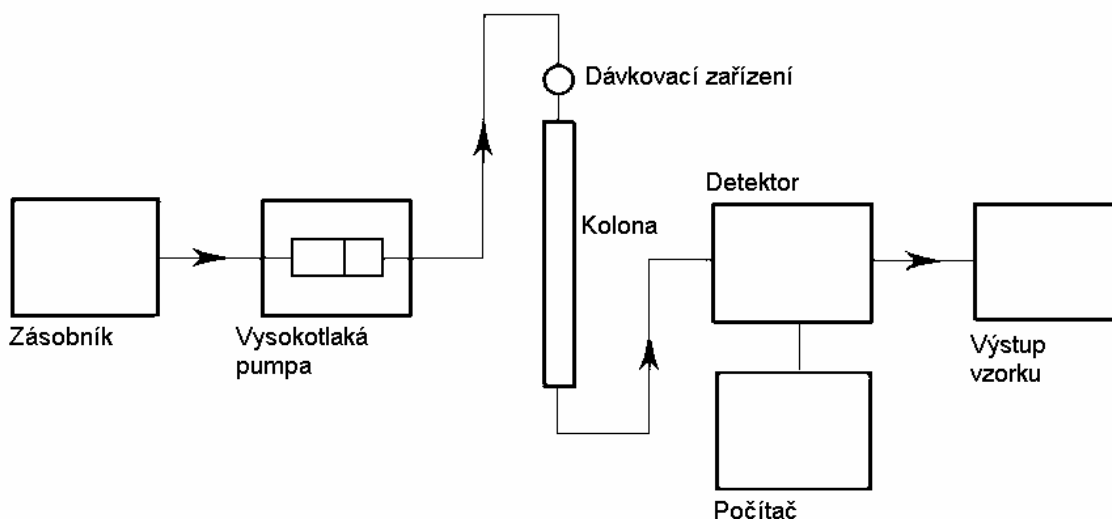
Mobilní fáze se přivádí ze zásobníku do vysokotlakého čerpadla, které ji přes dávkovací zařízení vzorku dopravuje do kolony. Na výstupu z kolony je připojen detektor, jehož signál se zpracovává na počítači. Pro gradientovou eluci je zapotřebí dvou nebo více zásobníků pro složky mobilní fáze a zařízení 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. Některé přístroje umožňují odplynění mobilní fáze. Čerpadlo musí zajistit definovaný a konstantní průtok mobilní fáze. V současné době se používá dávkování vzorků 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 fází 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.

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 hodnotu, 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, nebo kombinace s hmotnostní spektrometrií (32,30).

V HPLC je nejdůležitější přesnost analýzy, neboť se v ní odráží důvěryhodnost výsledků získaných při dané analýze. Přesnost v HPLC závisí na kvalitě kontroly instrumentálních a separačních podmínek. Správnost metody je dána možnostmi kalibrovat systém standardy o známém složení (30).

Chromatografické metody našly široké uplatnění jak v analýze potravin, tak i syntetických preparátů. Heterogenní složení těchto matric 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) (33).

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 pufrý.



Obr.7. Zařízení pro stanovení vitamínů metodou HPLC

3.2 Chromatografické stanovení vitamínu C metodou RP-HPLC

Chromatografická separace může probíhat na koloně Biopsher 120-C18, 7 μm , MAC 4,6 x 150 mm. Eluce se provádí izokraticky methanolem při 30°C a průtoku 1,1ml.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.

3.3 Chromatografické stanovení β -karotenu metodou RP-HPLC

Chromatografické stanovení může být provedeno na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μ m) 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. Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 450 nm.

Další způsob stanovení β -karotenu se může provést na koloně Beta Basic-18 Keystone (5 μ m) o rozměrech 4,6 x 250 mm. Analýza se provádí při teplotě 32°C a průtoku 1,5 ml.min⁻¹. Jako mobilní fáze A se používá acetonitril-voda a jako mobilní fáze B se používá acetonitril-1-propanol. K nástřiku vzorku se používá dávkovací smyčka o objemu 10 μ l (34,35). Používá se elektrochemický detektor o potenciálech 200, 400, 500, 700, 800, -1000, 200, 500 mV.

3.4 Chromatografické stanovení vitamínu E metodou RP-HPLC

HPCL stanovení vitamínu E se může provést na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μ m) 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 μ l. Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 289 nm. Adsorpční maximum tokoferolacetátu se ověřuje změřením absorpčního spektra standardního roztoku.

Další způsob stanovení vitamínu E se může provést na koloně Hypersil BDS C18 (3 μ m) o rozměrech 3,0 x 150 mm. Analýza se provádí při teplotě 32°C a průtoku 0,6 ml.min⁻¹. Jako mobilní fáze A se používá acetonitril-voda a jako mobilní fáze B se používá acetonitril-1-propanol. K nástřiku vzorku se používá dávkovací smyčka o objemu 10 μ l (36,37,38). Používá se elektrochemický detektor Model 5600A CoulArray o potenciálech -700, 0, 75, 150, 225, 300, 375 a 450 mV.

3.5 Chromatografické stanovení vitamínu A metodou RP-HPLC

Stanovení vitamínu A se může provést na koloně Beta Basic-18 Keystone (5 μ m) o rozměrech 4,6 x 250 mm. Analýza se provádí při teplotě 32°C a průtoku 1,5 ml.min⁻¹. Jako

mobilní fáze A se používá acetonitril-voda a jako mobilní fáze B se používá acetonitril-1-propanol (34,35). Používá se elektrochemický detektor Model 5600A, CoulArray o potenciálech -700, 100, 250, 400, 550, 750, 800 a 850 mV.



Obr.8. Borůvkový keř

ZÁVĚR

Tato práce je zaměřena na zmapování a potencionální stanovení biologicky aktivních látek v borůvkách, na výběr optimálních metod pro stanovení vitaminů vyskytujících se v borůvkách a princip kapalinové chromatografie. V první části je popsána obecně fyziologické účinky rostlin borůvek, zařazení do rostlinného systému, její výskyt a produkce v různých státech světa. Další část se věnuje fyziologickému popisu aktivních látek obsažených v borůvkách. Práce je zaměřena hlavně na popsání vitaminů C, A a E a rostlinných barviv, jako jsou karotenoidy a flavonoidy. Dále jsou v práci popsány organické kyseliny, sacharidy, pektiny a minerální látky. Největší vliv na lidské zdraví mají nesporně vitamíny C, A, E a vitaminy skupiny B, které se zde vyskytují. V poslední části je popsána metoda HPCL (Vysoce účinné kapalinové chromatografie), pomocí které se stanovují látky obsažené v borůvkách. Jde o metodu která se běžně používá ke stanovování vitaminů.

U stanovení vitamínu A je možno použít elektrochemickou metodu a kolonu Beta Basic-18 Keystone o potenciálech -700, 100, 250, 400, 550, 750, 800 a 850 mV.

U vitamínu C lze použít kolonu Biopsher 120-C18 se spektrofotometrickou detekcí v UV oblasti při vlnové délce 254 nm.

HPCL stanovení vitamínu E se může provést na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μm) o rozměrech 4,6 x 150 mm. Analýza se provádí izokraticky při 45°C a průtoku 1,1 ml.min⁻¹ a jako mobilní fáze se používá methanol. Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 289 nm. Adsorpční maximum tokoferolacetátu se ověřuje změřením absorpčního spektra standardního roztoku. Další způsob stanovení vitamínu E se může provést na koloně Hypersil BDS C18 (3 μm) o rozměrech 3,0 x 150 mm. Analýza se provádí při teplotě 32°C a průtoku 0,6 ml.min⁻¹. Jako mobilní fáze A se používá acetonitril-voda a jako mobilní fáze B se používá acetonitril-1-propanol. Používá se elektrochemický detektor Model 5600A CoulArray o potenciálech -700, 0, 75, 150, 225, 300, 375 a 450 mV.

Chromatografické stanovení β -karotenu může být provedeno na koloně z nerezové oceli naplněné reverzní fází Nucleosil C18 (7 μm) o rozměrech 4,6 x 150 mm. Analýza se provádí izokraticky při 45°C a průtoku 1,1 ml.min⁻¹ a jako mobilní fáze se používá methanol. Spektrofotometrická detekce se provádí při vlnové délce 450 nm. Stanovení β -karotenu se může provést na koloně Beta Basic-18 Keystone (5 μm) o rozměrech 4,6 x 250 mm.

Analýza se provádí při teplotě 32°C a průtoku 1,5 ml.min⁻¹. Jako mobilní fáze A se používá acetonitril-voda a jako mobilní fáze B se používá acetonitril-1-propanol. Používá se elektrochemický detektor o potenciálech 200, 400, 500, 700, 800, -1000, 200, 500 mV.

Bakalářská práce bude sloužit jako podklad pro diplomovou práci, ve které budou zavedeny metody RP-HPLC na stanovení vybraných vitaminů, vyskytujících se v borůvkách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Dušková, L., Kopřiva, J.: *Pěstujeme maliny, ostružiny a borůvky*, 1. vyd., Grada, 90s, 2002
2. Steinmetz, K.A, Potter, J.D.: *Vegetables, fruits, and cancer. II. Mechanisms*. Cancer Causes Control 1991;2: 427-42
3. Pospíšil, J.: *Antioxidanty*, 1.vyd., Academia Praha 1968
4. Steinmetz, K.A, Potter, J.D.: *Vegetables, fruits and cancer. I. Epidemiology*. Cancer Causes Control 1991;2:325-57
5. Austoker, J.: *Cancer prevention in primary care. Diet and cancer*. BMJ 1994;308:1610-4
6. Walker, A.R.P.: *Vegetable and fruit consumption: Some past, present and future practices*. J R Soc Health 1995;115:211-6
7. Dostál, J., Kaplan, P. a kol.: *Lékařská chemie II.*, Masarykova univerzita v Brně, 2003.
8. Greenberg, E.R, Sporn, M.B.: *Antioxidant vitamins, cancer, and cardiovascular disease*. N Engl J Med 1996;334:1189-90.
9. Keys, A. *Seven countries: a multivariate analysis of death and coronary heart disease*. Cambridge, Mass: Harvard University Press, 1980.
10. *V Evropě a Americe se rozšiřuje pěstování a export borůvek*, Agra Europe, 2004, č.2117, s.M/6.
11. Velišek, J.: *Chemie potravin 3*, VŠCHT Praha, OSSIS-Tábor, 1999.
12. Canfield, L.M., Forage, J.W.: *Carotenoids as cellural antioxidants*, University of Arizona, Society for experimental biology and medicine, p.250-255, 1992.
13. Schmidt, F.: *Biochemistry I.*, IDG Books Worldwide, Inc., USA, 2000.
14. Gaziano, J.M, Manson, J.E, Branch, L.G, Colditz, G.A, Willett, W.C, Buring, J.B. *A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly*. Ann Epidemiol 1995;5:255-60.

15. Velišek, J.: *Chemie potravin 2*, Osis Tábor, 1999
16. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A.: *Harperova biochemie*, Nakladatelství H+H, Jinočany, 2002.
17. Schmidt, F.: *Biochemistry II.*, IDG Books Worldwide, Inc., USA, 2000.
18. Willett, W., Trichopoulos, D.: *Nutrition and cancer: a summary of the evidence.* Cancer Causes Control 1996;7:178-80.
19. Hlúbik, P., Opltová, L.: *Vitaminy*, Grada Publishing, a.s., 2004
20. Kaláč, P.: *Také příjem antioxidantů má své horní meze.* Výživa a potraviny, 58, 2003, s.66-67.
21. Holeček, V., Racek, J.: *Ochrana před volnými radikály pomocí antioxidantů, stopových prvků a léků*, Klinická biochemie a metabolismus 3, s.137-141, 1994.
22. Provazník, K. a kol.: *Manuál prevence v lékařské praxi II.* Výživa, 1.vyd., Praha: SZÚ, 1995, 104 str.
23. Kodíček, M.: *Biochemické pojmy*, VŠCHT Praha, 2004.
24. Velišek, J.: *Chemie potravin 1*, Osis Tábor, 1999.
25. Hampl, F., Paleček, J.: *Farmakochemie*, VŠCHT Praha, 2002.
26. Straka, P.: *Obecná chemie*, 1.vyd. Praha, Paseka, 1995, 142 s.
27. Dostálová, J.: *Výživová doporučení Společnosti pro výživu pro obyvatelstvo České republiky*, Potravinářská revue, 2005, 1, s. 17-18.
28. Duchoň a kol.: *Lékařská chemie a biochemie*, Zdravotnické nakladatelství Avicenum, 1991.
29. Dostupné na: www.midwife.org/legislative.cfm
30. Pacáková, K., Štulík, K.: *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*, UK Praha, SPN Praha 1986.
31. Ferenčík, M., Škárka, B., a kol.: *Biochemické laboratorní metody*, Alfa, Praha 1981
32. Klouda, P.: *Moderní analytické metody*, 1.vyd., Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 1996.

33. Davídek a kol.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*, Nakladatelství technické literatury, Praha, 1977.
34. Ferruzi, M.G., Sander, L.C.: *Carotenoid determination in biological microsamples using liquid chromatography with coulometric array detector*. Anal Biochem, 256., 74-81,1998.
35. Gamache, P.H., Freeto, S.M., and Acworth, I.N.:. *Coulometric array HPLC analysis of lipid-soluble vitamins and antioxidants*. Amer. Clin. Lab., 18, 18-19., 1999.
36. Roy, S., Venojarvi, M., Khanna,S., and Sen,C.K. : *Simultaneous detection of tocopherols and tocotrienols in biological samples using HPLC-coulometric electrode array*, Meth. Enzymol., 352, 326-332, 2002
37. Ng, L. T., Leong, W.H., Ho, D.: *The pharmacological properties of palm tocotrienols*. Chinese Pharmaceu. J. 54, 63-75, 2002.
38. Packer, L.: *Molecular aspects of alpha tocotrienol antioxidant action and cell signaling*. J. Nutr., 131, 369-373, 2001.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

I.U.	Mezinárodní jednotky
LDL	Lipoprotein s nízkou hustotou
FAD	Flavinadenindinukleotid
FMN	Flavinadeninmononukleotid
ATP	Adenosin trifosfát
DNA	Deoxynukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
HPLC	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie
RP-HPLC	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Brusnice borůvka.....	11
Obr. 2 Flavonoidní látky.....	15
Obr. 3 Waldův cyklus.....	21
Obr. 4 Borůvky.....	25
Obr. 5 Vitamín C – kyselina L-askorbová.....	27
Obr. 6 Kanadské borůvky.....	35
Obr. 7 Zařízení pro stanovení vitamínů metodou HPCL.....	39
Obr. 8 Borůvkový keř.....	41

SEZNAM TABULEK

Tabulka č.1 Denní doporučená dávka vitamínu A.....	20
Tabulka č.2 Množství vitamínu C ve 100 g potraviny.....	26