

# Fytoestrogeny a jejich význam

Jana Buchtová

---

Bakalářská práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana BUCHTOVÁ**  
Osobní číslo: **T09221**  
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Fytoestrogeny a jejich význam**

Zásady pro vypracování:

1. Chemická charakteristika fytoestrogenů.
2. Účinek fytoestrogenů na lidské zdraví.
3. Zdroje fytoestrogenů.
4. Metody stanovení obsahu fytoestrogenů v potravinách.
5. Přehled doplňků stravy na bázi fytoestrogenů.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. Chemie potravin 2. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-808-6659-176
2. DONÁT, J. Klimakterium. vyd. 1. Praha: Jan Vašut, 2000, 32 s. ISBN 80-723-6174-0
3. MORAVCOVÁ, J., KLEINOVÁ, T. Fytoestrogeny ve výživě ? přinášejí užitek nebo riziko? Chem.listy. 2002, 96, s.282-289.
4. CORNWELL, T, COHICK, W., RASKIN, I. Dietary phytoestrogens and health. Phytochemistry. 65(8), 995-1016. DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.03.005. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942204001049>

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Marta Severová**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

**6. ledna 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**21. května 2012**

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fíšera, CSc.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně .....

.....

---

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

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

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem

vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

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

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

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

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

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

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

## **ABSTRAKT**

Fytoestrogeny jsou rozmanitá skupina rostlinných polyfenolů, které jsou schopné aktivovat estrogenové receptory. Převážnou většinu přijímá lidské tělo potravou a to rostlinou ale i živočišnou. O vlivu fytoestrogenů na lidský organismus je vedena řada studií, nicméně mnohé výsledky jsou nejednotné.

Bakalářská práce se zabývá chemickou strukturou fytoestrogenů, jejich účinkem na lidské zdraví, zdroji fytoestrogenů a to zdroji rostlinnými i živočišnými, chemickým stanovením a potravinovými doplňky na bázi estrogenů.

Klíčová slova: fytoestrogeny, sója, menopauza

## **ABSTRACT**

Phytoestrogens are a diverse group of vegetable polyphenols capable of activating estrogenic receptors. Overwhelming majority is taken in by the human body in the form of food, both – vegetable and animal. There is a number of studies concerned about the influence of phytoestrogens on a human organism, however many of the results are disunited.

My bachelor's thesis focuses on the chemical structure of phytoestrogens and their impact on human health. It further examines the vegetable and animal sources of phytoestrogens, chemical determination and food supplements on estrogenic basis.

Keywords: phytoestrogens, soya, menopause

Chtěla bych poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing. Martě Severové za rady, poznámky a odborné vedení při tvorbě bakalářské práce.

Děkuji také rodině za morální, psychickou a finanční podporu.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA FYTOESTROGENŮ</b> .....	<b>12</b>
1.1 ISOFLAVONY .....	12
1.2 PRENYLFLAVONOIDY .....	14
1.2.1 Prenylflavonoidy chmele .....	14
1.3 PTEROKARPANY .....	15
1.4 LIGNANY .....	17
<b>2 ÚČINEK FYTOESTROGENŮ NA LIDSKÉ ZDRAVÍ</b> .....	<b>21</b>
2.1 KARDIOVASKULÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ .....	21
2.2 NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ .....	22
2.3 FYTOESTROGENY A KOSTNÍ TKÁŇ .....	23
2.4 VLIV NA ČINNOST MOZKU .....	23
2.5 FYTOESTROGENY A KOJENCI .....	24
2.6 FERTILNÍ VĚK .....	24
2.7 PŮSOBNÍ FYTOESTROGENŮ U MUŽŮ .....	24
2.8 VEDLEJŠÍ ÚČINKY .....	25
<b>3 ZDROJE FYTOESTROGENŮ</b> .....	<b>26</b>
3.1 SÓJA LUŠTINATÁ .....	27
3.2 JETEL ČERVENÝ .....	29
3.3 VOJTĚŠKA .....	30
3.4 ZDROJE FYTOESTROGENŮ V ŽIVOČIŠNÝCH POTRAVINÁCH.....	32
<b>4 METODY STANOVENÍ OBSAHU FYTOESTROGENŮ V POTRAVINÁCH</b> .....	<b>34</b>
4.1 EXTRAKCE .....	34
4.1.1 Solid-Liquid extrakce.....	34
4.1.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE) .....	34
4.1.3 Mikrovlnná extrakce .....	35
4.1.4 Extrakce urychleným tokem rozpouštědla .....	35
4.2 HYDROLÝZA.....	36
4.3 ČIŠTĚNÍ A FRAKCIONACE EXTRAKTU .....	36
4.3.1 Extrakce kapalina-kapalina .....	36
4.3.2 Chromatografie na tenké vrstvě .....	37
4.3.3 Extrakce tuhou fází .....	37
4.4 METODY STANOVENÍ A IDENTIFIKACE.....	37
4.4.1 Plynová chromatografie .....	37
4.4.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	38
4.4.3 Kapilární elektroforéza.....	38
4.4.4 Enzymová imunoanalýza .....	39
<b>5 DOPLŇKY STRAVY NA BÁZI FYTOESTROGENŮ</b> .....	<b>40</b>
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>43</b>



<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>45</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>49</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>50</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>51</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>52</b>

## ÚVOD

Fytoestrogeny jsou přirozené aktivní látky obsažené v rostlinách, u vyšších živočichů a u člověka jsou charakterizovány afinitou k estrogenímu receptoru. Chemickou strukturou jsou fytoestrogeny vzdálené estrogenům, společným rysem je fenolové jádro v molekule, které umožňuje vazbu na estrogení receptor s následnou metabolickou aktivitou a vylučováním podobně jako endogenní estrogény.

Fytoestrogeny mají mnoho pozitivních účinků na lidské zdraví, ale stále existuje velká řada otázek týkajících se upřesnění mechanismu účinku a především ovlivnění zdraví člověka při dlouhodobém užívání.

Již více než dvě desítky let jsou fytoestrogeny považovány za mírný prostředek k tlumení symptomů menopauzy. Na současném trhu je momentálně vysoké množství různých preparátů na bázi fytoestrogenů ve formě tablet, které jsou hojně užívány ženami v přechodu. Otázkou je, zda mají skutečně takový účinek, s jakým jsou přijímány, nebo zda jejich užívání nepůsobí na psychiku ženy jako placebo efekt.

Na základě preklinických studií se u fytoestrogenů předpokládají pozitivní účinky na metabolismus kostí, kardiovaskulární systém, vazomotorické symptomy a snížení rizika rakoviny prsu.

Pro lidskou populaci je hlavním zdrojem fytoestrogenů potrava, ale není zanedbatelná ani expozice environmentálních estrogenů, tzv. xenoestrogenů. Nejvýznamnějším zdrojem fytoestrogenů je ovoce a zelenina, převážně však luštěniny, sója, boby, jetel a vojtěška. Mezi další zdroje patří však i živočišné tkáně a produkty, neboť stále více hospodářských zvířat je zkrmováno rostlinnými moukami, které obsahují vysoké množství fytoestrogenů.

Pro stanovení jednotlivých fytoestrogenů jsou užívány rozličné analytické metody. Velmi důležitý je první krok stanovení a tím je příprava vzorku dle toho, jaká metoda je následně použita. Ke stanovení a identifikaci jednotlivých fytoestrogenů jsou nejběžněji používány metody chromatografické.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA FYTOESTROGENŮ

Fytoestrogeny se řadí mezi fenolové sloučeniny, svým účinkem připomínají pohlavní hormony estrogeny. V rostlinách se nacházejí převážně jako konjugované glykosidy. Ve fermentované potravě ve formě aglykonů.

Látek s estrogenními účinky je známo několik desítek, vyskytují se zhruba v 300 druzích rostlin. Hlavními fytoestrogeny jsou: [1]

- Isoflavony,
- prenylflavonoidy,
- pterokarpany,
- lignany .

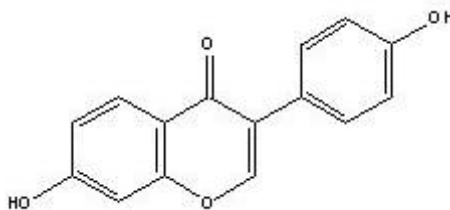
## 1.1 Isoflavony

Isoflavonoidy jsou skupinou flavonoidních látek vykazujících různé biologické účinky. Výskyt isoflavonoidů, kterých je známo asi 200, se prakticky omezuje na luštěniny (čeleď bobovitých, *Fabaceae*), kam např. náleží sója štetinatá (*Glycine max*). V menším množství se isoflavonoidy vyskytují také v některých dalších rostlinných čeledích, např. laskavcovitých (*Amaranthaceae*), nosatcovitých (*Iridaceae*), morušovníkovitých (*Moraceae*) a růžovitých (*Rosaceae*). Hlavními představiteli isoflavonoidních látek jsou isoflavony (sloučeniny isomerní s flavony). Isoflavony a některé jejich deriváty se řadí mezi toxické látky, neboť vykazují estrogenní účinky. Některé isoflavony vykazují také antimikrobiální a další biologické účinky. [1]

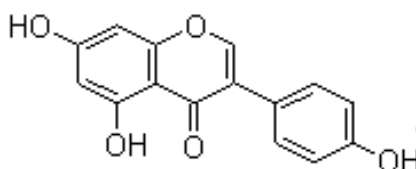
Poprvé vyvolaly isoflavonoidy zájem vědců ve 40. letech, kdy se ukázaly být zodpovědné za poruchy porodnosti ovcí při spásání velkého množství jetele, a jejich estrogenní aktivita se stala předmětem dalšího zkoumání. Prokázalo se, že účinek těchto látek nespočívá pouze v interakci s estrogenními receptory, ale také v inhibici některých důležitých enzymů, především tyrozin proteinkinasy a topoisomeras, zapojených v procesech buněčného růstu a proliferace. [2]

Isoflavony se vyskytují převážně jako 7- $\beta$ -D-glukosidy. Glykosidem daidzeinu (7,4'-dihydroxyisoflavon) viz obr. 1 je daidzin, genisteinu (5,7,4'-trihydroxyisoflavon) viz obr. 2 genistin, formononetinu (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavon) viz obr. 3 ononin, glyciteinu (7,4'-dihydroxy-6-methoxyisoflavon) viz obr. 4 glycitin. Prekurzorem daidzeinu, formononetinu a glyciteinu je flavon liquiritigenin (7,4'-dihydroxyflavanon) viz obr. 5,

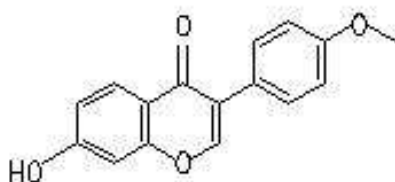
prekurzorem genisteinu a biochaninu A je naringenin (5,7,4'-trihydroxyflavanon) viz obr. 6. Kromě těchto sloučenin se v menším množství vyskytují volné isoflavony a acetylderiváty glykosidů, které jsou produkty dekarboxylace příslušných malonyl esterů. [1]



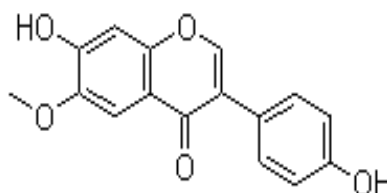
Obr. 1 Daidzein [3]



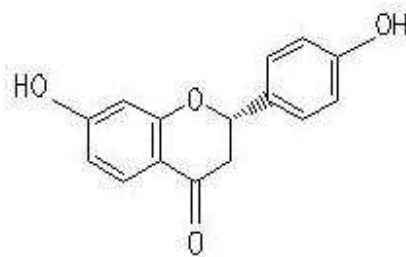
Obr. 2 Genistein [3]



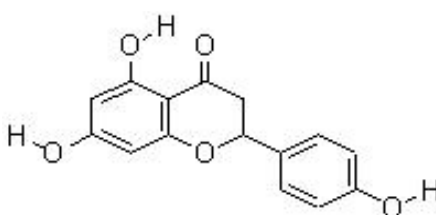
Obr. 3 Formononetin [4]



Obr. 4 Glycitein [4]



Obr. 5 Liquiritigenin [4]



Obr. 6 Naringerin [4]

## 1.2 Prenylflavonoidy

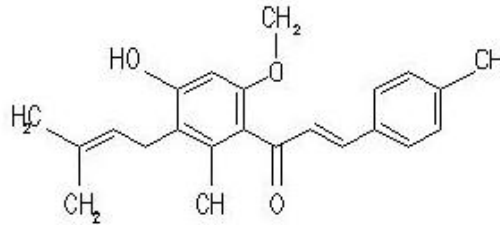
V bobovitých rostlinách se nachází také mnoho lipofilních prenylovaných isoflavonů, které jsou ve srovnání s původními isoflavony účinnějšími látkami obranných mechanismů vůči patogenním mikroorganismům a živočišným škůdcům. Vznikají prenylací isoflavonových prekurzorů dimethylallyl-difosfátem. [1]

### 1.2.1 Prenylflavonoidy chmele

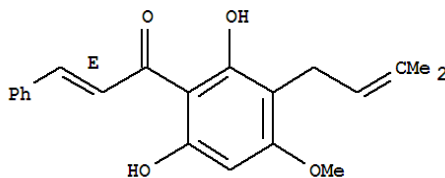
S fenylovými isoflavony jsou příbuzné fenylové flavonoidy nacházející se ve zralých samičích květenstvích chmele otáčivého (*Humulus lupulus*, čeleď *Cannabaceae*). Jejich množství závisí na klimatických podmínkách a odrůdě chmele. [1]

Pouze několik málo vyšších rostlin umí syntetizovat fenylové flavonoidy, asi 5% známých fenylových flavonoidů pochází z chmele. Rostlina biosyntetizuje a dekretuje prenylflavonoidy spolu s chmelovými pryskyřicemi a silicemi do lupulinových žlázek. Chmelové hlávky obsahují poměrně velké množství flavonoidů s fenylovým nebo uranylovým substituentem na kruhu A. Více než 80 až 90 % z nich tvoří xanthohumol (XN) viz obr. 7 v množstvích 0,2 až 1,1 hm.% v sušině chmele, který přechází do piva v izomerizované formě jako isoxanthohumol (IX) viz obr. 8. Dále je v chmelu zastoupen

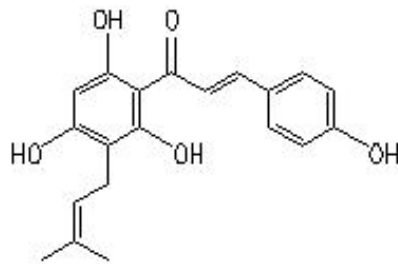
desmethylxanthohumol viz obr. 9 (2-5%) a xanthohumol C (1-2%), ostatní prenylflavonoidy se v chmelu vyskytují pouze ve stopovém množství. [5]



Obr. 7 Xanthohumol [4]



Obr. 8 Isoxanthohumol [4]

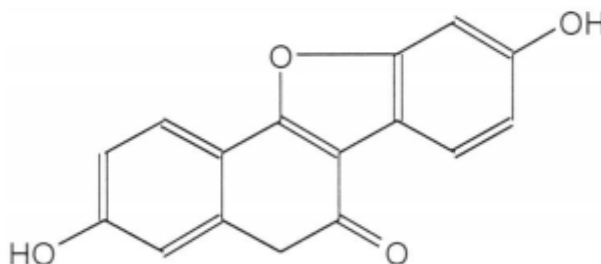


Obr. 9 Desmethylxanthohumol [4]

### 1.3 Pterokarpany

Pterokarpany jsou skupinou modifikovaných isoflavonoidů vyskytujících se v malém množství v bobovitých rostlinách (čeleď *Fabaceae*) i v rostlinách několika dalších čeledí. Typicky se zde jako fytoalexiny uplatňují při ochraně proti patogenům. Na rozdíl od většiny isoflavonoidů jsou syntetizovány jako reakce na biotický a abiotický stres. Jejich důležitými prekurzory jsou isoflavony daidzein a formononetin.

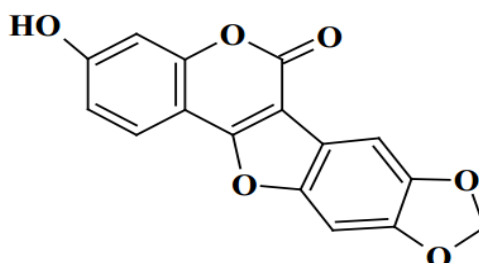
V klíčcích sójových bobů i v dalších luštěninách je obsažen spolu s isoflavonem formononetinem jako hlavní estrogen kumestrol (viz obr. 10) v množství 0,05-0,2 mg.kg<sup>-1</sup>.



Obr. 10 Kumestrol [3]

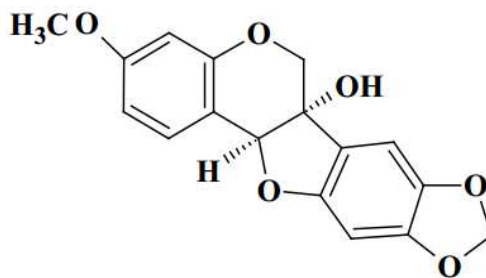
Během klíčení roste jeho koncentrace 70-150 krát. Nejvyšší množství kumestrolu je obsaženo ve slupkách bobů. Estrogenní aktivita je 30-40 krát vyšší než aktivita isoflavonů. V menším množství bývají přítomny další příbuzné sloučeniny, jako je medikarpin, lucernol, sativol a další. Kumestrol je také hlavním estrogenem většiny pícnin (jetelovin), např. vojtěšky (tolice seté, *Medicago sativa*), kde jej doprovází především medikarpin, maackiain (viz obr. 11) se nachází v cizrně beraní (*Cicer arietinum*), pisatin (viz obr. 12) v hrachu setém (*Pisum sativum*), faseolin (viz obr. 13) ve fazolu obecném (*Phaseolus vulgaris*) a glyceolliny (viz obr. 14) v sóji luštinaté (*Glycine max*).

Podle struktury se pterokarpany dělí na jednoduché pterokarpany (medikarpin s methoxylovou skupinou, maackiain s methylenedioxy skupinou) a pterokarpeny (kumestrol), 6a-hydroxypterokarpany (pisatin), z nichž některé, jako je glyceollin III s prenylovým substituentem na furanovém kruhu, mají komplexnější strukturu. [1]

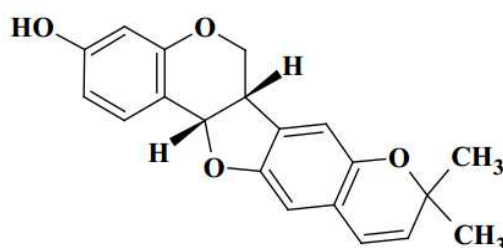


Obr. 11 Maackiain [6]

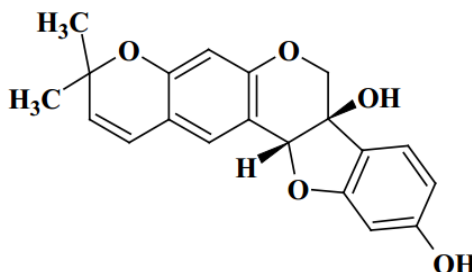




Obr. 12 Pisatin [6]



Obr. 13 Faseolin [6]



Obr. 14 Glyceolin [6]

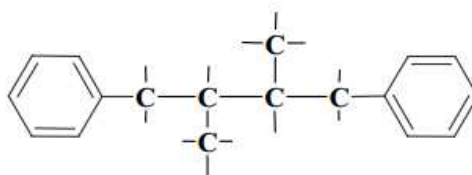
## 1.4 Lignany

Lignany tvoří jednu z bohatě zastoupených, biogeneticky příbuzných a tudíž i strukturně vymezených a charakteristických skupin fenylpropanoidů. Jejich struktura je podmíněna jejich vznikem z redukované formy základních, biogeneticky klíčových meziproduktů šikimátové dráhy, tj. z alkoholů pocházejících z kyseliny skořicové, p-kumarové a dalších biogenetických ekvivalentů. Lignany jsou striktně definovány jako dimery vzniklé oxidativní dimerizací dvou fenylpropanových jednotek spojených centrálními uhlíky jejich propanových bočních řetězců v polohách C-8 a C-8'. [7]

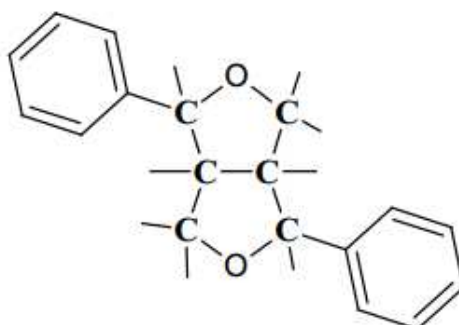
Následnými transformacemi lignanů se pak rozšiřuje jejich strukturní variabilita o další příbuzné struktury, jakými jsou norlignany nebo coniody. Všechna jiná spojení dvou fenylypropanových jednotek pak tvoří příbuzné struktury nazývané neolignany. Biosyntéza, která kombinuje fenylypropanoidy s látkami jiného biogenetického původu, poskytuje takzvané hybridní lignany. Celá lignanová rodina látek přesahuje už tisícovku jedinců a neustále jsou publikovány další nové látky tohoto typu. [7]

Známo je několik stovek lignanů. Podle stupně oxidace skeletu se rozeznává několik skupin sloučenin, z nichž mají v potravinářských materiálech největší význam čtyři typy lineárních lignanů: [1]

- lignany, deriváty butanu nazývané také diarylbutanoidy (viz obr. 15),
- lignanolidy, deriváty butanolidu,
- monoepoxylygnany, deriváty tetrahydrofuranu,
- bisepoxylygnany (viz obr. 16), které jsou deriváty 3,7-dioxabicyklo[3.3.0]oktanu.



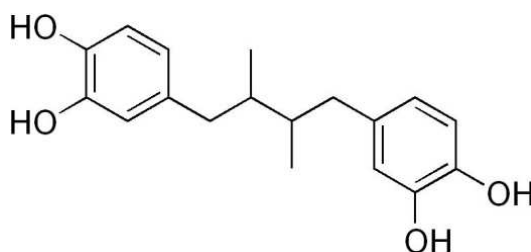
Obr. 15 Diarylbutanoid [6]



Obr. 16 Bisepoxylygnany [6]

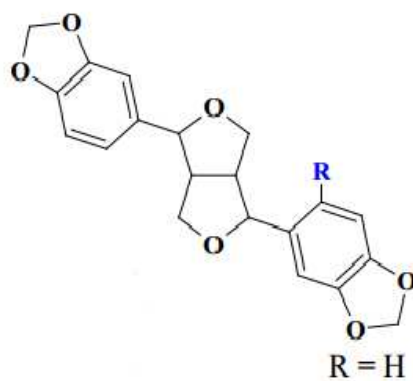
Další cyklizace, kdy vzniká nová vazba C-7/C-6“, poskytuje cyklolignany, které lze považovat za deriváty tetrahydronaftalenu nebo naftalenu.

Nejdéle známým lignanem typu diarylbutanoidů je nordihydroguajaretová kyselina (NDGA, viz obr. 17), jejíž biosyntéza vychází z kaffeoylalkoholu. V 50. a 60. letech používaná jako antioxidant, zprvu ve formě pryskyřičnatého produktu severoamerického stálezeleného kreosotového keře (*Larrea tridentata*, čeleď *Zygophyllaceae*) a později jako syntetická látka. Antioxidační vlastnosti má podobné gallátům, ale pro nepříznivé toxikologické hodnocení již dnes nemá praktický význam. [1]

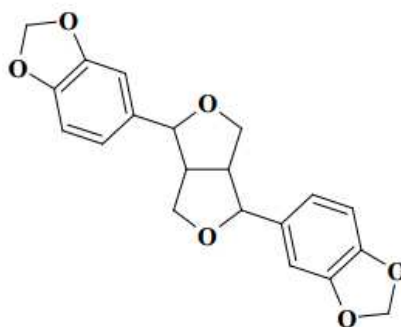


Obr. 17 NDGA [4]

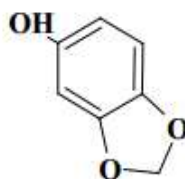
Z koniferylalkoholu vychází biosyntéza bisepoxylicnanu (+)-pinoresinolu, který je prekurzorem mnoha dalších bisepoxylicnanů, z nichž nejvýznamnější je (+)-sesamin (viz obr. 18). Sesamin je ve vyšších rostlinách poměrně rozšířenou sloučeninou, ve větším množství se nachází v sezamovém oleji získávaném ze semen sezamu indického, který je velmi odolný vůči autooxidaci. Hlavními složkami semen jsou sesamin a sesaminol (viz obr. 19), v menším množství je přítomen pipritol, sesaminolol a další. Sesamin má kromě výrazných antioxidačních účinků rovněž insekticidní účinky. Za vlastní antioxidant se považuje sesamol (viz obr. 20), který je v malém množství přítomen již v semenech. Ve větším množství však vzniká až hydrolyzou samolinu při rafinaci oleje a při termických operacích. [1]



Obr. 18 Sesamin [4]



Obr. 19 Sesamolin [4]



Obr. 20 Sesamol [4]

## 2 ÚČINEK FYTOESTROGENŮ NA LIDSKÉ ZDRAVÍ

Fytoestrogeny (FE) při dlouhodobém užívání mohou spolupůsobit na cílové tkáni s živočišnými estrogény, ale mohou být i antagonisty, pokud vazbou na estrogenní receptor (ER) blokují účinek endogenních estrogenů. Působení FE je výraznější u žen v menopauze, kde chybí působení „silných“ estrogenů, které mají vyšší afinitu k ER. Významnou vlastností isoflavonů je účinek na játra, kde zvyšuje tvorbu SHGB (sex hormon binding globulin). Tyto globuliny potom v krvi silně váží estrogény, ale i androgeny, tím snižují jejich biologickou dostupnost v tkáních. FE mohou ovlivňovat hormonální hladiny prostřednictvím enzymů. Inhibicí aromatáz v cílové tkáni limitují lokální konverzi prekurzorů na estrogény. Inhibicí aktivity specifických tyrozinkináz, enzymů nezbytných pro zprostředkování účinku růstových faktorů, mohou být FE chápány jako látka protinádorová. Při nádorovém růstu je novotvorba cév nutným procesem k výživě rostoucího nádoru. Růstové faktory produkované samotnými nádory tento proces podporují. Isoflavony naopak neovaskularizaci inhibují. [8, 9]

### 2.1 Kardiovaskulární onemocnění

Fytoestrogeny mohou mít pozitivní vliv na srdeční onemocnění prostřednictvím snižování koncentrace lipidů a lipoproteinů v plazmě. Snižování hladiny cholesterolu u zvířat sójovými proteiny je známé už delší dobu, ale u člověka byl tento vliv popsán nedávno. Nejvyšší účinek byl zaznamenán u těch dobrovolníků, kteří měli na začátku pokusu nejvyšší hladinu cholesterolu. To může být důvod, proč jiné studie vliv fytoestrogenů na snižování cholesterolu nenalezly. Ani pozitivní výsledky dalších pokusů nepřinesly jednoznačnou odpověď, neboť v několika případech byly připsány špatnému výběru a velikosti sledované skupiny osob, případně jiným složkám podávaného přípravku než isoflavonům. Isoflavony sóji mohou stabilizovat LDL lipoproteiny proti oxidaci, u níž se předpokládá, že probíhá v artériích a je považována za jednu z možných příčin vzniku aterosklerózy. Kumestrol je účinnější inhibitor oxidace než 17 $\beta$ -estradiol, zatímco isoflavony byly účinné méně. Vezmeme-li v úvahu, že isoflavony zlepšují vasodilataci u žen v postmenopauze, jsou jasnými kandidáty pro účinnou prevenci aterosklerózy. [10]

Existuje několik klinických studií, které zkoumaly, jestli mají fytoestrogeny vliv na KVO, nebo sójové isoflavonoidy mají schopnost snižovat hladinu celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a zvýšení HDL. Jedna ze studií zkoumala vliv isoflavonů na vývoj plazmatické koncentrace homocysteinu, LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, celkového

cholesterolu a triglyceridů. Účastnilo se jí celkem 90 zdravých žen v postmenopauzálním věku. Všem byl při vstupní prohlídce změřen tlak, proběhla antropometrie a byly zaznamenány výsledky laboratorního vyšetření krve. Poté probíhal pravidelný denní příjem preparátu obsahujícího 29,8 mg genisteinu, 7,8 mg daidzeinu a 2,4 mg glyciteinu. Polovina však užívala placebo. Po uplynutí šesti měsíců byly opět stanoveny plazmatické koncentrace výše uvedených látek. Skupina užívající isoflavony měla plazmatické koncentrace homocysteinu, LDL cholesterolu, celkového cholesterolu a triglyceridů nižší a koncentrace HDL cholesterolu vyšší při porovnání s výchozími hodnotami. Druhá část účastnic studie užívající placebo nevykazovala žádné statisticky významné změny. [11]

## 2.2 Nádorová onemocnění

Některé difenolické fytoestrogeny s hormonální aktivitou mají antikarcinogenní účinky, jsou to především isoflavonoidy a lignany. Prekurzory těchto biologicky aktivních sloučenin se nacházejí v sójových bobech, celozrnných cereálních výrobcích, různých semenech a pravděpodobně v ořechách. Rostlinné lignanové a isoflavonoidové glykosidy jsou střevními bakteriemi převáděny na sloučeniny se slabou hormonální estrogenní aktivitou, ale také s antioxidační aktivitou. Mají tedy nejenom vliv na metabolismus pohlavních hormonů a jejich biologickou aktivitu, ale ovlivňují také intracelulární enzymy, syntézu proteinů, působení růstového faktoru, proliferaci maligních buněk, diferenciaci. Epidemiologické studie toto zjištění potvrdily, jelikož nejvyšší hladiny těchto sloučenin jsou přítomny v potravě v těch zemích či regionech s nejnižším výskytem rakoviny. Za zmínku stojí, že antibiotika snižují vznik estrogenních a antikarcinogenních látek z rostlinných prekurzorů ve střevech.

Isoflavonoidové fytoestrogeny se váží na estrogenový receptor a vykazují slabé estrogenní účinky. Některé isoflavonoidy a lignany soutěží o vazebné místo receptoru s estrogenem. Mnoho rostlinných lignanů má antikarcinogenní, antivirální, baktericidní a fungistatické účinky. Většina lignanů a flavonoidů jsou pouze slabými inhibitory rakovinotvorných procesů, ale díky značně velkému obsahu v rostlinné stravě je zajištěna jejich dostatečná koncentrace v organismu, aby se snížilo riziko vzniku estrogen-dependentní rakoviny. Zdá se, že lignany a isoflavonoidy mají projektivní roli vůči několika typům rakoviny (prsu, prostaty, tlustého střeva). [3]

Spolehlivým ukazatelem ohledně obsahu a biodostupnosti fytoestrogenů je vylučování jejich metabolitů močí. Nižší riziko vzniku rakoviny prsu mají pacientky s vyšším

obsahem metabolitů v moči. Dále byla provedena studie moči u již nemocných pacientek, ta vykázala mnohem nižší hodnoty, než u zdravých žen. Vyšší příjem isoflavonoidů a produktů ze lnu se prokazuje výrazně nižším obsahem genotoxických estrogenních metabolitů v moči. Jsou tři hlavní cesty metabolismu estrogenů. V první cestě se metabolisuje estradiol a estron. V druhých dvou cestách vznikají 16 $\alpha$ -hydroxyestrogen a 4-hydroxyestrogen, které vykazují genotoxické vlastnosti. Metabolity 2-hydroxyestrogeny mají projektní účinek na vznik rakoviny. [12]

### 2.3 Fytoestrogeny a kostní tkáň

Řada laboratorních experimentů *in vivo* i *in vitro* dokládá stimulační vliv isoflavonoidů na kostní tkáň jak prostřednictvím estrogenových receptorů, tak mechanismy na ER nezávislými. Isoflavony zvyšují syntézu vitamínu D, stimulují příjem vápníku a zvyšují diferenciaci a proliferaci osteoblastů. Klinické studie tyto závěry potvrzují jen v omezené míře. Literatura rovněž není jednotná v názoru na to, jaké dávky jsou potřeba pro dosažení efektu.

Metaanalýza Cornwellové, a kol. z roku 2004 uvádí pozitivní výsledky pro 11 z 15 tehdy hodnocených studií, které se zabývaly vlivem fytoestrogenů na kost. Současný přehled Babera zahrnuje dvanáct prací, z nichž pozitivní výsledky udává sedm. Japonští autoři Uesugi, a kol. udávají jako dávku isoflavonů, která již snižuje úbytek kostní hmoty v menopauze, 40 mg/den, přičemž výraznější efekt byl pozorován u producentek equolu. Evropské a americké studie udávají pozitivní vliv obvykle až při denním příjmu isoflavonů v rozmezí 76-120 mg/den. Lepší výsledky, charakterizované nárůstem kostní hustoty v oblastech bederní páteře, proximálního radiu a ulny, byly dosaženy při současné suplementaci kalcium a vitamínem D. Pouze jedna studie byla provedena s přesně definovaným preparátem, jímž byl genistein v dávce 54 mg/den. [13]

### 2.4 Vliv na činnost mozku

Fytoestrogeny se také mohou podílet na zvýšení kvality života pozitivním ovlivněním paměti. U žen v období menopauzy mohou mírnit výkyvy nálad a vysokou frekvenci depresí.

U studentů, kteří užívali alespoň 0,5 mg isoflavonoidů denně se zlepšila jak krátkodobá, tak i dlouhodobá paměť. Zároveň byla studována změna ostatních poznávacích vlastností, jako je pohotovost a mentální flexibilita. [12]

## 2.5 Fytoestrogeny a kojenci

Díky vysokému obsahu fytoestrogenů by měla být indikována potrava kojenců na bázi sóji pouze v ojedinělých případech, uvedla prof. Sabine Kulling z univerzity v Postupimi na 4. fóru ochrany spotřebitelů německého Spolkového ústavu pro hodnocení rizik. Ačkoli by fytoestrogeny měly mít v malém množství a v závislosti na životní fázi vlastnosti podporující dobrý zdravotní stav, mohou se projevit i negativně, a to v případě, že sójové produkty tvoří velký podíl stravy nebo se vyskytují v izolované formě. Protože účinnost těchto látek v kojeneckém věku nebyla dostatečně podrobena výzkumu, nikdo přesně neví, jak mohou tyto látky působit v delším časovém horizontu. Také z tohoto důvodu je doporučováno sójové výrobky do stravy kojenců zařazovat pouze v indikovaných případech, např. pokud se u dítěte prokáže vrozená intolerance glukózy kravského mléka. Dokonce ani v případě alergie na bílkoviny kravského mléka nepřináší zařazení sóji do výživy žádnou výhodu a neměla by být v žádném případě podávána dětem do 6. měsíce věku. [14]

## 2.6 Fertilní věk

Běžné dietní dávky sójových isoflavonů nijak neovlivňují menstruační cyklus a plodnost žen ani reprodukční schopnosti a potenci mužů. Naproti tomu byly popsány příznivé účinky na intenzitu premenstruačních symptomů u žen konzumujících sójové mléko v dávce obsahující 68 mg/den isoflavonů. Jiné druhy fytoestrogenů nebo extrémně vysoké dávky isoflavonoidů ale mohou mít nežádoucí účinky. Ojediněle byla u mužů popsána gynekomastie, která ustoupila po vyloučení sójového mléka nebo fytoestrogenových doplňků z diety. Výskyt nepravidelností menstruačního cyklu byl zaznamenán u pracovníků exponovaných polyfenolům chmele. [13]

## 2.7 Působení fytoestrogenů u mužů

Pokud konzumují muži každý den sójové produkty, může v jejich organismu docházet k redukci počtu spermií. Tyto výsledky zveřejnili vědci z Harvardské univerzity se sídlem v Bostonu. Testovali 99 mužů, kteří se společně se svými partnerkami podrobovali léčbě neplodnosti. Muži, kteří konzumovali denně jednu porci tofu nebo pili sójové mléko, vykazovali pouze 41 milionů spermií v jednom mililitru ejakulátu. Normální hodnota se obvykle pohybuje mezi 80 až 120 miliony spermií. Obzvláště nízký počet spermií byl detekován u mužů, kteří konzumovali mnoho sójových produktů a kromě toho byli navíc



obézní. V organismu těchto mužů docházelo ke zvýšené tvorbě ženského pohlavního hormonu estrogeneru v porovnání s muži štíhlými.

Podle údajů zveřejněných v odborném časopise *British Journal of Urology* přivádějí ženy, které v průběhu těhotenství konzumovaly výhradně vegetariánskou stravu na svět pětkrát častěji potomky mužského pohlaví, kteří jsou postiženi malformací penisu. Vědci se domnívají, že také v tomto případě měly na vývoj malformací negativní vliv fytoestrogeny obsažené v sóje. [15]

## 2.8 Vedlejší účinky

Zmínky o doložených vedlejších účincích isoflavonoidů v literatuře jsou vzácné. Nespecifické symptomy zahrnují mírné gastrointestinální projevy a únavu. Existuje několik kazuistik popisujících gynekomastii, při které hrály roli isoflavonoidy. V pokusech na zvířatech *in vitro* byla pozorována mírná akumulace genisteinu ve folikulech štítné žlázy a jeho schopnost působit jako kompetitivní inhibitor tyreoidální peroxidázy. Látek s obdobnou aktivitou bylo ovšem v potravinách popsáno mnoho (polyfenoly, glukosinoláty, thioly) a isoflavony zdaleka nepatří mezi neaktivnější. Za normálních podmínek má štítná žláza dostatečnou rezervu kapacity a přítomnost určitého množství těchto látek v potravě nečiní problémy – jinak by nebylo možné konzumovat žádnou rostlinnou stravu. Při vysokém příjmu isoflavonoidů byly ojediněle zaznamenány komplikace u predisponovaných osob. Šlo např. o zhoršení projevů kongenitální hypotyreózy u kojenců krměných sójovými náhražkami mléka nebo o manifestaci subklinické hypotyreózy u dospělých. Proto při užívání fytoestrogenových přípravků ženami, které mají v anamnéze poruchy funkce štítné žlázy, by měla být věnována pozornost možnosti ovlivnění tohoto orgánu. Ve studii metabolismu nebyl nezaznamenán žádný rozdíl v parametrech tyreoidálního metabolismu a v hladinách glukokortikoidů mezi uživatelkami fytoestrogenů a ženami na HRT. Mezi riziky fytoestrogenů je možno uvést nerealistické očekávání, zejména ve vztahu k závažnějším stadiím osteoporózy a k nádorovým onemocněním. Jejich potenciál spočívá v prevenci, řešení akutních stavů vyžaduje účinnější léčiva. [13]

### 3 ZDROJE FYTOESTROGENŮ

Nejznámější skupinou FE jsou isoflavony. Je jich známo asi přes 1000, jsou obsaženy zejména v luštěninách (hrách, čočka, fazole), v sóje, bobech, jeteli a vojtěšce. Nejvíce estrogenních vlastností mají genistein, daidzein, biochanin. Působí jako stresové látky v ochraně proti útokům bakterií, plísní, parazitů, reagují na klimatické trauma. Flavony jsou běžně pigmenty v semenech a plodech žluté barvy, jejich estrogenní vlastnosti jsou slabé. Kumestany jsou silněji působící estrogenní látky nežli isoflavony. Jsou obsaženy v mladých luštěninách, mohutným zdrojem je červený jetel.

Široká paleta možného účinku FE na lidský organismus podnítila zkoumání množství příjmu potravin s obsahem FE. Nicméně stále je ještě nedostatek informací o obsahu FE v běžných potravinách na rozdíl od potravin sójového typu. Ovoce a zelenina (viz PŘÍLOHA P I), semena (viz Tab. 1) a obiloviny (viz Tab. 2) jsou hlavními zdroji FE u potravin rostlinného typu, přičemž obsah fytoestrogenů v rostlinách a jejich částech je závislý na půdních a klimatických podmínkách, stáří rostliny aj. [16]

Tab. 1 Obsah daidzeinu a genisteinu ve vybraných druzích semen [17]

Ořechy	Daidzein [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Genistein [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
arašídy	77	158
kaštany	79	59
kokos	128	185
lískové ořechy	58	194
mandle	nd	nd
sezamové semínko	37	17
slunečnicové semínko	nd	nd
vlašský ořech	nd	nd

Tab. 2 Obsah daidzeinu a genisteinu ve vybraných druzích obilovin a výrobků [17]

Potravina	Daidzein [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Genistein [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
krajíc tmavého chleba	5005	3770
kroupy	nd	86
kukuřičná mouka	95	142
lasagne syrové	24	81
lasagne vařené	nd	nd
nudle syrové	144	89
nudle vařené	nd	146
ovesná mouka	nd	nd
pšeničné otruby	nd	38
rýže bílá syrová	nd	nd
rýže bílá vařená	79	119
rýže tmavá dlouhozrná syrová	613	713
rýže tmavá dlouhozrná vařená	125	141
snídaňové cereálie	372	760
špagety syrové	63	75
špagety vařené	nd	146
vícezrný křupavý chléb	6085	5788

### 3.1 Sója luštinatá

Typickým zdrojem fytoestrogenů je potrava bohatá na sóju (*Glycine max*, č. *Fabaceae*, viz obr. 21) a její produkty. V souvislosti s nemocí šílených krav stoupá ve výživě význam sójového masa, např. jako vhodné náhražky masových karbanátků v řetězcích rychlého občerstvení. V Asii se těší značné oblibě pokrmy vyráběné fermentací sójových fazolí, které obsahují isoflavonoidy, hlavně ve formě volných aglykonů. Obsah fytoestrogenů v potravinách do značné míry závisí na technologickém zpracování suroviny. Někteří autoři popisují mírné snížení obsahu daidzeinu a genisteinu při mletí sójových fazolí, jiní podobný vliv nezaznamenali. Při vaření se genistein a daidzein nerozkládají, ale pražení fazolí vyvolává ztráty okolo 21 % pro genistein a 15 % pro daidzein. Zmrazené sójové fazole obsahovaly o 20-30 % méně genisteinu a daidzeinu ve srovnání s čerstvými a rovněž skladování syrových fazolí způsobilo pokles obsahu fytoestrogenů až o 75 %. Výroba tofu neovlivňuje obsah isoflavonoidů. Naopak při výrobě sójových párků nebo tofu

jogurtu se sníží obsah fytoestrogenů až desetkrát. Odstranění tuků z práškových sójových surovin vede obvykle ke snížení obsahu isoflavonů o 30-40 %.



*Obr. 21 Glycine max [18]*

Sójový protein izolovaný extrakcí etanolem obsahuje asi jen 50 % fytoestrogenů původně v sóji přítomných.

O tom, kolik fytoestrogenů člověk přijímá s potravou, rozhodují v první řadě tradiční národní zvyky. Většina asijské populace konzumuje 20-80 mg genisteinu za den, zatímco příjem genisteinu v USA činí jen 1-3 mg denně. Dalším nezanedbatelným vlivem je skladba potravy v různých dietách. Ti lidé, kteří upřednostňují makrobiotickou stravu, vylučují močí 4x více fytoestrogenů než laktovegetariáni, a ti zase asi 2x více než

konzumenti jak živočišné tak rostlinné stravy. Obsah daidzeinu a genisteinu ve vybraných potravinách ze sóje je uveden v tabulce č. 3 a č. 4. [10]

Tab. 3 Obsah daidzeinu ve vybraných potravinách ze sóje [19]

Potravina	Daidzein [ mg/100g]
sójová mouka	72,92
sójová semena	61,7
tempeh	22,66
miso	16,43
sója	20,34
cheddar, sójový sýr	1,83
parmezán, sójový sýr	1,8
mozarella, sójový sýr	1,14

Tab. 4 Obsah genisteinu ve vybraných potravinách ze sóje [19]

Potravina	Genistein [ mg/100g]
sójová mouka	98,77
sójová semena	60,07
tempeh	36,15
miso	23,24
sója	22,57
mozarella, sójový sýr	2,6
cheddar, sójový sýr	2,11
parmezán, sójový sýr	0,8

### 3.2 Jetel červený

Jetel červený (*Trifolium pratense* L., č. *Fabaceae*, viz obr. 2) obsahuje široké spektrum aktivních isoflavonů. Jsou to především čtyři druhy, které hrají významnou biologickou roli: biochanin A, který je prekurzorem genisteinu, formononetin, genistein a daidzein. Isoflavony jsou molekuly podobné estrogenům, které se váží na estrogenové receptory, především ER beta, méně na ER alfa. V rostlinách účinkují jako antioxidanty. Extrakt z červeného jetele, obsahující 4 isoflavonoidy, má díky vysokému obsahu polyfenolů vysoký potenciál vychytávat volné radikály. Může se tedy uplatnit jejich vliv

kardioprotektivní a antikarcinogenní. Pokud se týče léčby akutních symptomů klimakterického syndromu, především vazomotorických příznaků, lze srovnat účinek preparátu z červeného jetele a sóji. Sója jako součást stravy je dostupnější, ale preparáty z ní nejsou tak účinné, protože obsahuje méně isoflavonových složek než červený jetel. Isoflavony z červeného jetele mají rovněž afinitu k androgenním a progesteronovým receptorům. Vzhledem k tomu, že oba receptory jsou důležité pro zlepšování nálady, červený jetel toto zlepšování umožňuje. Extrakt z červeného jetele navíc vykazuje *in vitro* silnou schopnost inhibice aromatázy. Tato schopnost potlačovat estradiol v tukové tkáni prsu by naznačovala antirakovinový účinek u karcinomu prsu. V tomto antikarcinogenním vlivu na prs je červený jetel účinnější než sója, u které se pozitivní efekt uplatňuje až po delším užívání. [8,20]



Obr. 22 *Trifolium pratense* [21]

### 3.3 Vojtěška

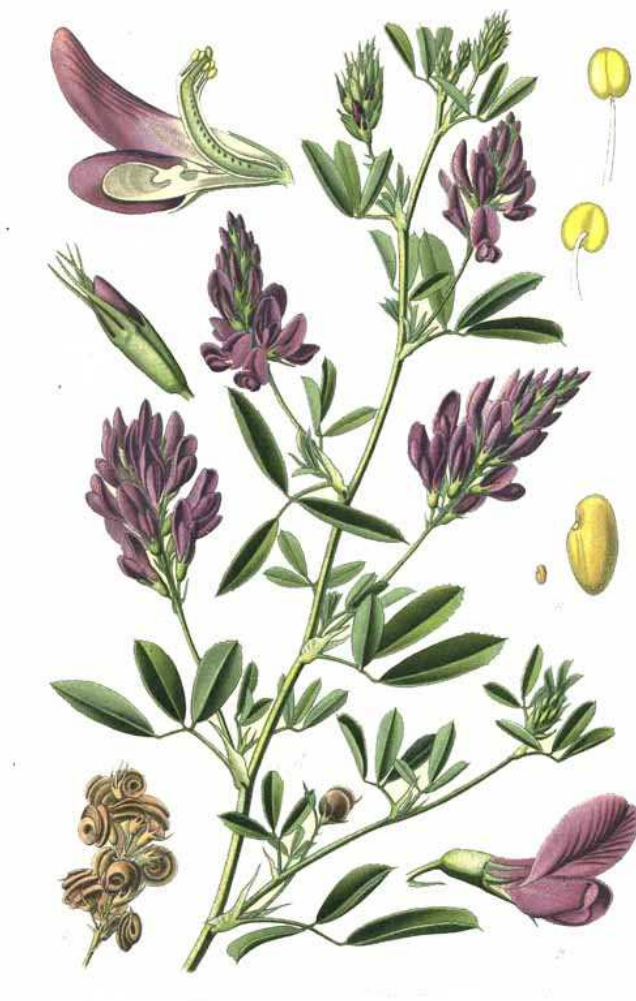
(*Medicago sativa* L., č. *Fabaceae*, viz obr. 23)

Nať obsahuje triterpenové aglykony a glykosidy (glykosidy vycházející ze sojasapogenu B a E, glykosidy medikagenové kyseliny a kyseliny zanhové), triterpeny ( $\beta$ -amyrin), kumestany (kumestrol, lucernol), pterokarpany (medikokarpin), flavonoidy (flavany,

dihydroxyflavanony, flavony), isoflavony (isoflavany, isoflavanony, isoflavony) a deriváty benzopyranu (katechiny).

Vojtěška je známa svým obsahem nenučičních látek, a to nejen klasických fytoestrogenů, ale také poměrně výrazným množstvím flavonoidů. Kvantitativní hladina těchto látek závisí na fenofázi rostliny, stáří porostu, odrůdě a klimatických podmínkách.

Zajímavé výsledky přináší práce, zabývající se obsahem kumestrolu ve dvou odrůdách vojtěšky (Morava, Pálava). Bylo zjištěno, že v průběhu zadávání seče se výrazně zvyšuje obsah kumestrolu. Ukázalo se rovněž, že maximální obsah fytoestrogenů lze v nati vojtěšky zjistit ve stadiu začínajícího růstu vedoucího k butonizaci, kdy stoupá obsah formononetinu ve stoncích a květenství, zatímco obsah ononinu roste v listech. Kumestrol, který je hlavním fytoestrogenem se vyskytuje ve všech morfologických orgánech v podstatě rovnoměrně. [22]



Obr. 23 *Medicago sativa* [23]

### 3.4 Zdroje fytoestrogenů v živočišných potravinách

Fytoestrogeny se dostávají do živočišných tkání prostřednictvím pastvy případně krmiva. Expozice lidí však nemůže být srovnávána se zvířaty. Avšak sójové produkty mají cca 300 až 500krát vyšší obsah fytoestrogenů než produkty, které je nahrazují. Fyziologický význam je nutno ještě zásadně zkoumat, zda je jednoznačně pozitivní. [24]

Stále je však málo informací o výskytu jednotlivých fytoestrogenů v potravinách, zvláště pak v potravinách živočišného původu (viz Tab. 5, 6) a chybí údaje o odhadu expozice těmito sloučeninami u citlivé populace, např. u dětí.

*Tab. 5 Celkový obsah fytoestrogenů ve vybraných potravinách živočišného původu [24]*

Potravina	Obsah FE ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
plnotučné mléko	12
odtučněné mléko	20
smetana	80
kozí mléko	50
jogurt	20
sýr gouda	24
sýr camembert	29
máslo	11-17
vejce	11
hovězí maso	7-19
vepřové maso	4-20
ryby a mořští živočichové	2-9

*Tab. 6 Obsah jednotlivých fytoestrogenů v potravinách živočišného původu [24]*

Potravina	Isoflavon $\mu\text{g}/100\text{g}$	Lignan $\mu\text{g}/100\text{g}$	Kumestrol $\mu\text{g}/100\text{g}$	Equol $\mu\text{g}/100\text{g}$	Enterolignan $\mu\text{g}/100\text{g}$
mléko a mléčné výrobky	21	34	2	12	26
sýry	25	21	2	18	35
máslo	74	22	74	0	0
vejce a výrobky z vajec	43	17	2	34	13
maso	41	41	3	7	7
ryby	67	33	0	0	0

Velký zájem je proto o odhad výskytu fytoestrogenů v kravském mléku a výrobcích z něj, neboť se při výkrmu zvířat zvyšuje používání mouky z různých rostlinných zdrojů, která obsahují velká množství fytoestrogenů. Ve Francii provedli studii, ve které vyšetřovali



výskyt hlavních fytoestrogenů (isoflavonů, lignanů, kumestanů) v různých komerčních vzorcích mléka. Mléko bylo zvoleno proto, že představuje hlavní potravinu pro citlivou skupinu populace, tj. děti. Celkem se analyzovalo 26 různých vzorků komerčního mléka, přičemž se bral do úvahy vliv obsahu mléčného tuku (plnotučné nebo odstředěné mléko) a typ výkrmu krav. Výsledky ukázaly, že se isoflavony v mléku vyskytují ve stopovém množství (v rozsahu 0,1-5,0 µg/l). Ve všech analyzovaných vzorcích však byla vysoká koncentrace látek s estrogením účinkem, a to: equolu (produkuje se ve střevech jako metabolit např. sóji a sójových potravin) a enterolaktonu (lignanů). Jejich obsah se pohyboval v rozmezí 14,1-293 µg/l (equol) a 14,3-94,4 µg/l (enterolakton). [25]

## 4 METODY STANOVENÍ OBSAHU FYTOESTROGENŮ V POTRAVINÁCH

Při určování jednotlivých FE jsou využívány různé analytické metody. Velmi důležitá je příprava vzorku, která je prvním krokem stanovení. Uplatňují se různé způsoby extrakce a izolace ze vzorků. Příprava vzorků pro finální analýzu dále zahrnuje zkoncentrování surového extraktu, odstranění přebytku endogenních směsí a eliminování interferencí.

### 4.1 Extrakce

Při provádění extrakce sledovaného analytu z matrice vzorku lze využít široké spektrum extrakčních technik, od prosté digesce vzorku rozpouštědlem, extrakce na ultrazvukové lázni přes extrakci podle Soxhleta až po nové instrumentální extrakční metody jako jsou superkritická fluidní extrakce, mikrovlnná extrakce a extrakce urychleným tokem rozpouštědel. Instrumentální extrakční techniky vyžadují minimální množství vzorku, sonetu, jsou méně časově náročné, a pro možnost on-line zapojení se separačními technikami jsou velice žádoucí. [26, 27]

#### 4.1.1 Solid-Liquid extrakce

Tímto postupem se selektivně přenášejí některé složky směsí tuhých látek do vhodných rozpouštědel a to buď na základě pouhého fyzikálního principu rozpouštění anebo v kombinaci s chemickou reakcí. Metody extrakce jsou založeny převážně na polaritě a aciditě hydroxylových skupin vázaných na aromatické jádro. Při extrakci polární kapalinou z dokonale homogenizovaných vzorků se používá methanol, ethanol nebo acetonitril, popř. jejich vodné roztoky. V některých případech se používá dichlormethan nebo dimethyl sulfoxid. Doba extrakce se v závislosti na použité extrakční kapalině a druhu vzorku pohybuje od jednotek hodin až po několik dní. Postupy založené na kyselé hydrolyze využívají pro extrakci vodné roztoky organických rozpouštědel (methanol, acetonitril, ethanol) s přídavkem kyseliny chlorovodíkové. Účinnost je závislá především na koncentraci kyseliny chlorovodíkové, době extrakce a procentuální koncentraci rozpouštědla. [28]

#### 4.1.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

SFE je preparační technika, která využívá specifických vlastností nadkritických tekutin. Využití nadkritických tekutin pro extrakce je dáno především snahou využít některých

vhodných vlastností látek v tomto stavu k optimalizaci stávajících extrakčních postupů. Kromě své vysoké rozpouštěcí schopnosti mají nadkritické tekutiny i další výhodné vlastnosti; díky nízké viskozitě a vysoké difuzitě v sobě spojují solvatací sílu kapalin s výhodnými podmínkami pro přestup hmoty v průběhu extrakce. Nejčastěji používaným superkritickým rozpouštědlem je oxid uhličitý pro své nízké hodnoty kritických veličin ( $T_k=31,1^\circ\text{C}$ ,  $p_k=7,38\text{MPa}$ ).

Potenciální výhody zahrnují rychlost extrakce (méně než 30 minut), redukci používání nebezpečných rozpouštědel a možnost on-line spojení s plynovou, kapalinovou nebo superkritickou fluidní chromatografií. Významnou výhodou aplikace SFE je omezení degradace aktivních sloučenin.

SFE byla použita pro extrakci isoflavonů s rozdílnými výsledky. Při extrakci glykosidů isoflavonů nebyla SFE příliš úspěšná, avšak pro stanovení aglykonů isoflavonů se uplatnila s poměrně dobrými výsledky. [29, 30]

#### **4.1.3 Mikrovlnná extrakce**

Na rozdíl od běžné extrakce kapalinou, kdy je využíván relativně dlouhý extrakční čas (3-48 hodin), použití mikrovlnné energie pro zahřátí extrakčního media má za výsledek významnou redukci doby extrakce (méně než 30 minut). Vedle zkrácení doby extrakce je dosaženo také redukce spotřeby organického rozpouštědla. Mikrovlnná extrakce našla uplatnění především v oblasti environmentální chemie, ale byla také úspěšně použita pro stanovení biologicky aktivních látek. [30,31]

#### **4.1.4 Extrakce urychleným tokem rozpouštědla**

Extrakce urychleným tokem rozpouštědla je nová technika, která má použití především v oblasti environmentální chemie, pouze omezená část publikací se zabývá extrakcí rostlinných metabolitů.

V principu je to extrakční proces v systému tuhá látka – kapalina prováděný po krátký časový interval (5-15 minut) za zvýšené teploty ( $40-200^\circ\text{C}$ ) a zvýšeného tlaku (10-15MPa). Pevný vzorek je aplikován do pevné nerez extrakční cely a extrahován organickým rozpouštědlem, nebo vodnými roztoky za zvýšené teploty a tlaku. Extrakt je následně vytlačen do sběrné nádoby pomocí stlačeného plynu, nejčastěji dusíku. Pro rychlou a efektivní extrakci analytu z pevné matrice je extrakční teplota významným

faktorem. Dalším důležitým faktorem je vedle teploty a tlaku výběr vhodného rozpouštědla. [32]

## 4.2 Hydrolýza

Glykosidy není možné podrobit hned analytickým zkouškám. Proto musí nejdříve projít hydrolýzou a přeměnou na aglykony, které je potom možno analyzovat. Není to ale možné u všech známých FE. Používají se dva způsoby hydrolýzy. První je pomocí enzymů. Příkladem může být enzym  $\beta$ -glukosidáza z mandlí. Enzymatickou hydrolýzu předchází extrakce homogenizovaného vzorku 96% ethanolem. Po dokonalém odpaření pod vakuem následuje digesce acetátovým pufrům obsahujícím  $\beta$ -glukosidázu a  $\beta$ -glukoronidázu/sulfatázu, inkubace a centrifugace. Enzymatická hydrolýza je mnohem šetrnější a vyznačuje se zlepšenou selektivitou. [33]

Druhým způsobem je hydrolýza za tepla, kde se využívá teplota 100°C s 1-2M HCl. V tomto případě se řeší problém stability přírodních FE v kyselém prostředí. V takovémto prostředí mohou podléhat dehydrataci, a to může znehodnotit výsledek následné analýzy. [34]

## 4.3 Čištění a frakcionace extraktu

Různorodost složení surového extraktu vede k nutnosti dalšího separačního kroku, jehož cílem je frakcionace, eliminace možných interferujících složek, a také zkoncentrování cílových analytů vzorku. Jedná se především o aplikaci různých separačních postupů jako je extrakce kapalina - kapalina za použití různých rozpouštědel, sloupcová chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě, extrakce tuhou fází, či semipreparativní kapalinová chromatografie. [30]

### 4.3.1 Extrakce kapalina-kapalina

Extrakce kapalina - kapalina představuje nejjednodušší techniku frakcionace, přečištění a zkoncentrování cílových analytů surového extraktu nebo může představovat první extrakční krok u kapalného vzorku. Tato metoda je založena na rozdělování rozpuštěných analytů mezi dvě v podstatě nesmíselná rozpouštědla. Prvním bývá voda, druhým rozpouštědla - ethylacetát, terc.-butylmethylether, nejběžnější rozpouštědla používaná pro extrakci z biologických tekutin. [28]

### 4.3.2 Chromatografie na tenké vrstvě

Chromatografie na tenké vrstvě je ve srovnání s papírovou chromatografií univerzálnější, rychlejší a citlivější. Vedle klasických sorbentů jako je silikagel, celulóza, polyamid, alumina či Sephadex nebo jejich kombinace se velmi často používá chemicky modifikovaný silikagel. [30]

### 4.3.3 Extrakce tuhou fází

Extrakce tuhou fází je založena na separačním mechanismu používaném v kapalinové chromatografii, při němž mohou být hledané analyty přednostně izolovány ze složitých matic, přičemž izolace, přečištění a zkoncentrování analytu může být dosaženo v jednom kroku.

Při extrakci na pevné fázi bývá v prvním kroku provedena digesce rozpouštědlem. Potom je extrakt vzorku nanesen na vhodný sorbent. K nejpoužívanějším sorbentům patří, vedle modifikovaného silikagelu, především polymerní sorbenty na bázi N-vinylpyrrolidinu a divinylbenzenu a poly (styren - divinylbenzen) pryskyřice. [35,36]

Kopolymerní sorbenty na bázi N-vinylpyrrolidinu a divinylbenzenu umožňují použití extrakcí v širokém rozsahu pH hodnot. Těto vlastnosti je využito u tzv. 2 – D („dvou dimenzionální“) SPE extrakce. Strategie 2 – D SPE metody spočívá v adjustaci vzorku a především v promývacích krocích, kde vhodnou úpravou pH hodnot podle typu analytu a optimalizace koncentrace organického rozpouštědla se dosáhne maximální selektivity separace sledovaného analytu. [30]

## 4.4 Metody stanovení a identifikace

Detekce a identifikace biologicky aktivních látek hraje strategickou roli ve fytochemickém výzkumu. K orientačním technikám patří především papírová, tenkovrstvá a případně i sloupcová chromatografie. Pro stanovení jednotlivých isoflavonů v rostlinných extraktech a biologických materiálech jsou s úspěchem používány především metody chromatografické a elektromigrační. [30]

### 4.4.1 Plynová chromatografie

V roce 1985 byla základní metodou pro stanovení isoflavonoidů plynová chromatografie. Mezi nevýhody této techniky patří omezená separace pouze na aglykony isoflavonů a především nízká těkavost většiny isoflavonů. Proto je derivatizace nezbytným krokem

analýzy. Vznik derivátů je potřebný v plynové chromatografii ke zvýšení těkavosti analytů, což má za následek zvýšení citlivosti a selektivity při detekci. Nejpoužívanějším derivatizačním způsobem je tvorba trimethylsilyl (TMS) ether derivátu s N,O-bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamidem obsahujícím 1% trimethylchlorsilanu. Problémy s derivací jsou popisovány u polyhydroxylových derivátů isoflavonů jako je např. genistein. TMS deriváty jsou analyzovány pomocí nepolárních kapilárních kolon s použitím lineárního teplotního gradientu. [37]

#### 4.4.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie je nejvíce používanou separační technikou, a to v kombinaci s širokou řadou detekčních technik. Nejčastěji se používá uspořádání s reverzní fází na alkylovaných silikagelech C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub> popř. i na modifikovaných sorbentech diolovou nebo fenylovou skupinou. [36,38]

Sledované analyty lze s omezenou pravděpodobností identifikovat na základě jejich retenčních časů nebo metodou standardního přídavku. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie pracuje s vysokými průtoky mobilních fází, vysokým tlakem a nízkou teplotou v kontrastu s hmotnostní spektroskopií, která používá nízký průtok, vysoké vakuum a plynnou fázi při vysokých teplotách. [39]

#### 4.4.3 Kapilární elektroforéza

Ve srovnání s chromatografickými metodami jako je plynová a kapalinová chromatografie je kapilární elektroforéza relativně novou separační technikou. Kapilární elektroforéza pracuje v kontinuálním systému elektrolytů a patří k základním elektromigračním technikám. V zónové elektroforéze je vzorek umístěn do prostředí základního elektrolytu, jehož složení zaručuje v celé separační kapiláře konstantní podmínky, tj. homogenní elektrické a chemické pole. Micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC) je modifikovanou elektroforetickou technikou založenou na přidání surfaktanů do základního elektrolytu. Surfaktany tvoří nabitě micely a migrují v kapiláře vlivem elektrického pole podobně jako všechny nabitě částice. Analyty se rozdělují mezi micely a pufr, což dodává separaci další selektivitu. Proto je micela považována za „pseudostacionární fázi“, podobnou stacionární fázi v kapalinové chromatografii. Kapilární elektroforéza je používána především pro stanovení isoflavonů ve spojení s detektorem diodového pole, elektrochemickým, a v neposlední řadě i hmotnostními detektory. Mezi

výhody elektromigračních technik patří především velmi dobrá citlivost. K nevýhodám patří omezený objem nástříku vzorku. [40]

#### 4.4.4 Enzymová imunoanalýza

Jelikož isoflavonoidy jsou nízkomolekulární látky, je nutné je před samotnou imunizací na mikrotitrační destičku navázat na vysokomolekulární nosič. Tímto nosičem je hovězí sérový albumin (BSA). V případě daidzeinu a genisteinu byly vytvořeny konjugáty pomocí vazby v polohách 7 a 4, pro biochanin pouze přes polohu 7. Stejný postup byl použit pro syntézu konjugátu 7-karboxymethylgenisteinu s ovalbuminem (OVA). Molární poměr haptenu : nosič byl zjištěn UV spektrometrií při 258 nm a pohyboval se pro jednotlivé konjugáty v rozmezí od 7 do 25 molekul na 1 molekulu bílkoviny.

Imunochemické metody jsou vhodným doplněním obecně používaných instrumentálních technik. Svojí jednoduchostí, nenákladností a možností adaptace pro sériová vyšetření představují obrovský potenciál zejména ve screeningovém stanovení. Také vysoká citlivost a značný rozsah koncentrací, v němž mohou tyto metody pracovat, dává možnost jejich využití ke stanovení isoflavonoidů v nejrůznějších matricích. [2]

## 5 DOPLŇKY STRAVY NA BÁZI FYTOESTROGENŮ

U žen v období menopauzy jsou nejčastěji se objevujícím symptomem návaly. Protože názory na náhradní hormonální léčbu (HRT) nejsou jednotné, její použití se v současné době stále snižuje. Při hledání přirozených alternativ HRT se do popředí zájmu dostaly fytoestrogeny, zejména pak isoflavony. Sójové boby a výrobky obsahující sóju jsou nejznámější a nejvíce konzumované potraviny obsahující fytoestrogeny. Příjem fytoestrogenů ze stravy je daleko pod množstvím potřebným k dosažení biologické odezvy. Spektrum potravin obsahujících tolik estrogenně aktivních isoflavonoidů, aby pokryly alespoň množství 50 mg, je omezeno prakticky na sóju a sójové produkty (tzv. „mléko“ a „sýry“, známé u nás pod japonskými názvy – tofu, tempeh, miso). Další luštěniny využívané v lidské výživě (hrách, fazole, cizrna, boby mungo) jich obsahují méně a mohou hrát jen doplňkovou roli. Mimo bobovité rostliny je výskyt isoflavonů buď zanedbatelný, nebo jde o nejedlé druhy (např. kosatec, *Iris spp.*). Vedle dietní intervence se od devadesátých let minulého století prosazují extrakty z rostlin. To umožňuje využít i plodiny, jež do lidského jídelníčku běžně nepatří. U nás je vedle sóji významným zdrojem isoflavonů zejména jetel luční (*Trifolium pratense*).

Dostatečný přívod lze zajistit pomocí doplňků stravy. V současnosti je na trhu řada fytoestrogenových přípravků, jednodruhových i kombinovaných. Mají vesměs status potravinových doplňků, jsou volně dostupné, a nejsou hrazeny zdravotními pojišťovnami. Dávka doporučená výrobcem se pohybuje v rozmezí 40-100 mg isoflavonů na den.

Byl proveden průzkum trhu doplňků stravy na bázi fytoestrogenových přípravků. Jejich seznam uvádí tabulka 7. Pacientky si tyto preparáty často pořizují pod vlivem reklamy nebo na základě doporučení spíše než po poradě s lékařem. Slabinou fytoestrogenových preparátů je nedostatečná standardizace. Ne všechny přípravky obsahují deklarované množství účinných látek, byly zaznamenány i rozdíly mezi šaržemi od téhož výrobce. [13,41]



Tab. 7 Přehled doplňků stravy na bázi fytoestrogenů [13]

Výrobek	Výrobce	Obsah v jedné tabletě	Cena za balení /počet tablet	Dávkování (denně)	Cena /30 dní
<b>Sojové isoflavony</b>					
SWISS ESTROVONE	Swiss Herbal Remedies	20 mg	634 Kč /90	1-3	634 Kč
PHYTOSOYA	Arkopharma Laboratories	35 mg	389 Kč /60	2	389 Kč
MENOMAX	SVUS Pharma	40 mg	381 Kč /60	1	190 Kč
ISOFLAVONE	Sanamed	40 mg	390 Kč /30	1	390 Kč
<b>Isoflavony jetele</b>					
FEMIFLAVON	Favea	30 mg	381 Kč /60	1-2	381 Kč
FEMIFLAVONFORTE	Favea	40 mg	502 Kč /60	1	502 Kč
MABELLE	Wallmark	40 mg	453 Kč /60	1-2	453 Kč
MENOFILAVON	Melbrosin International	40 mg	609 Kč /60	1-2	609 Kč
MENOFILAVON osteo	Melbrosin International	50 mg	440 Kč /30	1-2	880 Kč
MENOFILAVON forte	Melbrosin International	80 mg	579 Kč /30	1	579 Kč
MINAPENTBALANCE	Valosum	120 mg	466 Kč /60	1-2	466 Kč
<b>Směs isoflavonů sóji, jetele a včelích produktů</b>					
SARAPIS SOJA	Sanamed	25 mg	462 Kč /60	2	462 Kč
<b>Cimicifuga racemosa extrakt</b>					
GS MERILIN	Green Swan	20 mg	438 Kč /60	1	438 Kč
MENOFEM	Bionorica	20 mg	415 Kč /60	2	415 Kč
<b>Směs isoflavonů a extraktu Cimicifuga racemosa</b>					
MINAPENT	Valosum	60 mg jetel, 20 mg Cimicifuga	372 Kč /60	1-2	372 Kč
ESTROMENOX	Purus Meda	70 mg sója, 20 mg Cimicifuga	218 Kč /30	1	218 Kč
MENOKOMPLEX	Dacom Pharma	16 mg sója, 40 mg jetel, 65 mg Cimicifuga	200 Kč /30	1-2	400 Kč

Jak je z uvedené tabulky zřejmé, nejvyšší obsah účinných látek, 120 mg v jedné tabletě, je obsažen v přípravku MINAPENT od společnosti Valosun. Tento výrobek však obsahuje jen isoflavony jetele, což by se mohlo na první pohled zdát nedostačující. Sója je jako součást stravy dostupnější, ale preparáty z ní nejsou tak účinné jako preparáty z jetele, protože obsahují méně isoflavonových složek. Průměrný obsah účinných látek v jedné tabletě je 42 mg, což odpovídá spodní hranici doporučené specialisty (40-100 mg/den), nicméně musíme brát v úvahu fakt, že v návodu k užívání je ve většině případů určeno užívat 1-2 tablety denně, což už tedy pokryje denní potřebu. Průměrná cena za balení na 30 dní se pohybuje kolem 458Kč.

## ZÁVĚR

Fytoestrogeny se týkají každého z nás. Něčí život ovlivňují více, něčí méně, mnozí z nás si jejich vliv uvědomují, druzí zase ne. Nelze ale jejich přítomnost podceňovat či dokonce ignorovat.

Je známo několik desítek látek s estrogenními účinky, které jsou členěny do čtyř základních skupin a těmi jsou isoflavony, prenylflavonoidy, pterokarpany a lignany. Nejvýznamnější skupinou jsou isoflavony, které obsahují nejdostupnější fytoestrogeny daidzein, genistein, formononetin, glycitein a biochanin A. Je známo přes 200 isoflavonoidů a jejich výskyt se omezuje téměř jen na rostliny čeledi *Fabaceae*. Širokou škálu fytoestrogenů nabízí také skupina lignanů, z nichž nejvýznamnější jsou kyselina nordihydroguajaretová, sesamin, sesamion a sesamol. Podle stupně oxidace se rozeznává několik skupin lignanů, z nichž čtyři typy lineárních lignanů jsou v potravinářských materiálech nejvýznamnější, a to diarylbutanoidy, lignanolidy, monoepoxylygnany a bisepoxylygnany.

Ať se jedná o pozitivní nebo negativní vliv, účinek na lidský organismus fytoestrogeny prokazatelně mají. Dokázaly ho mnohé zahraniční studie vedené odborníky z celého světa. Největší význam mají fytoestrogeny na zdraví žen v období menopauzy. Kdy chybí působení estrogenů, které mají vyšší afinitu k estrogením receptorům. Je dokázané, že isoflavony snižují koncentraci homocysteinu, LDL cholesterolu, celkového cholesterolu a triglyceridů u žen v postmenopauzálním věku. Mnoho rostlinných lignanů a isoflavonoidů má antikarcinogenní účinky. Prekurzory těchto sloučenin jsou obsaženy převážně v semenech, ořechách, cereálních výrobcích a sójových bobech. Uvedené skupiny fytoestrogenů mají vliv na prevenci rakoviny prsu, prostaty a tlustého střeva. Isoflavony stimulují příjem vápníku, syntézu vitamínu D a zvyšují diferenciaci a proliferaci osteoblastů, avšak studie tuto verzi potvrzují jen v omezené míře. Pouze jedna studie definovala přesnou dávku konkrétního preparátu. Byl jím genistein v dávce 54 mg/den. Na druhou stranu bychom měli věnovat dostatečnou pozornost příjmu fytoestrogenů kojenci, protože tato oblast nebyla ještě dostatečně prozkoumána. Sója by neměla být podávána dětem do 6. měsíce věku. Dalším negativním účinkem fytoestrogenů je redukce počtu spermií u mužů. Muži, kteří denně užívají tofu nebo sójové mléko vykazují pouze poloviční množství spermií v jednom mililitru ejakulátu, než muži nekonzumující sójovou stravu.

Fytoestrogeny se dostávají do lidského organismu stravou a to jak rostlinou tak i živočišnou. Nejvýznamnějším rostlinným zdrojem fytoestrogenů je sója luštinatá, vojtěška setá a jetel červený. Fytoestrogeny jsou hojně obsaženy i v různém druhu ovoce a zeleniny, semenech a ořechách. Jelikož dobytek na pastvě spásá množství rostlin s obsahem fytoestrogenů, nebo je zkrmován rostlinnými moučkami, obsahují i živočišné produkty, jako jsou mléko, sýry, vejce ale i maso, značné množství fytoestrogenů a to převážně i isoflavony, lignany, kumestrol, equol a entorolignany.

Ke stanovení obsahu jednotlivých fytoestrogenů v potravinách se používají různé analytické metody. Extrakce metodou SFE je výhodná jak ze strany rychlosti reakce, množnost zapojení on-line spojení s plynovou, kapalinovou nebo superkritickou fluidní chromatografií. Při užití této metody dochází k výraznému omezení degradace aktivních sloučenin ve srovnání s ostatními metodami extrakce. Surový extrakt má různorodé složení, proto je nutné jeho pročištění od interferujících složek a je nutné vzorek zkoncentrovat. Nejjednodušší technikou frakcionace je extrakce kapalina – kapalina. Pokud použijeme metodu extrakce tuhou fází a vhodně upravíme pH dosáhneme maximální selektivity separace sledovaného analytu. Nejvíce používanou metodou stanovení je vysokoúčinná kapalinová chromatografie spolu v kombinaci s různými detekčními technikami.

Ženy v menopauze trápí problémy spojené s úbytkem přirozených hormonů v těle, což se dá optimalizovat užitím náhradní hormonální léčby. Avšak ne každé ženě tato metoda svědčí. Stále více žen se proto obrací na přírodní zdroje, fytoestrogeny. Na trhu je široká řada preparátů, ať jednosložkových nebo více složkových.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin* 2. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-808-6659-176.
- [2] VÍTKOVÁ, M. et al. Enzymová imunoanalýza pro stanovení isoflavonoidů. *Chemické listy*. 2004, 98, s. 1135-1139.
- [3] BEŇA, F. et al., *Onkologická rizika*. 1.vyd. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2001, 99 s. ISBN 80-238-7620-1.
- [4] <http://www.chemnet.com/cas/>. [cit-2012-02-27]
- [5] HOFTA, P., DOSTÁLEK, P., BASAŘOVÁ, G. Xanthohumol-chmelová pryskyřice nebo polyfenol?. *Chemické listy*. 2004, 98, s. 825 - 830.
- [6] STRATIL, P. *Aditivní látky*. [on line].[cit-1-4-2012].  
Dostupné na: [http://share.centrax.cz/CPO-9-15\\_Aditivni\\_latky\\_str\\_409-460.pdf](http://share.centrax.cz/CPO-9-15_Aditivni_latky_str_409-460.pdf).
- [7] HARMATHA, J. Strukturní bohatství a biologický význam lignanů a ji příbuzných rostlinných fenylypropanoidů. *Chemické Listy*. 2005, 99, s. 622 – 632.
- [8] DONÁT, J. *Klimakterium*. Praha. 1. Vydání. Praha, 2000, 32 s. ISBN 80-7236-174-0.
- [9] VRZÁŇOVÁ, M., HERESOVÁ, J. Fytoestrogeny. *Interní medicína pro praktické lékaře*. 2004, 1, s. 19 - 21.
- [10] MORAVCOVÁ, J., KLEINOVÁ, T. Fytoestrogeny ve výživě – přinášejí užitek nebo riziko?. *Chemické Listy*. 2002, 96, s. 282 – 289.
- [11] ŠERÝ, F. *Endokrinní disruptory*. Brno, 2011. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce Drahošlava Hrubá.
- [12] CORNWELL, T, COHICK, W., RASKIN, I. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*. [online]. 2004, č. 65, [cit-2012-02-27].  
Dostupné z:<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942204001049>.
- [13] LAPČÍK, O., SOSVOROVÁ, L. Fytoestrogeny a jejich využití v menopauze. *Interní medicína pro praxi*. 2011, 13, s. 38-42.
- [14] NEHASILOVÁ, D. *Dvojitý pohled na zařazení sóji do výživy kojenců* [online]. 2007, [cit-2012-02-27].



- [28] FRANKE, A. et al. Quantitation of Phytoestrogens in Legumens by HPLC. *Food Chemistry*. 1994, 42, 9, s. 1905-1913.
- [29] ROSTAGO, M., ARAÚJO, J., SANDI, D. Supercritical Fluid extraction of isoflavones from soybean flour. *Food Chemistry*. 2002, 1, 78, s. 111 – 117.
- [30] KLEJDUS, B. *Separace a identifikace isoflavonů v rostlinném materiálu*. Olomouc, 2004. Habilitační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.
- [31] KAUFMANN, B., CHRISTEN, P. Recent extraction techniques for natural products: microwave assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical analysis*. [online]. 2002, č. 13 [cit. 2012-02-01] Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967398008231>
- [32] HOOIJERINK, H., BENNEKOM, E. , NIELEN, M. Screening for gestagens in kidney fat using accelerated solvent extraction and liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2003, 483, s. 51 – 59.
- [33] RIJKE, E. et al. Determination of isoflavone glycoside malonates in *Trifolium pratense* (red clover) extracts: quantification and stability studies. *Journal of Chromatography A*. 2001, 1, 932, s. 55-64.
- [34] MINÁŘOVÁ, J. *Fytoestrogeny - Metabolismus a potenciální vliv na zdraví člověka*. Brno, 2007. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Jiří Slanina
- [35] CHENG, Y. , NEUE, U. , BEAN, L. Straightforward solid-phase extraction method for the determination of verapamil and its metabolite in plasma in a 96 well extraction plate. *Chromatography A*. 1998, 828, s. 273-281.
- [36] KLEJDUS, B. , VÍTÁMVÁSOVÁ - ŠTĚRBOVÁ, D. , KUBÁŇ, V. Identification of isoflavone conjugates in red clover (*Trifolium pratense*) by liquid chromatography – mass spectrometry after two – dimensional solid – phase extraction. *Analytica Chimica Acta*. 2001, 1, 450, s. 81 – 97.
- [37] GRACE, P. Quantification of isoflavones and lignans in urine using gas chromatography mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*. 2003, 1, 315, s. 114 – 121.
- [38] LONG – ZE, L. et al. Liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometry study of the flavonoids of the roots of *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus*. *Journal of Chromatography*. 2000, 1, 876, s. 87 – 95.

[39] STOBIECKI, M. Application of mass spektrometry for identification and structural studie soft flavonoid glycosides. *Phytochemistry*. 2000, 3, 54, s. 237 – 256.

[40] ARAMENDIA. M, Determination of isoflavones using capillary electrophoresis in combination with electrospray mass spektrometry. *Journal of Chromatography A*. 1995, 2, 707, s. 327 – 333.

[41] KVASNIČKOVÁ, A. Fytoestrogeny v doplňcích stravy [online]. 2008,

[cit-2012-03-01]. Dostupný z

<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=150&ch=13&typ=1&val=82147>

[42] KUHNLE, G. G. C. et al. Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and <sup>13</sup>C-labelled standards. *Food Chemistry*. 2009, 116, s. 542-554.



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

aj.	a jiné
BSA	hovězí sérový albumin
cca	circa (přibližně)
ER	estrogenní receptor
FE	fytoestrogen
HDL	high – density lipoprotein
HRT	hormonální substituční terapie
IX	isoxanthohumol
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	low – density lipoprotein
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
Např.	na příklad
nd	není definován
NDGA	kyselina nordihydroguajaretová
OVA	ovalbumin
pH	potential hydrogen (potenciál vodíku)
p <sub>k</sub>	kritická hodnota tlaku
SFE	superkritická fluidní extrakce
SHGB	sex hormon binding globulin (globulin vážící estrogeny a androgeny)
SPE	extrakce tuhou fází
Tj.	to je
T <sub>k</sub>	kritická hodnota teploty
TMS	trimethylsilyl
tzv.	tak zvaný
XN	xanthohumol

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1 Daidzein [3] .....	13
Obr. 2 Genistein [3] .....	13
Obr. 3 Formononetin [4] .....	13
Obr. 4 Glycitein [4] .....	13
Obr. 5 Liquiritigenin [4] .....	14
Obr. 6 Naringerin [4] .....	14
Obr. 7 Xanthohumol [4] .....	15
Obr. 8 Isoxanthohumol [4] .....	15
Obr. 9 Desmethylxanthohumol [4] .....	15
Obr. 10 Kumestrol [3] .....	16
Obr. 11 Maackiain [6] .....	16
Obr. 12 Pisatin [6] .....	17
Obr. 13 Faseolin [6] .....	17
Obr. 14 Glyceolin [6] .....	17
Obr. 15 Diarylbutanoid [6] .....	18
Obr. 16 Bisepoxylignany [6] .....	18
Obr. 17 NDGA [4] .....	19
Obr. 18 Sesamin [4] .....	20
Obr. 19 Sesamolin [4] .....	20
Obr. 20 Sesamol [4] .....	20
Obr. 21 Glycine max [18] .....	28
Obr. 22 Trifolium pratense [21] .....	30
Obr. 23 Medicago sativa [23] .....	31

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1 Obsah daidzeinu a genisteinu ve vybraných druzích semen [17].....	26
Tab. 2 Obsah daidzeinu a genisteinu ve vybraných druzích obilovin a výrobků [17] .....	27
Tab. 3 Obsah daidzeinu ve vybraných potravinách ze sóji [19].....	29
Tab. 4 Obsah genisteinu ve vybraných potravinách ze sóji [19].....	29
Tab. 5 Celkový obsah fytoestrogenů ve vybraných potravinách živočišného původu [24] .....	32
Tab. 6 Obsah jednotlivých fytoestrogenů v potravinách živočišného původu [24] .....	32
Tab. 7 Přehled doplňků stravy na bázi fytoestrogenů [13].....	41

## **SEZNAM PŘÍLOH**

**PŘÍLOHA P I: OBSAH VYBRANÝCH FYTOESTROGENŮ VE VYBRANÉM  
OVOCI A ZELENINĚ [42]**

**PŘÍLOHA P I: OBSAH VYBRANÝCH FYTOESTROGENŮ VE  
VYBRANÉM OVOCI A ZELENINĚ [42]**

Potravina	Úprava	Celkový počet FE [µg/100g]	Isoflavony [µg/100g]	Lignany [µg/100g]	Daidzein [µg/100g]	Genistein [µg/100g]	Biochanin A [µg/100g]
ananas	syrový	38	21	17	nd	nd	21
angrešt	syrový	72	<1	71	<1	<1	<1
avokádo	loupané, bez pecky	43	9	34	<1	<1	<1
banán	loupaný	3	2	1	<1	<1	1
brambory	vařený	3	2	1	<1	<1	<1
brokolice	čerstvá	71	<1	71	<1	<1	<1
brokolice	vařená	96	3	90	<1	<1	3
broskev	syrová	43	<1	42	<1	<1	<1
brusinky	syrové	93	3	88	2	<1	nd
celer	loupaný	14	2	13	<1	1	<1
cibule	vařená	21	<1	20	nd	<1	<1
cibule	syrová	31	<1	31	nd	<1	<1
citron	loupaný	29	4	25	nd	3	nd
cizrna	sušená	609	607	2	16	79	441
cizrna	vařená	420	416	4	4	35	351
cuketa	syrová	35	<1	35	<1	<1	<1
cuketa	vařená	46	3	43	<1	<1	2
česnek	loupaný	99	2	97	nd	nd	2
čočka	sušená	54	51	3	26	29	nd
čočka	vařená	14	13	<1	6	5	nd
dýně	syrová	154	<1	154	<1	<1	nd
fazolky zelené	zmrazené	58	19	38	3	16	<1
fazolky zelené	vařené	46	16	30	3	13	<1
fenykl	syrový	72	<1	72	<1	<1	<1
granátové jablko	čerstvé	304	<1	304	<1	<1	<1
gřep	čerstvý	39	17	21	3	2	11
hrášek	vařený	1	1	<1	<1	<1	<1
hrášek	čerstvý	3	2	1	<1	<1	nd
hruška	čerstvá	19	2	17	nd	<1	nd
hruška	konzervovaná	1	<1	<1	<1	<1	nd
jablko	čerstvé	5	2	3	<1	<1	<1
kapusta kadeřavá	vařená	8	2	6	nd	2	<1
kečup		14	7	8	<1	2	4
kiwi	čerstvá bez slupky	111	<1	111	<1	<1	nd

Potravina	Úprava	Celkový počet FE [µg/100g]	Isoflavony [µg/100g]	Lignany [µg/100g]	Daidzein [µg/100g]	Genistein [µg/100g]	Biochanin A [µg/100g]
kokos	čerstvý	42	10	32	nd	nd	6
kokos	sušený	26	3	23	<1	2	nd
kukuřice	vařený klas	9	2	7	<1	<1	2
květák	syrový	15	<1	14	<1	<1	<1
lilek	syrový	9	<1	8	<1	<1	<1
lilek	vařený	8	<1	8	<1	<1	<1
maliny	čerstvé	226	2	14	<1	<1	1
mandarinka	konzervované	5	2	2	1	nd	<1
meloun vodní	se slupkou, bez semínek	35	<1	34	<1	<1	1
mrkev	čerstvá	125	4	121	2	1	1
mrkev	vařená	114	3	111	1	2	nd
okurka	čerstvý	12	<1	12	<1	<1	<1
ostružiny	čerstvé	109	2	107	<1	nd	2
pastiňák	syrový	65	5	60	<1	<1	5
pastiňák	vařený	66	<1	65	<1	<1	<1
pepř červený	sušený	16	5	11	nd	<1	4
pepř zelený	sušený	11	<1	11	<1	<1	nd
petržel	listy	197	59	137	nd	57	<1
pórek	čerstvý	66	1	65	<1	<1	1
pórek	vařený	61	9	52	<1	<1	8
rajče	čerstvé	6	1	4	<1	<1	<1
rebarbora	čerstvá	1	1	<1	<1	<1	<1
rybíz černý	čerstvý	109	2	107	<1	nd	2
rybíz červený	čerstvý	47	<1	46	<1	<1	nd
řepa červená	syrová, loupaná	8	1	7	nd	<1	1
řepa červená	vařená	10	<1	10	<1	<1	nd
řepa červená	nakládaná	5	1	4	nd	<1	<1
sojová mouka		124727	124381	345	54128	62125	<1
sója	vařená	17556	17544	11	5730	10664	1
sója	mrazena, vařená	10678	10621	64	3864	5540	<1
špenát	čerstvý	7	2	5	<1	nd	2
špenát	vařený	4	<1	3	<1	<1	<1
švestka	čerstvá	8	2	6	<1	<1	<1
tofu	ohřáté v mikrovlnné tr.	10619	10609	10	2528	7292	3
třešně	bez pecek	27	20	6	5	2	1
zelí bílé	čerstvé	12	<1	11	<1	<1	<1
zelí bílé	vařené	8	<1	8	<1	<1	<1
zelí červené	čerstvé	7	<1	6	<1	<1	<1
zelí červené	vařené	4	<1	4	<1	<1	<1