

## GLUKOZINOLATI: BIODOSTUPNOST I UTJECAJ NA ZDRAVLJE LJUDI

Mirela Kopjar\*, Drago Šubarić, Vlasta Piližota

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek; F. Kuhača 20; 31000 Osijek; Hrvatska

*pregledni rad*

### Sažetak

Glukozinolati su jedinstvena i važna skupina sekundarnih metabolita u nekim vrstama biljaka. Ubrajaju se u specifičnu skupinu kemijskih spojeva tzv. 'fitokemikalija' koja je zastupljena u 16 botaničkih porodica reda *Capparales*. Za prehranu ljudi najznačajnija je porodica *Brassicaceae* u koju se ubrajaju kupus, brokula, cvjetača, prokulice, roktvica, repa, gorušica. U ovom radu obuhvatiti će se svi parametri koji vladaju u različitim stadijima od uzgoja do prerade povrća iz porodice *Brassicaceae*, na biodostupnost glukozinolata i njihovih razgradnih produkata, i na zdravlje ljudi. Glukozinolati su kemijski stabilni sve dok ne dođu u kontakt s enzimom mirozinazom ( $\beta$ -tioglukozid glukohidrolaza; EC 3.2.1.147). Hidroliziraju se u niz biološki aktivnih tvari (izotiocijanati, indol-3-karbinol). Osim što se konzumira svježe, povrće se vrlo često procesira, te ovisno o uvjetima prerade, prisutni glukozinolati se mogu razgraditi što može imati za posljedicu promjenu njihove biološke aktivnosti. Mnogobrojna epidemiološka istraživanja dokazala su i potvrdila pozitivan učinak konzumiranja povrća iz porodice *Brassicaceae*, a time i unosa glukozinolata u ljudski organizam. U radu će biti obrađen mehanizam njihovog pozitivnog djelovanja (antifungalno, antibakterijsko, antioksidativno, antimutageno, antikancerogeno djelovanje). Osim što imaju pozitivan učinak u ljudskom organizmu, glukozinolati i njihovi razgradni produkti mogu imati i antinutritivni učinak, što je također potrebno uzeti u obzir, međutim, potrebno je provesti još istraživanja u tom smjeru.

**Ključne riječi:** glukozinolati, razgradni produkti, biodostupnost, zdravlje ljudi.

### Uvod

Posljednjih godina sve više se povećava svijest nutricionista, prehrambenih tehnologa (općenito prehrambene industrije) i što je najvažnije potrošača, o vezi između prehrane i zdravlja. Sve više je istraživanja koja dokazuju pozitivan utjecaj tvari prisutnih u voću i povrću tzv. 'fitokemikalija' na zdravlje ljudi. Neke od tvari koje su intenzivno istraživane su polifenoli, karotenoidi, folati i glukozinolati. Smatra se da imaju važnu ulogu u prevenciji različitih bolesti, prvenstveno bolesti vezanih uz starenje, karcinom, oboljenja kardiovaskularnog sustava (Dekker i sur., 2000). Povoljan utjecaj na zdravlje konzumiranih proizvoda određen je sadržajem aktivnih tvari u finalnom proizvodu i njegovoj biodostupnosti iz finalnog proizvoda nakon probave.

Glukozinolati su sekundarni metaboliti biljaka koji su zastupljeni u 16 botaničkih poro-

dica reda *Capparales*, od kojih je za prehranu ljudi najznačajnija porodica *Brassicaceae* (Verkerk i Dekker, 2008).

Glukozinolati i njihovi razgradni produkti vrlo su interesantni zbog svojih nutritivnih i antinutritivnih svojstava, antikancerogenih svojstava, te zbog osiguravanja karakteristične arome određenog povrća (Mithen i sur., 2000; Verkerk i Dekker, 2008). Oni su također toksični za neke insekte tako da se mogu koristiti kao prirodni pesticidi, ali ih i neki insekti, poput lisne uši na kupusu, koriste za lociranje biljaka za njihovu prehranu i polaganje jajašca (Barker i sur., 2006). Glukozinolati također posjeduju antifungalna i antibakterijska svojstva (Fahey i sur., 2001).

Okarakterizirano je oko 120 različitih glukozinolata, ali je samo mali broj istraživanih. Istraživanja o distribuciji glukozinolata, u različitom povrću iz porodice *Brassicaceae*, pokazuju da sadržaj glukozinolata varira u širokom rasponu, a ovisi o sorti odnosno ge-

\*corresponding author: [mirela.kopjar@ptfos.hr](mailto:mirela.kopjar@ptfos.hr)

netičkim čimbenicima, te čimbenicima okoliša (Kushad i sur., 1999).

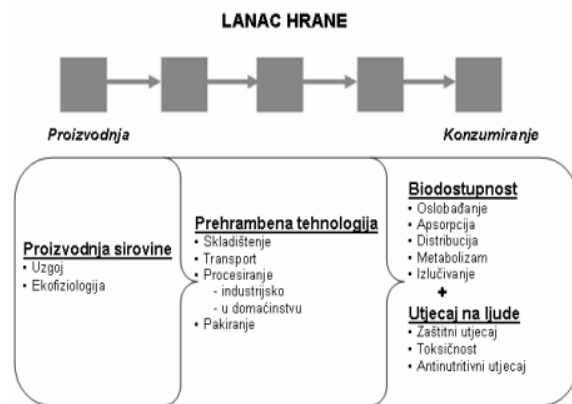
Glukozinolati su kemijski stabilni i biološki neaktivni sve dok su odvojeni u stanicama biljaka od ostalih sastojaka. Oštećenjem tkiva koje mogu uzrokovati štetočine, ili se oštećenja mogu desiti tijekom branja, procesiranja, žvakanja povrća, dolazi do kontakta između enzima mirozinaze i glukozinolata što vodi ka hidrolizi glukozinolata. Hidrolizom glukozinolata nastaje niz različitih biološki aktivnih produkata kao što su izotiocijanati, cijanidi, oksazolidintioni, nitrili. Mogući mehanizam antikarcinogenog djelovanja glukozinolata i razgradnih produkata uključuje indukciju detoksifikacijskih enzima i inhibiciju aktivnosti promotagenih/prokancerogenih tvari (Wattenberg, 1992; Dragsted i sur., 1993; Mithen i sur., 2000; Verkerk i Dekker, 2008).

U ovom radu opisana je važnost glukozinolata i njihovih razgradnih produkata u prehrani ljudi odnosno njihov nutritivni i antinutritivni učinak, njihov pozitivan utjecaj na zdravlje ljudi, njihova biodostupnost, te utjecaj tretiranja i procesiranja povrća na stabilnost i biodostupnost glukozinolata.

### Struktura i izvori glukozinolata

Svi bitni koraci i čimbenici u lancu hrane odnosno povrća iz porodice *Brassicaceae* koji utječu na unos i biodostupnost glukozinolata i njihovih razgradnih produkata te njihov utjecaj na zdravlje ljudi prikazan je na Slici 1 (Verkerk i sur., 2009). Nekoliko je čimbenika koji uzrokuju varijacije kao što su čimbenici okoliša, uključujući sastav tla, klimatski uvjeti, gnojenje, a najznačajniji čimbenik jesu genetske varijacije (Kushad i sur., 1999, Kim i sur., 2003). Uzgajivači indirektno i direktno utječu na sadržaj glukozinolata kroz selekciju sorata da se postigne određena aroma, otpornost na različite nametnike, povećani sadržaj određenih glukozinolata. Ekofiziološki čimbenici kao što su klima (iradijacija i temperatura), te opskrba vodom, gnojivo i primjena različitih kemijskih sredstava imaju važnu ulogu u diktiranju sadržaja glukozinolata u povrću (Schreiner,

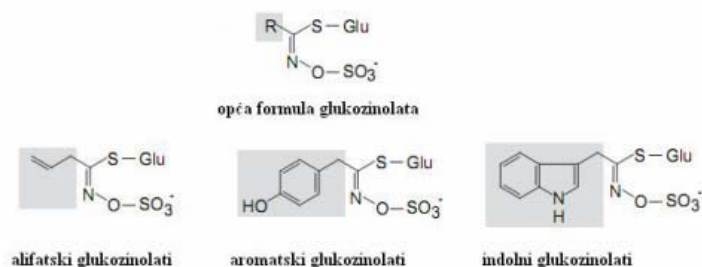
2005). Svi oblici skladištenja svježeg povrća, transportiranje, svi oblici procesiranja, industrijsko i u domaćinstvu, zatim pakiranje znatno utječu na sadržaj glukozinolata ali i njihovih razgradnih produkata. Svi ti koraci u lancu hrane na kraju utječu na biodostupnost glukozinolata i njihovih razgradnih produkata u ljudskom organizmu, te na njihov utjecaj, pozitivan ili negativan, na zdravlje ljudi (Verkerk i sur., 2009). Varijacije u sastavu glukozinolata u povrću iz porodice *Brassicaceae* dani su u Tablici 1. Većina biljaka koje sadrže glukozinolate spadaju u porodicu *Brassicaceae*, te je uobičajena i učestala konzumacija tog povrća.



**Slika 1.** Koraci u lancu hrane koji utječu na sadržaj glukozinolata u povrću (preuzeto i prilagođeno iz Verkerk i sur 2009).

**Figure 1.** The steps in the food chain affecting the glucosinolate content of vegetables (taken and adapted from Verkerk et al 2009).

Po kemijskoj strukturi, glukozinolati su  $\beta$ -tioglukozid-*N*-hidroksisulfati kod koji je glukoza i sulfatna skupina vezana na aglukon koji se sintetizira iz aminokiselina i njihovih analoga (Fahey i sur., 2001; Yan i Chen, 2007; Travers-Martin i sur., 2008). Struktura bočnog lanca glukozinolata, po kojem se i glukozinolati međusobno razlikuju, određena je aminokiselinom. Opća struktura i klasifikacija glukozinolata prikazana je na Slici 2. S obzirom na strukturu bočnog lanca glukozinolati se mogu podijeliti na alifatske, aromatske i indolne glukozinolate. Sve vrste glukozinolata naravno nisu prisutne u svakom povrću iz porodice *Brassicaceae*, tako da je u Tablici 2 dan prikaz nekih glukozinolata u povrću koje se najčešće konzumira.



**Slika 2.** Opća struktura glukoziolata, te podjela glukoziolata ovisno o bočnom lancu (preuzeto i prilagođeno iz Travers-Martin i sur 2008).

**Figure 2.** The general structure of glucosinolates and glucosinolate distribution depending on the side chain (taken and adapted from Travers-Martin et al 2008).

### Hidroliza glukoziolata

Enzim mirozinaza katalizira hidrolizu glukoziolata. On se nalazi u stanicama biljaka u tvorevinama odvojenim od glukoziolata. Kada se stanice biljaka oštete npr. rezanjem ili žvakanjem, mirozinaza dolazi u kontakt s glukoziolatima te dolazi do hidrolize. Svaki tip procesiranja vodi ka hidrolizi glukoziolata u određenom stupnju ili zbog djelovanja mirozinaze ili drugih kemijskih reakcija. Kad se povrće kuha, mirozinaza se inaktivira ali dolazi do termičke degradacije što vodi ka gubitku glukoziolata od 30-60 % (De Vos i Blijleven, 1988; Verhoeven i sur., 1997). Produkti hidrolize glukoziolata značajno doprinose tipičnoj aromi povrća iz porodice *Brassicaceae*. Mirozinaza odcjepljuje glukozu, a zatim se s nestabilnog aglukona (thiohidroksimat-*O*-sulfonat) eliminira sulfat Lossen pregradnjom (Slika 3). Struktura nastalih produkata ovisi o različitim čimbeni-

cima. Na Slici 4 prikazani su razgradni produkti uobičajenih glukoziolata. Da li će nastati izotiocijanati ili nitrili ovisi o specifičnosti (vrsti) glukoziolata, dijelu biljke gdje se glukoziolati nalaze, tretiranju biljke prije hidrolize te uvjetima tijekom hidrolize (posebice o pH vrijednosti). Izotiocijanti obično nastaju pri pH 5-7, dok nitrili uglavnom nastaju kada se hidroliza provodi u kiselim uvjetima. Većina produkata hidrolize su stabilni osim glukoziolata koji sadrže  $\beta$ -hidroksilirani bočni lanac;  $\beta$ -hidroksiizotiocijanat je nestabilan te se spontano ciklizira u oksazolidin-2-tion (goitrin). Indol glukoziolati, kao što je glukobrasicin, tvore nestabilne izotiocijanate i podliježu daljnjoj hidrolizi te nastaju 3-indo-lmetanol, 3-indo-lacetonitril i 3,3'-diindo-lilmetan te kondenziraju u dimere, trimere i tetramere (Holst i Williamson, 2004).

**Tablica 1.** Sadržaj glukoziolata (mg/100g) različitog povrća iz porodice *Brassicaceae* (preuzeto i prilagođeno iz McNaughton i Marks 2003).

**Table 1.** Glucosinolate contents (mg/100g) of different vegetables from the family *Brassicaceae* (taken and adapted from McNaughton and Marks 2003).

Povrće iz porodice <i>Brassicaceae</i>	Sadržaj glukoziolata (mg/100 g)
Brokula ( <i>Brassica oleracea</i> var.italica)	19,3-127,5
Kelj pupčar ( <i>Brassica oleracea</i> var.gemmifera)	80,1-445,5
Kupus ( <i>Brassica oleracea</i> var.kapitata)	42,7-108,9
Kupus , crveni	26,5-76,5
Kupus, kineski (( <i>Brassica chinensis</i> )	17,3-54,8
Kelj ( <i>Brassica oleracea</i> var.sabauda)	59,5-209,0
Cvjetača ( <i>Brassica oleracea</i> var.botrytis)	11,7-78,6
Hren ( <i>Armoracia lapathifolia</i> Gilib)	106,1
Gorušica ( <i>Brassica juncea</i> )	118,1-544,5
Repa ( <i>Brassica rapa</i> )	20,4-140,5

**Tablica 2.** Prikaz najznačajnijih glukoziolata i njihova rasprostranjenost u odabranom povrću porodice *Brassicaceae* (preuzeto i prilagođeno iz Hansen i sur 1995; Vig i sur 2009).

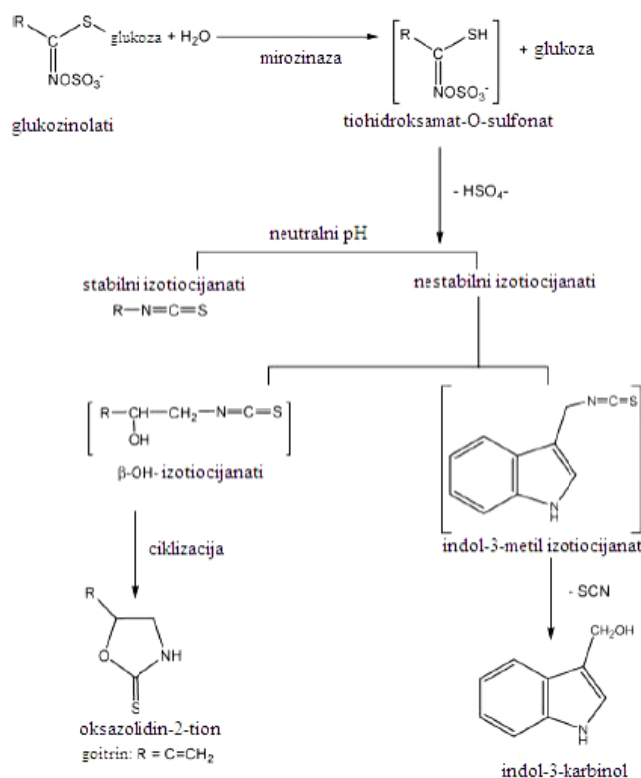
**Table 2.** Showing the most glucosinolates and their distribution in selected vegetables family Brassicaceae (taken and adapted from Hansen et al 1995, Vig et al 2009).

Semisistemska ime R-skupine	Trivijalno ime glukoziolata	Povrće iz porodice <i>Brassicaceae</i> (+ prisutni; - nisu prisutni)				
		Kupus	Kelj pupčar	Cvjetača	Brokula	Kineski kupus
Alil	Sinigrin	+	+	+	+	-
But-3-enil	Glukonapin	+	+	+	+	+
Pent-4-enil	Glukobrasikanapin	-	-	+	+	+
(2R)-2-hidroksibut-3-enil	Progoitrin	+	+	+	+	+
3-metiltiopropil	Glukoibervirin	+	-	+	-	-
4-metiltiobutil	Glukoerucin	+	+	+	+	-
3-metilsulfinilpropil	Glukoiberin	+	+	+	+	-
4-metilsulfinilbutil	Glukorafanin	+	+	+	+	+
5-metilsulfinilpentil	Glukoalizin	-	-	-	-	+
4-metilsulfinilbutil	Glukoerisolin	+	-	-	-	-
Benzil	Glukotropaeolin	+	-	-	-	-
Fenil	Glukonasturtin	+	+	-	+	+
Indol-3-ilmetil	Glukobrasicin	+	+	+	+	+
N-metoksiindol-3-ilmetil	Neoglukobrasicin	+	+	+	+	+
4-hidroksiindol-3-ilmetil	4-hidroksiglukobrasicin	+	+	+	+	+
4-metoksiindol-3-ilmetil	4-metoksiglukobrasicin	+	+	+	+	+

### Biodostupnost glukoziolata

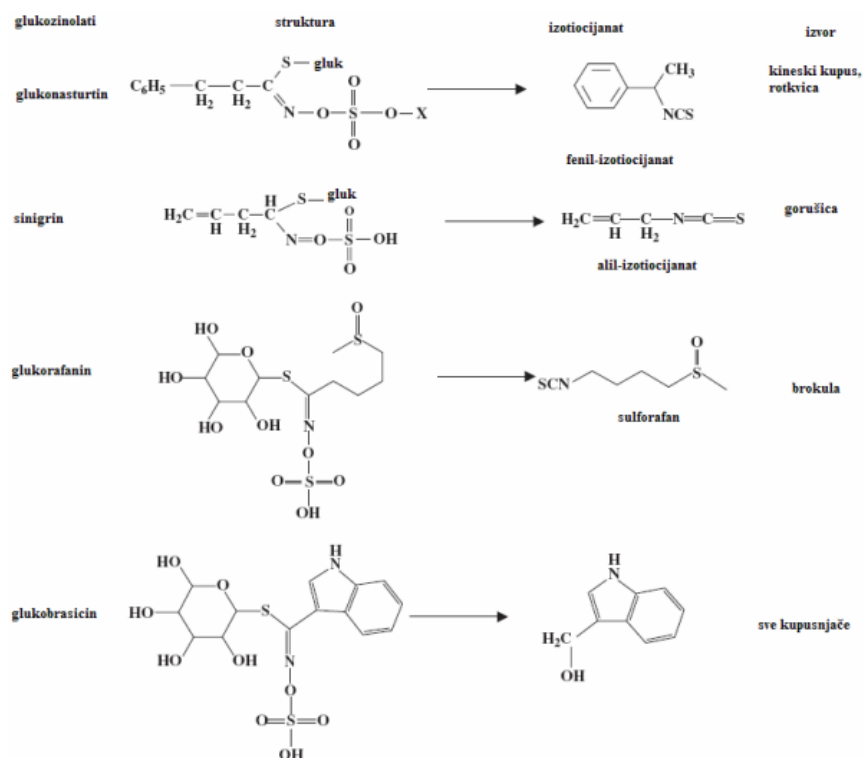
Razumijevanje i poznavanje biodostupnosti, transporta i metabolizma glukoziolata na-

kon konzumiranja povrća iz porodice *Brassicaceae* neophodno je za razumijevanje mehanizma njihovog zaštitnog, antioksidativnog i djelovanja.



**Slika 3.** Razgradni produkti glukoziolata (preuzeto i prilagođeno iz Holst i Williamson 2004; Higdon i sur 2007).

**Figure 3.** Degradation products of glucosinolates (taken and adapted from Holst and Williamson 2004; Higdon et al 2007).



**Slika 4.** Uobičajeni glukozinolati i njihovi produkti hidrolize (preuzeto i prilagođeno iz Keck i Finley 2004).

**Figure 4.** Common glucosinolates and their hydrolysis products (taken and adapted from the Keck and Finley 2004).

Mnoge tvari da bi imale određenu aktivnost moraju biti apsorbirane u ljudskom tijelu i moraju doći do ciljanog tkiva u određenoj dozi i u aktivnom obliku, odnosno moraju biti biodostupne u tijelu. "Biodostupnost nutrijenta" se definira kao dio probavljenog nutrijenta koji udovoljava funkcionalnim zahtjevima u određenom tkivu. Brojni vanjski i unutarnji parametri utječu na oslobađanje iz matriksa hrane, apsorpciju, distribuciju, metabolizam i izlučivanje bioaktivnih tvari kao što su glukozinolati i njihovi razgradni produkti (Moreno i sur., 2006; Verkerk i sur., 2009).

Prvi važan korak bilo kojeg sastojka da bi bio biodostupan je oslobađanje aktivnog sastojka i otapanje u kompleksnom matriku hrane i probavnim sokovima. Kao što je već istaknuto za biološki utjecaj važniji su produkti hidrolize nego sami glukozinolati (Verkerk i sur., 2009).

Slatkoća, intenzitet arome (gorčina, ljutina, nota po zelenom) povrća iz porodice *Brassicaceae* su vrlo važna svojstva koja utječu na prihvatljivost povrća od strane potrošača. Također, vrlo važnu ulogu u diktiranju se-

nzorskih karakteristika povrća a ujedno i prihvatljivosti povrća od strane potrošača ima i sadržaj glukozinolata. Kada je mirozinaza prisutna u hrani, glukozinolati se vrlo brzo hidroliziraju u tankom crijevu čovjeka. Ako se mirozinaza deaktivira, npr. kuhanjem povrća prije same konzumacije, može se očekivati da će ionizirani glukozinolati doći do debelog crijeva gdje se mogu metabolizirati uz pomoć bakterijskih enzima (Mithen i sur., 2000). Djelovanjem mirozinaze se oslobađa glukoza i drugi razgradni produkti, uključujući i tiocijanate. Glukozinolati se razgrađuju pomoću mirozinaze iz povrća u tankom crijevu ili djelovanjem bakterijske mirozinaze u debelom crijevu. Metaboliti nastali razgradnjom se mogu detektirati u urinu 2-3 sata nakon konzumacije povrća iz porodice *Brassicaceae*. Interpretacija epidemioloških studija i iskorisćenje povrća iz porodice *Brassicaceae*, kako bi ono imalo utjecaj na zdravlje ljudi, zahtjeva razumijevanje kemije i metabolizma glukozinolata kroz cijeli lanac hrane, od uzgoja i proizvodnje do potrošača (Johnson, 2002; Klein i Juvik, 2003; Finley i sur., 2001; Moreno i sur., 2006).

Kemoprotektivni utjecaj brokula može se djelomično pripisati izotiocijanatima (produktima hidrolize glukozinolata). Istraživanja biodostupnosti glukozinolata u ljudskom organizmu iz svježih i kuhanih brokula su pokazala da je biodostupnost izotiocijanata iz svježih brokula bila tri puta veća nego iz kuhanih brokula (u kojima je mirozinaza inaktivirana), što znači da je kuhanjem smanjen mogući pozitivan utjecaj na zdravlje (Conaway i sur., 2000). Kupus sadrži glukozinolat sinigrin koji se pod djelovanjem mirozinaze razgrađuje do alil izotiocijanata. Rezultati istraživanja utjecaja kuhanja kupusa na nastajanje izotiocijanata tijekom probave su pokazali da konzumiranjem sirovog kupusa nastaje znatno veća količina izotiocijanata nego kada se kupus kuha, iako i u tom slučaju nastaju izotiocijanati vjerojatno zbog djelovanja mikroflora debelog crijeva (Rouzaud i sur., 2004).

### **Utjecaj procesiranja na sadržaj glukozinata**

Pripremom hrane u domaćinstvu, odnosno kuhanjem mijenjaju se nutritivna svojstva proizvoda (Mosha i sur., 1995; Severi i sur., 1997). Voće i povrće su bogati izvor različitih spojeva koji imaju pozitivan utjecaj na zdravlje ('fitokemikalija'). Iako se preporuča konzumacija svježeg i/ili minimalno procesiranog voća i povrća, to nije uvijek moguće zbog financijskih razloga, dostupnosti i same preferencije potrošača. Stoga je procesiranje neophodno i poželjno (Dekker i sur., 2000). Bilo koji proces koji narušava integritet stanice dovodi do degradacije glukozinolata (de Vos i Blijleven, 1988; Rosa i sur., 1997; Barrilari i sur., 2002; Jones i sur., 2006). U ovom dijelu bit će navedeni primjeri utjecaja nekih vrsta procesiranja i skladištenja na sadržaj glukozinolata. Industrijsko procesiranje može biti u većoj ili manjoj mjeri, a uključuje pranje, rezanje, blanširanje, dodatak aditiva, sušenje, fermentaciju, zamrzavanje, konzerviranje i steriliziranje. Kada je u pitanju povrće iz porodice *Brassicaceae*, svaki proces koji uzrokuje narušavanje integriteta stanice uzrokuje hidrolizu gluko-

zinolata. Ipak, uočen je i drugi mehanizam induciran oštećenjima nakon branja povrća iz porodice *Brassicaceae*. Prije same konzumacije povrće se obično reže, a taj postupak osigurava optimalne uvjete za djelovanje mirozinaze, tako da je za očekivati da će se veliki dio glukozinolata hidrolizirati (Mithen i sur., 2000). Rezanje nekih vrsta povrća iz porodice *Brassicaceae* i skladištenje na zraku uzrokovali su povećanje sadržaja glukozinolata, posebice indol glukozinolata, ali i ti rezultati su pokazali velike varijacije ovisno o načinu tretiranja povrća (Dekker i sur., 2000). Uočeno je povećanje indol glukozinolata nakon rezanja i pri dužoj izloženosti zraku kod različitog povrća (Verkerk i sur., 1997), što može imati značajnu ulogu u definiranju arome i antikancerogenog djelovanja (Koritsas i sur., 1991). Sadržaj glukozinolata u procesiranom povrću određen je razgradnjom glukozinolata djelovanjem mirozinaze i nastajanjem indol glukozinolata još uvijek nepoznatim mehanizmom (Mithen i sur., 2000).

Nakon rezanja i skladištenja brokule i kupusa pri sobnoj temperaturi došlo je do znatnog smanjenja sadržaja alifatskih glukozinolata (npr. glukorafanin), ali i do povećanja sadržaja indol glukozinolata (Verkerk i sur., 1997; Verkerk i sur., 2001). Sušenje cijelih brokula na 50-60 °C omogućava zadržavanje glukozinolata i aktivnost mirozinaze, ali nakon rehidracije dolazi do hidrolize glukozinolata (Rosa i sur., 1997). Dehidracija povrća iz porodice *Brassicaceae* može uzrokovati inaktivaciju mirozinaze, ali to ovisi o vrsti povrća i metodi koja se koristi za dehidraciju. Epiteospecifični proteini omogućavaju nastajanje nitrila a ne izotiocijanata pod određenim uvjetima. Zagrijavanjem brokule pri 60°C 5 minuta ili više inaktivira epiteospecifične proteine tako da nastaje više sulforafana (Matusheski i sur., 2004), s time da mirozinaza ostaje aktivna. Sulforafan ima puno veći utjecaj na enzime Faze I i Faze II nego sulforfan nitril, tako da je s zdravstvenog aspekta povoljnije nastajanje sulforafana (Matusheski i Jeffery 2001). Drugi procesni uvjeti, kao što je npr. pH također imaju vrlo važnu ulogu u omjeru nastalih sulforafana i

sulforafan nitrila. Neutralni ili alkalni pH rezultira nastajanjem sulforafana u većoj količini, dok kiseli medij (3,5-pH tipičan za dresinge za salate) rezultira nastajanjem sulforafan nitrila u većoj količini (Matusheski i Jeffery, 2001).

Proces koji ima najviše utjecaja na sadržaj kako glukozinolata tako i drugih 'fitokemikalija' je kuhanje. Tijekom kuhanja sadržaj glukozinolata se obično znatno smanjuje. Procesi koji se odvijaju tijekom kuhanja su: inaktivacija mirozinaze, degradacija glukozinolata i njihovih razgradnih produkata zbog djelovanja topline, enzimska degradacija glukozinolata, gubitak kofaktora enzima (askorbinska kiselina, željezo), izlaženje glukozinolata i razgradnih produkata iz povrća u vodu za kuhanje (Dekker i sur., 2000). Kada je u pitanju kuhanje kao proces pripreme vrlo je važan primijenjeni temperaturni režim tijekom kuhanja i sadržaj vode za kuhanje. Kuhanjem se smanjuje sadržaj glukozinolata za otprilike 30-60 % ovisno o primijenjenoj metodi (konvencionalno kuhanje, kuhanje pod visokom tlakom, kuhanje mikrovalovima), intenzitetu kuhanja (vrijeme, temperatura) i samoj vrsti glukozinolata (Rosa i Heaney, 1993; Howard i sur., 1997; Dekker i sur., 2000; Conaway i sur., 2000; Vallejo i sur., 2002; McNughton i Marks, 2003). Sadržaj glukozinolata u brokuli se znatno smanjuje nakon kuhanja, tako da brokula kuhana 10 minuta sadržava i do 40 % glukozinolata manje nego svježa brokula (Sones i sur., 1984). Kuhanje brokula, kupusa i kelja pupčara 40 minuta u vreloj vodi ili 10 minuta na pari uzrokuje značajno smanjenje indol glukozinolata (Slominski i Campbell, 1989). Način i vrijeme kuhanja brokula značajno utječu na sadržaj glukozinolata u vrijeme konzumiranja. Usporedbom kuhanja u vreloj vodi, mikrovalovima i kuhanja na pari različitih vrsta povrća iz porodice *Brassicaceae* utvrdilo se da kuhanje na pari uzrokuje najmanji gubitak glukozinolata (Rosa i sur., 1997; Howard i sur., 1997; Dekker i sur., 2000; Conaway i sur., 2000; Vallejo i sur., 2002; McNughton i Marks, 2003). Fermentacija i kiseljenje su vrlo važni procesi obrade kupusa. Eksperimentalni po-

daci pokazuju da do hidrolize glukozinolata dolazi već u prvoj fazi fermentacije (Ciska i Pathak, 2004) kada dolazi do intenzivne respiracije biljnog tkiva, nakon koje slijedi brzo otpuštanje CO<sub>2</sub>, te se medij zakiseli (pH 3,4-3,7). Takvi uvjeti su pogodni za potpunu ili djelomičnu hidrolizu glukozinolata. Također se ne može isključiti ni utjecaj prisustva mikrobne flore na degradaciju glukozinolata (Palop i sur., 1995). Koji će produkti nastati degradacijom glukozinolata uzrokovanom fermentacijom ovisi o nizu čimbenika kao što su pH, prisustvo Fe<sup>3+</sup> i epitiospecifičnih proteina ili askorbinske kiseline (Preobrazhenskaya i sur., 1993; Fenwick i sur., 1983).

Hidroliza glukozinolata se odvija već tijekom branja i skladištenja sirovine. Koriste se različiti postupci za skladištenje povrća. Kontrolirana atmosfera je vrlo efikasna u zadržavanju kvalitete brokula i može produžiti njihov vijek trajanja za dvostruko duže (Toivonen i Forney, 2004). Brokula se često skladišti u kontroliranoj atmosferi ili se pakira u različite folije kako bi se produžio vijek trajanja proizvoda i zadržala kvaliteta tako što se smanji gubitak klorofila i askorbinske kiseline (Vallejo i sur., 2002; Hansen i sur., 1995). Hansen i sur. (1995) ispitali su utjecaj različite atmosfere skladištenja, zraka i kombinacije 0,5 % O<sub>2</sub> i 20 % CO<sub>2</sub>, tijekom 7 dana skladištenja te utvrdili da je sadržaj glukozinolata u povrću bio 42 % i 21 % veći nego u svježim brokulama. Idealna atmosfera za zadržavanje kvalitete brokula kada se one skladište na temperaturama od 0 do 5 °C je 1-2 % O<sub>2</sub> i 5-10 % CO<sub>2</sub> (Jones i sur., 2006). Vrlo je važno da kisik ne padne ispod 1% jer bi to moglo dovesti do nastajanja nepoželjne i nekarakteristične arome (Forney i sur., 1991). Očito je da sastav atmosfere, vlažnost i temperatura znatno utječu na sadržaj glukozinolata tako da je neophodno voditi računa o uvjetima skladištenja i transporta (Dekker i sur., 2000). Brokula se nakon branja vrlo brzo degradira tako da ju je potrebno vrlo brzo rashladiti kako bi se zadržala njezina kvaliteta (Toivonen i Forney, 2004). Sadržaj glukorafanina u brokuli se smanjuje nakon 5 dana skladištenja pri 20 °C za 82 %, a samo za 31 % pri 4 °C (Rodrigues

i Rosa, 1999). Sadržaj sulforafana se je smanjio za 50 % tijekom skladištenja od 21 dana pri 4 °C, s time da je najveće smanjenje uočeno tijekom prvih 7 dana nakon berbe (Howard i sur., 1997). Također je uočeno da može doći do povećanja sadržaja određenih vrsta glukozinolata kao što su indol glukozinolati, koji tada maskiraju gubitak ostalih vrsta glukozinolata (Hansen i sur., 1995). Zamrzavanje brokula je uobičajen način procesiranja u prehrambenoj industriji, a uvijek mu prethodi blanširanje kako bi se inaktivirali enzimi koji smanjuju kvalitetu proizvoda. Sadržaj glukozinolata u brokulama se najbolje održao zamrzavanjem kojem je prethodilo blanširanje ili neki drugi oblik termičkog tretiranja kako bi se inaktivirala mirozinaza (Rodrigues i Rosa, 1999). U slučaju da je zamrzavanje provedeno bez blanširanja, vrlo je brzo nakon odmrzavanja došlo do razgradnje glukozinolata djelovanjem mirozinaze (Rosa i sur., 1997; Johnson 2000). Iako je blanširanje neophodno prije samog zamrzavanja, ono utječe i na nastajanje izotiocijanata, jer tretiranjem od 2 minute pri 93 °C uzrokuje smanjenje za 47-65 % na sadržaju sulforafana vjerojatno zbog izlaženja glukozinolata u vodu i djelomične inaktivacije mirozinaze (Howard i sur., 1997; Jones i sur., 2006).

Preporuča se visoka relativna vlažnost (98-100 %) kako bi se očuvala kvaliteta brokula nakon berbe (Toivonen i Forney, 2004). Čini se da je relativna vlažnost kritičan čimbenik u zadržavanju glukozinolata samo kad je temperatura veća od 4 °C (Rangkadilok i sur., 2002).

#### *Modeliranje utjecaja procesiranja na glukozinolati*

Za glukozinolati su napravljeni matematički modeli kako bi se opisali utjecaji termičkog tretiranja u vodenom mediju poput kuhanja, konzerviranja, blanširanja itd. Modeliranjem posljedica termičkog tretiranja na gubitak glukozinolata iz povrća treba uzeti u obzir različite mehanizme koji utječu na sadržaj glukozinolata tijekom procesiranja (Verkerk i sur., 2009): zagrijavanje vode, prijenos to-

pline s vode na povrće, termičko oštećenje stanica povrća, povećanje ekstrakcije glukozinolata, difuzija i izlaženje glukozinolata iz matriksa povrća, difuzija i izlaženje mirozinaze iz matriksa povrća, difuzija i izlaženje kofaktora enzima iz matriksa povrća, enzimatska degradacija glukozinolata nakon što glukozinolati i mirozinaza dođu u kontakt, termička denaturacija mirozinaze u povrću, termička denaturacija mirozinaze u vodi, termička degradacija glukozinolata u povrću i termička degradacija glukozinolata u vodi.

#### **Mehanizam djelovanja glukozinolata**

Mnogobrojne epidemiološke studije koje povezuju oboljenja od karcinoma s načinom prehrane, su dokazala da je smanjena pojava karcinoma kod ljudi koji konzumiraju kupusnjače (Moreno i sur., 2006). Mnoge tvari iz hrane mogu promijeniti tijek kancerogeneze u različitim stadijima, od deaktivacije primarnih kancerogenih tvari, regeneracija već oštećenih stanica, regeneracija oštećene DNK do potencijalnog sprječavanja ponovne pojave karcinoma. Mehanizam preventivnog djelovanja još uvijek nije u potpunosti poznat, ali rezultati istraživanja pokazuju da glukozinolati i njihovi razgradni produkti modificiraju aktivnost enzima Faze I i Faze II, koji predstavljaju prvu obrambenu liniju ljudskog organizma od kancerogenih tvari (Slika 5). Osim toga, inhibiraju rast stanica tumora i stimuliraju apoptozu (programiranu smrt stanica) (Smith i sur., 2003; Kusznierevicz i sur., 2008).

Vitamin C, vitamin E, polifenoli i karotenoide se ubrajaju u direktne antioksidanse jer neutraliziraju slobodne radikale. Glukozinolati i njihovi razgradni produkti se smatraju indirektnim antioksidansima s obzirom da ne blokiraju slobodne radikale direktno već modificiraju aktivnost kancerogenih tvari tako što utječu na aktivnost enzima metabolizma (enzimi Faze I i Faze II). Proces kancerogeneze koji su regulirani enzimima Faze I i Faze II, uglavnom se odvijaju u jetri i mukozi crijeva. Enzimi Faze I (enzimi citokrom P450), općenito povećavaju reaktivnost tvari topljivih u mastima, te se kao posljedica



ovog procesa formiraju neke reaktivne molekule koje mogu biti toksičnije od polazne molekule. Ovi enzimi mijenjaju prokancerogene molekule uglavnom reakcijama oksidacije i redukcije, ali i hidrolizom do hidrofiličnih molekula. U tim reakcijama nastaju vrlo reaktivni intermedijeri koji vrlo lako oštete DNK, RNK i proteine (Juge i sur., 2007). Enzimi Faze II (glutation-S-transferaza, aldehid reduktaze, S-metil transferaze, N-acetil transferaze) povećavaju topljivost u vodi i povećavaju izlučivanje tih molekula iz tijela. Ovi enzimi konvertiraju kancerogene tvari reakcijama konjugacije s ligandima (glutation, glukuronska kiselina i drugi), pripajanja sulfatnih skupina, acetiliranja i metiliranja u nereaktivne metabolite koje ljudski organizam lako izluči (Juge i sur., 2007). Iz toga slijedi da inhibicija enzima Faze I i indukcija enzima Faze II je neophodna za zaštitu stanica od DNK oštećenja nastalih djelovanjem kancerogenih tvari i reaktivnih molekula kisika. Geni za enzime Faze I sadrže specifične sekvence DNK koji se nazivaju elementi antioksidacijskog odgovora. Razgradni produkti glukozinolata povećavaju aktivnost enzima Faze II tako što povećavaju transkripciju gena koji sadrže elemente antioksidacijskog odgovora (Holst i Williamson, 2004; Vig i sur., 2009). Razgradni produkti glukozinolata, posebice izotiocijanati pridobili su pažnju zbog mogućnosti indukcije enzima Faze II koji su važni za detoksifikaciju elektrofila i zaštitu od oksidativnog stresa (Presteri i sur., 1993; Vig i sur., 2009). Izotiocijanati su snažni elektrofilni zbog reaktivnosti centralnog ugljikovog atoma  $N=C=S$ , koji brzo reagira s nukleofilima na bazi sumpora, dušika i kisika. 4-metilsulfinilbutil izotiocijanat se smatra najučinkovitijim induktorom enzima Faze II. In vitro i in vivo istraživanja su pokazala da izotiocijanati mogu utjecati na različite stadije nastajanja karcinoma različitim mehanizmima djelovanja uključujući modifikaciju enzima Faze I i Faze II (Bogaards i sur., 1994; Talalay i Fahey, 2001), djelovanje kao direktnih antioksidanasa (Zhu i sur., 2000; Zhu i Loft, 2001; Zhu i Loft, 2003) ili indirektnih antioksidanasa indukcijom enzima Fa-

ze II (Talalay i Fahey, 2001; McWalter i sur., 2004), modifikacija signalizacije stanica (Xu i Thornalley, 2001), indukcija apoptoze (Yu i sur., 1998; Chiao i sur., 2002; Yang i sur., 2002), kontrola staničnog ciklusa (Yu i sur., 1998; Zhang i sur., 2003b; Wang i sur., 2004) i redukcija infekcija uzrokovanih *Helicobacterom*. Apoptoza i modifikaciju enzima Faze I i Faze II su najproučavaniji mehanizmi djelovanja glukozinolata i razgradnih produkata na kancerogene tvari (Finely, 2005).

### **Toksičnost i antinutritivni učinak glukozinolata**

#### *Utjecaj na životinje*

Kada je u pitanju ishrana životinja, poznato je da ishrana koja sadrži velike količine uljane repice sadrži i visoki udio glukozinolata te sa može rezultirati različitim nepoželjnim učincima kao što su guša, zatajenje rada jetre i bubrega. Preživaci su općenito tolerantniji na veći sadržaj glukozinolata. Ukupni sadržaj glukozinolata u ishrani svinja, janjadi, zečeva, peradi i riba ne bi smio biti više od 0,78; 1,5-4,22; 7,0; 5,4 odnosno 3,6 mmol/kg hrane (Tripathi i Mishra, 2007). Vidljivo je da je potrebno posvetiti veliku pažnju ishrani svinja jer može doći do povećanja štitnjače i manjeg preživljavanja svinja ako im je ishrana bogata uljanom repicom. Glukozinolati sami po sebi nisu odgovorni za negativan utjecaj na zdravlje životinja, ali njihovi razgradni produkti jesu.

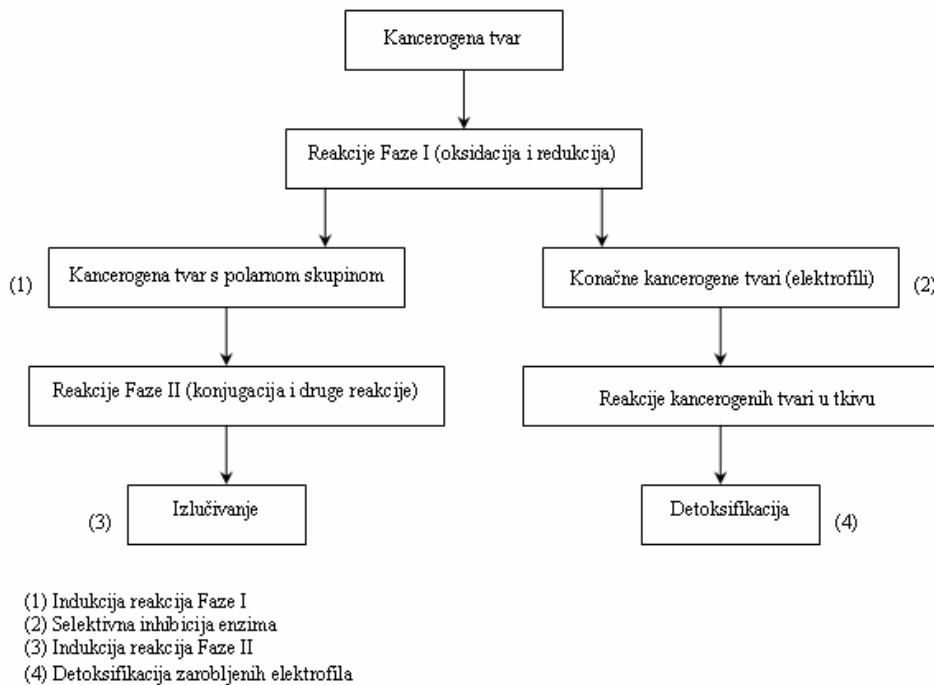
Toksični utjecaj se može pripisati nastajanju izotiocijanata, tiocijanata, nitrila i 5-viniloksazoldin-2-tiona (goitrin). Kako bi se spriječilo nastajanje razgradnih produkata pokušava se inaktivirati mirozinaza kroz predtretman repice prije same ekstrakcije. Takva kontrola sadržaja razgradnih produkata je djelomična jer, kao što smo već ranije napomenuli, razgradnja glukozinolata se odvija i pomoću bakterijske tioglukozidaze koja se nalazi u probavnom traktu. Danas se za ishranu životinja uzgajaju uglavnom sorte uljane repice s vrlo niskim sadržajem glukozinolata. Zaključno, iz iskustva sa životinja-

ma, možemo zaključiti da glukozinolati imaju potencijalno toksičan i antinutritivan utjecaj na zdravlje (Verkerk i sur., 2009).

*Toksični i antinutritivni utjecaj glukozinolata na ljude*

S obzirom na istraživanja o negativnom utjecaju glukozinolata na zdravlje životinja, čini se da bi i ljudi trebali voditi računa o konzumiranim dozama glukozinolata i njihovih razgradnih produkata jer veza između doze i utjecaja nije jasno definirana odnosno poznata. Na primjer, indol-3-karbinola može i inhi-

birati i potaknuti kancerogenezu (Stoner i sur., 2002). Stoner i sur (2002) su utvrdili da ova komponenta nije pogodno kemoprotektivno sredstvo iako ima potencijalno potitivno djelovanje na karcinom dojke i debelog crijeva. Također je utvrđeno i da benzil i alil izotiocijanati imaju i antikancerogeno djelovanje, ali i genotoksično i potencijalno kancerogeno djelovanje (Kassie i Knassmuller, 2000).



**Slika 5.** Mehanizam metabolizma kancerogenih tvari (preuzeto i prilagođeno iz Das i sur 2000).

**Figure 5.** The mechanism of metabolism of carcinogens (taken and adapted from Das et al 2000).

Ovisno o dozi i biodostupnosti glukozinolata, određeni razgradni produkti glukozinolata imaju kemoprotektivno i kancerogeno djelovanje. Posebno se treba voditi računa o dozama prilikom uzimanja različitih namjesta hrane i dodataka prehrani kako se ne bi uzimale doze koje bi mogle imati negativan učinak po ljudsko zdravlje. S toga se poteže i pitanje da li unos glukozinolata povrćem ima negativan i štetan utjecaj na zdravlje? Sadržaj glukozinolata u povrću iz porodica *Brassicaceae* varira oko 1 % suhe tvari.

Dnevni unos glukozinolata varira od 12 do 300 mg (ILSI, 1999; Ciska i Kozłowska, 2001), tako da nisu zabilježeni slučajevi negativnog djelovanja glukozinolata i razgradnih produkata unosom povrća, a također se ne može ni isključiti pozitivno djelovanje (Verkerk i sur., 2009). S obzirom da ne postoje ni podaci o dozvoljenim količinama pojedinih glukozinolata, tako da je potrebno provesti istraživanja jer danas ljudi sve više i više koriste različite dodatke prehrani koji su dostupni na tržištu (Verkerk i sur., 2009).

## Zaključci

Sadržaj glukozinolata u procesiranom povrću ovisi o: genetskim čimbenicima i čimbenicima okoline (određuju sadržaj glukozinolata u sirovini), intenzitetu i prirodi procesiranja (industrijskog i u domaćinstvu) i uvjetima pakiranja i skladištenja. S obzirom na sve navedeno sadržaj glukozinolata znatno varira kroz proizvodni lanac hrane.

Procijenjeno je da kroz različite korake u proizvodnom lancu dolazi do varijacije glukozinolata i to 5-10 puta u samoj sirovini (zbog razlika među sortama), 5-10 puta zbog industrijskog procesiranja i skladištenja i 5-10 puta zbog pripreme u domaćinstvima (npr. kuhanje). Stoga je vrlo teško predvidjeti konačni unos glukozinolata u organizam i samu biodostupnost u organizmu, a s time i pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje.

Sve te varijacije stvaraju probleme različitim akterima u proizvodnom lancu hrane, od industrije za razvoj funkcionalnih proizvoda (koji garantiraju određeni sadržaj fitokemikalija i fiziološki utjecaj), preko vladinih tijela koja daju smjernice o zdravoj prehrani pa do znanstvenika koji proučavaju vezu između hrane i zdravlja (Dekker i sur., 2000).

## Literatura

- Barker AM, Molotsane R, Müller C, Schaffner U, Städler E (2006) Chemosensory and behavioural responses of the sawfly, *Athalia rosae*, to glucosinolates and isothiocyanates.
- Barrilari J, Rollin P, Iori R, (2002) Isolation of dietary glucosinolates and their derived isothiocyanates involved in cancer prevention. *Nutra Cos* 1:6-9. *Chemoecology*, 16:209-218.
- Bogaards JJ, Verhagen H, Willems MI, van Poppel G, van Bladeren PJ (1994) Consumption of Brussels sprouts results in elevated alpha class glutathione S-transferase levels in human blood plasma. *Carcinogenesis* 15:1073-1075.
- Chiao JW, Chung FL, Kancherla R, Ahmed T, Mittelman A, Conaway CC (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *Int J Oncology* 20:631-636.
- Ciska E, Kozłowska H (2001) The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *Eur Food Res Technol* 212:582-587.
- Ciska E, Pathak DR (2004) Glucosinolate derivatives in stored fermented cabbage. *J Agric Food Chem* 52:7938-7943.
- Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL, Pusateri DJ, Topham DKW, Botero-Omary M, Chung FL, (2000) Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. *Nutr Cancer* 38:168-178.
- De Vos RH, Blijleven WGH, (1988) The effect of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables. *Zeit Lebens Unter Forschung* 187:525-529.
- Das S, Tyagi AK, Kaur H (2000) Cancer modulation by glucosinolates: A review. *Current Sci* 79:1665-1671.
- Dekker M, Verkerk R, Jongen WMF (2000) Predictive modelling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage. *Trends Food Sci Tech* 11:174-181.
- Dragsted LO, Strube M, Larsen JC (1993) Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. *Pharmacology and Toxicology* 72:116-135.
- Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochem* 56:5-51.
- Fenwick GR, Heaney RK, Mullin WJ (1983) Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 18:123-201.
- Finley JW (2005) Proposed Criteria for Assessing the Efficacy of Cancer Reduction by Plant Foods Enriched in Carotenoids, Glucosinolates, Polyphenols and Seleno-compounds. *Annals of Botany* 95:1075-1096.
- Finley JW, Ip C, Lisk DJ, Davis CD, Hintze KJ, Whanger PD (2001) Cancer-Protective Properties of High-Selenium Broccoli. *J Agric Food Chem* 49:2679-2683.
- Forney CF, Mattheis JP, Austin RK (1991) Volatile compounds produced by broccoli under anaerobic conditions. *J Agric Food Chem* 39:2257-2259.
- Hansen H, Moller P, Sorensen H, deTrepo MC (1995) Glucosinolate in Broccoli Stored Under Controlled Atmosphere. *J Am Soc Hort Sci* 120:1069-1074.
- Higdon JV, Delage B, Williams DE, Dashwood RH (2007) Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research* 55:224-236.
- Holst B, Williamson G (2004) A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Nat Prod Rep* 21:425-47.

- Howard LA, Jeffery EH, Wallig MA, Klein BP (1997) Retention of phytochemicals in fresh and processed broccoli. *J Food Sci* 62:1098–1100.
- ILSI (1999) Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria. Isothiocyanates. *Crit Rev Food Sci Nutr* 39:245–257.
- Johnson IT (2000) Brassica vegetables and human health: glucosinolates in the food chain. *Acta Hort* 539:39–44.
- Johnson IT (2002) Glucosinolates: Bioavailability and Importance to Health. *Int J Vitamin Nutr Res* 72:26–31.
- Jones RB, Faragher JD, Winkler S (2006) A review of the influence of postharvest treatments on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Bio Technol* 41:1–8.
- Juge N, Mithena RF, Traka M (2007) Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review. *Cellular and Molecular Life Sci* 64:1105–1127.
- Kassie F, Knassmuller S (2000) Genotoxic effects of allyl isothiocyanate (AITC) and phenethyl isothiocyanate (PEITC). *Chem Biol Interact* 127:163–180.
- Keck AS, Finley JW (2004) Cruciferous vegetables: cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. *Integrated Cancer Therapy* 3:5–12.
- Kim S-J, Kawaguchi S, Watanabe Y (2003) Glucosinolates in vegetative tissues and seeds of twelve cultivars of vegetable turnip rape (*Brassica rapa* L.). *Soil Sci Plant Nutr* 49:337–346.
- Klein BP, Juvik JA (2003) Variation in content of bioactive components in broccoli. *J Food Compos Anal* 16:323–330.
- Koritsas VM, Lewis JA, Fenwick GR (1991) Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Ann Appl Biol* 118:209–221.
- Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein BP, Wallig MA, Jeffery EH (1999) Variation of Glucosinolates in Vegetable Crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem* 47: 1541-1548.
- Kusznierewicz B, Bartoszek A, Wolska L, Drzewiecki J, Gorinstein S, Namieśnik J (2008) Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT* 41:1-9.
- Matusheski NV, Jeffery EH (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. *J Agric Food Chem* 49:5743–5749.
- Matusheski NV, Juvik JA, Jeffery EH (2004) Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli. *Phytochem* 65:1273–1281.
- McNaughton SA, Marks GC (2003) Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of vegetables. *Br J Nutr* 90:687–697.
- McWalter GK, Higgins LG, McLellan LI, Henderson CJ, Song L, Thornalley PJ, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD (2004) Transcription factor Nrf2 is essential for induction of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, glutathione S-transferases, and glutamate cysteine ligase by broccoli seeds and isothiocyanates. *J Nutr* 134: 3499S–3506S.
- Mithen RF, Dekker M, Verkerk R, Rabot S, Johnson IT (2000) The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *J Sci Food Agr* 80:967–984.
- Moreno DA, Carvajal M, López-Berenguer C, García-Viguera C (2006) Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41:1508–1522.
- Mosha TC, Pace RC, Adeyeye S, Mtebe K, Laswai H (1995) Proximate composition and mineral content of selected Tanzanian vegetables and the effect of traditional processing on the retention of ascorbic acid, riboflavin and thiamine. *Plant Foods Human Nutr* 48:235–245.
- Palop ML, Smiths JP, Brink B (1995) Degradation of sinigrin by *Lactobacillus agilis* strain R16. *Int. J Food Microbiol* 26:219–229.
- Pretera T, Zhang Y, Spencer SR, Wilezak C, Talalay P (1993) The electrophile counterattack response: protection against neoplasia and toxicity. *Advances in Enzyme Regulation*, 33: 281-296.
- Preobrazhenskaya MN, Bukhman VM, Karolev AM, Efimov SA (1993) Ascorbigen and other indole-derived compounds from *Brassica* vegetables and their analogs as anti-carcinogenic and immunomodulating agents. *Pharmacol Ther* 60:301–313.
- Rangkadilok N, Tomkins B, Nicolas ME, Premier RR, Bennett RN, Eagling DR, Taylor PWJ (2002) The effect of post-harvest and packaging treatments on glucoraphanin concentration in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *J Agric Food Chem* 50:7386–7391.
- Rosa EAS, Heaney RK (1993) The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: studies on four varieties of Portuguese cabbage and hybrid white cabbage. *J Sci Food Agric* 62:259–265.
- Rosa EAS, Heaney RK, Fenwick GR, Portas CAM (1997) Glucosinolates in crop plants. *Hortic Rev* 19:99–215.
- Rodrigues AS, Rosa EAS (1999) Effect of Postharvest Treatments on the Level of Glucosinolates in Broccoli. *J Sci Food Agric* 79: 1028-1032.
- Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ (2004) Hydrolysis of Glucosinolates to Isothiocyanates after Ingestion of Raw or Microwaved Cabbage by Human Volunteers. *Cancer Epidemiol Bio-markers Prev* 13:125–131.

- Schreiner M (2005) Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *Eur J Nutr* 44:85–94.
- Severi S, Bedogni G, Manzieri AM, Poli M, Battistini N (1997) Effects of cooking and storage methods on the micronutrient content of foods. *Eur J Cancer Prev* 6:S21–S24.
- Slominski BA, Campbell LD (1989) Formation of indole glucosinolate breakdown products in autolyzed, steamed and cooked brassica vegetables. *J Agric Food Chem* 37:1297–1302.
- Smith TK, Mithen R, Johnson IT (2003) Effects of brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo. *Carcinogenesis* 24:491–495.
- Sones K, Heaney RK, Fenwick GR (1984) An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK. *J Sci Food Agric* 35:712–719.
- Stoner G, Casto B, Ralston S, Roebuck C, Pereira C, Bailey G (2002) Development of a multiorgan rat model for evaluating chemopreventive agents: Efficacy of indole-3-carbinol. *Carcinogenesis* 23:265–272.
- Talalay P, Fahey JW (2001) Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *J Nutr* 131:3027S–3033S.
- Toivonen PMA, Forney C (2004) Broccoli. In: *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stock*. USDA, ARS Agriculture Handbook
- Travers-Martin N, Kuhlmann F, Müller C (2008) Revised determination of free and complexed myrosinase activities in plant extracts. *Plant PhysiolBiochem* 46:506–516.
- Tripathi MK, Mishra AS (2007) Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Anim Feed Sci Technol* 132:1–27.
- Vallejo F, Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C (2002) Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *Eur Food Res Technol* 215:310–316.
- Verkerk R, Van der Gaag MS, Dekker M, Jongen WMF (1997) Effects of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables. *Cancer Lett* 114:193–194.
- Verkerk R, Dekker M, Jongen WMF (2001) Postharvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of brassica vegetables. *J Sci Food Agric* 81:953–95.
- Verkerk R, Dekker M (2008) Glucosinolates. In: Bilbert J, Senyuva HZ (eds) *Bioactive compounds in Foods*, Blackwell Publishing Ltd.
- Verkerk R, Schreiner M, Krumbein A, Ciska E, Holst B, Rowland I, De Schrijver R, Hansen M, Gerhäuser C, Mithen R, Dekker M (2009) Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol Nutr Food Res* 53:S219–S265.
- Verhoeven DTH, Verhagen H, Goldbohm RA, Van den Brandt PA, Van Poppel G (1997) A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem Biol Interact* 103:79–129.
- Vig AP, Rampal G, Singh Thind T, Arora S (2009) Bioprotective effects of glucosinolates – A review. *LWT* 42:1561–1572.
- Wang L, Liu D, Ahmed T, Chung FL, Conaway C, Chiao JW (2004) Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of sulforaphane in prostate cancer prevention. *Int J Oncology* 24:187–192.
- Wattenberg LW (1992) Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents. *Cancer Research* 52:2085S–2091S.
- Yan X, Chen S (2007) Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta* 1343–1352.
- Zhang Y, Tang L, Gonzalez V (2003) Selected isothiocyanates rapidly induce growth inhibition of cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics* 2:1045–1052.
- Zhu CY, Loft S (2001) Effects of Brussels sprouts extracts on hydrogen peroxide-induced DNA strand breaks in human lymphocytes. *Food Chem Toxicol* 39:1191–1197.
- Zhu CY, Loft S (2003) Effect of chemopreventive compounds from Brassica vegetables on NAD(P)H:quinone reductase and induction of DNA strand breaks in murine hepatic cells. *Food Chem Toxicol* 41:455–462.
- Zhu C, Poulsen HE, Loft S (2000) Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts of Brussels sprouts. *Free Radical Res* 33:187–196.
- Xu K, Thornalley PJ (2001) Signal transduction activated by the cancer chemopreventive isothiocyanates: cleavage of BID protein, tyrosine phosphorylation and activation of JNK. *Brit J Cancer* 84:670–673.
- Yang YM, Conaway CC, Chiao JW, Wang CX, Amin S, Whysner J, Dai W, Reinhardt J, Chung FL (2002) Inhibition of benzo(a)pyrene induced lung tumorigenesis in A/J mice by dietary N-acetylcysteine conjugates of benzyl and phenethyl isothiocyanates during the postinitiation phase is associated with activation of mitogen-activated protein kinases and p53 activity and induction of apoptosis. *Cancer Res* 62:2–7.
- Yu R, Mandlekar S, Harvey KJ, Ucker DS, Kong AN (1998) Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3-like protease activity. *Cancer Res* 58:402–408.

## GLUCOSINOLATES: BIOAVAILABILITY AND INFLUENCE ON HUMAN HEALTH

Mirela Kopjar\*, Drago Subarić, Vlasta Pilizota

Faculty of Food Technology Osijek, F. Kuhaca 20, 31000 Osijek; Croatia

*review*

### Summary

Glucosinolates are unique group of secondary plant metabolites. They are specific chemical compounds i.e. phytochemicals occurring in about 16 botanical families of the order *Capparales*. For the human diet, the most important are representatives of the *Brassicaceae* like cabbage, Brussels sprouts, broccoli, cauliflower, radish, mustard. In this review, we will elaborate all the relevant steps in the food supply chain of *Brassica* vegetables and their influence on intake and bioavailability of glucosinolates and bioactive breakdown products in relation to human health. Plants possessing glucosinolates also contain an enzyme, myrosinase ( $\beta$ -thioglucoside glucohydrolase; EC 3.2.3.1). When glucosinolates and myrosinase come in contact with each other in the presence of water, the enzyme immediately causes the hydrolysis of the glucosinolates. Those breakdown products of glucosinolates are also biologically active. Except consuming fresh, vegetables are often processed. Depending on conditions during processing, degradation of glucosinolates can occur resulting in change of their bioavailability and biological activity. Numerous epidemiological studies have proven positive influence of consumption of *Brassica* vegetables on human health. Glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products have the potentially beneficial activities as antioxidants, antifungal, antibacterial, bioherbicidal, biopesticidal, antimutagenic and anticarcinogenic agents. Next to their positive effect on human health, the antinutritional effects and the possible toxicity of glucosinolates were also observed. Those effects should also be taken in account and there is a need for further investigation of these effects.

**Key words:** glucosinolates, degradation products, bioavailability, health.