

Gliukozinolatai ir jų metabolitai kryžmažiedėse daržovėse: biologinis aktyvumas ir nauda sveikatai

Vijolė Bradauskienė*, Sigutė Ežerskienė, Reda Tamelienė

Klaipėdos valstybinė kolegija

Maisto technologijų ir mitybos katedra, Bijūnų g. 10, LT-91223 Klaipėda

el. paštas: v.bradauskiene@kvk.lt

(Gauta 2024 m. kovo mėn.; atiduota spaudai 2024 m. kovo mėn.; prieiga internete nuo 2024 m. gegužės 10 d.)

Anotacija

Straipsnio tikslas – apžvelgti mokslinę literatūrą apie gliukozinolatus ir jų metabolitus, jų naudą sveikatai bei ligų prevencijai. Straipsnyje analizuojama kryžmažiedėse daržovėse esančių veikliųjų medžiagų gliukozinolatų bei jų metabolitų – sulforafano ir kitų izotiocianatų – nauda žmogaus organizmui, jų veiksmingumas įvairiomis sąlygomis, biologinio aktyvumo išsaugojimas įvairiais būdais apdorojant kryžmažiedes daržoves bei galimybės šiomis medžiagomis papildyti maisto racioną.

Straipsnyje pristatomos gliukozinolatų, kaip funkcionaliųjų priedų, panaudojimo galimybės norint padidinti maisto produktų antioksidacinį potencialą, taip pat siekiant užkirsti kelią bakteriniam ir grybiniam maisto produktų gedimui.

Reikšminiai žodžiai: gliukozinolatai, izotiocianatai, mirozinazė, sulforafanas.

Abstract

The purpose of the article is to review the scientific literature on glucosinolates and their metabolites, their benefits for the health and the prevention of diseases. The article analyses the benefits for the human body of the active substances glucosinolates contained in cruciferous vegetables and their metabolites – sulforaphane and other isothiocyanates, their effectiveness in various conditions, preservation of biological activity through various treatments of cruciferous vegetables, and the possibilities of supplementing the diet with these substances.

The article presents the possibilities of using glucosinolates as functional additives to increase the antioxidant potential of food products, as well as to prevent bacterial and fungal spoilage of food products.

Key words: Glucosinolates, isothiocyanates, myrosinase, sulforaphane

Įvadas

Gliukozinolatai yra biologiškai aktyvūs junginiai, randami daugiausia kryžmažiedžių (*Brassicaceae*) šeimos augaluose: brokoliuose, kopūstuose, žiediniuose kopūstuose, rapsuose, garstyčiose ir krienuose, kur jų būna iki 1,500–2,000 µg/g, šiek tiek mažiau jų yra kituose vaisiuose ir daržovėse (kapariuose, papajose ir moringose) (Holst ir Williamson, 2004). Gliukozinolatų randama 16-oje augalų šeimų. Pasak Di Gioia ir kt. (2020), kryžmažiedžių augalų, turinčių gliukozinolatų, yra daugiau nei 120 rūšių. Buvo nustatyta mažiausiai 130 skirtingų gliukozinolatams priskiriamų junginių, nors iš jų dažniau pasitaiko tik keletas (Johnson ir kt., 2015; Giacoppo ir kt., 2015). Šie junginiai, susidarę per kelis šimtus milijonų evoliucijos metų, yra augalų gynybos sistemos dalis, apsauganti augalus nuo parazitų: amarų, erkių, bakterijų ar nematodų.

Tyrimo metodika

Literatūros šaltinių apžvalgai atlikta straipsnių paieška *Taylor & Francis*, *PubMed* duomenų bazėse bei specializuotoje informacijos paieškos sistemoje *Google Scholar*, naudojant raktinius žodžius „gliukozinolatai“ (glucosinolates) ir „sulforafanas“ (sulforaphane). Rasti ir apžvelgti 44 moksliniai straipsniai anglų kalba bei du šaltiniai lietuvių kalba. Šaltiniai analizuoti taikant aprašomąją analizę.

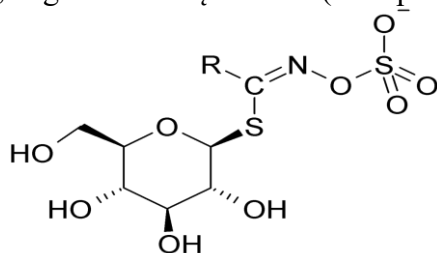
Tyrimo rezultatai ir jų aptarimas

Gliukozinolatų sandara ir savybės

Gliukozinolatai (β-tiogliukozido N-hidroksisulfatai) yra antriniai augalų metabolitai, turintys sieros, chemiškai stabilūs ir biologiškai inertiški. Jie dar vadinami sieros glikozidais arba tioglikozidais ir yra sudaryti iš cukraus dalies, kurią sieros atomas jungia prie aglikoninės dalies,



gautos iš aminorūgščių, tokių kaip metioninas, fenilalaninas, tirozinas ir triptofanas. Gliukozinolatai yra sudaryti iš gliukozės, sulfato, angliavandenių ir azoto (žr. 1 pav.).



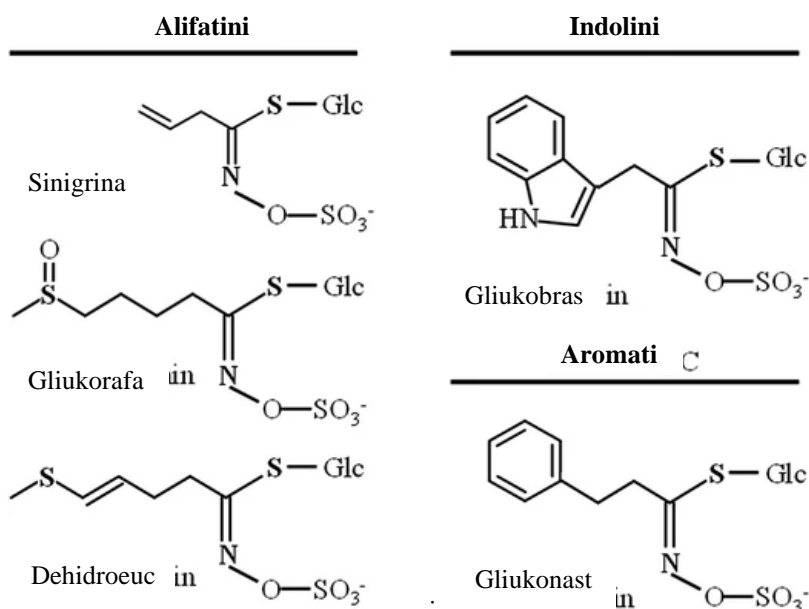
1 pav. Principinė gliukozinolatų sandara

Šaltinis: sudaryta autorių

Fig. 1. The principal structure of glucosinolates

Source: compiled by authors

Savo sudėtimi ir struktūra visi jie panašūs, skiriasi tik liekana. Gliukozinolatus pagal sudėtyje esančių aminorūgščių struktūrą galima suskirstyti į tris grupes: alifatinius, indolinius ir aromatinčius (Fuentes, Paredes-Gonzalez ir Kong, 2015) (žr. 2 pav.).



2 pav. Alifatinių, indolinių ir aromatinčių gliukozinolatų, randamų Brassicaceae daržovėse, pavyzdžiai.

Šaltinis: Fuentes, F., Paredes-Gonzalez, X., & Kong, A. N. T. (2015). Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'-diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. *Current pharmacology reports*, 1, 182 p.

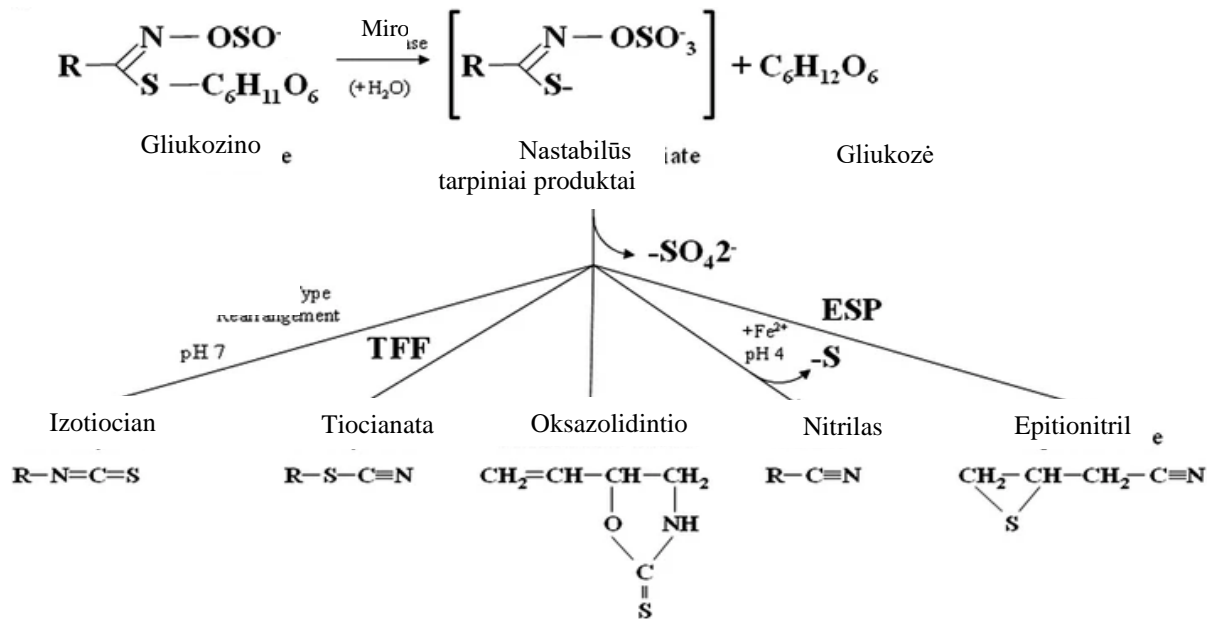
Fig. 2. Examples of aliphatic, indole, and aromatic glucosinolates found in Brassicaceae vegetables.

Source: Fuentes, F., Paredes-Gonzalez, X., & Kong, A. N. T. (2015). Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'-diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. *Current pharmacology reports*, 1, 182 p.

Kol gliukozinolatai yra augalų audinių ląstelėse, jie yra chemiškai stabilūs ir biologiškai neaktyvūs. Gliukozinolatai ir endogeniniai fermentai mirozinazės augalų ląstelėse randasi atitinkamai vakuolėse ir mirozino granulėse (Kissen, Rossiter ir Bones, 2009). Mechaninis audinių pažeidimas arba bet koks veiksnys, lemiantis audinių plyšimą, lemia gliukozinolatų sąlytį su mirozinazėmis. Tokiu būdu aktyvuojamas gliukozinolatų fermentinės hidrolizės procesas, saugantis b-tioglikozidinę jungtį ir susidaro nestabilūs tarpiniai junginiai.

Nurijus, nepažeistos formos gliukozinolatai iš dalies gali būti absorbuojami per virškinimo trakto gleivinę, tačiau didžiausia dalis metabolizuojama virškinamajame trakte. Kai kryžmažiedės daržovės vartojamos neperdirbtos, jose esantis fermentas mirozinazė hidrolizuoja gliukozinolatus

virškinimo trakto proksimalinėje dalyje į įvairius metabolitus, tokius kaip izotiocianatai, tiocianatai, nitrilai, oksazolidintionai, epitionitrilai ir kt. (žr. 3 pav.).



Šaltinis: Fuentes, F., Paredes-Gonzalez, X., & Kong, A. N. T. (2015). Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'-diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. *Current pharmacology reports*, 1, 182 p.

Fig. 3. Model of glucosinolate hydrolysis

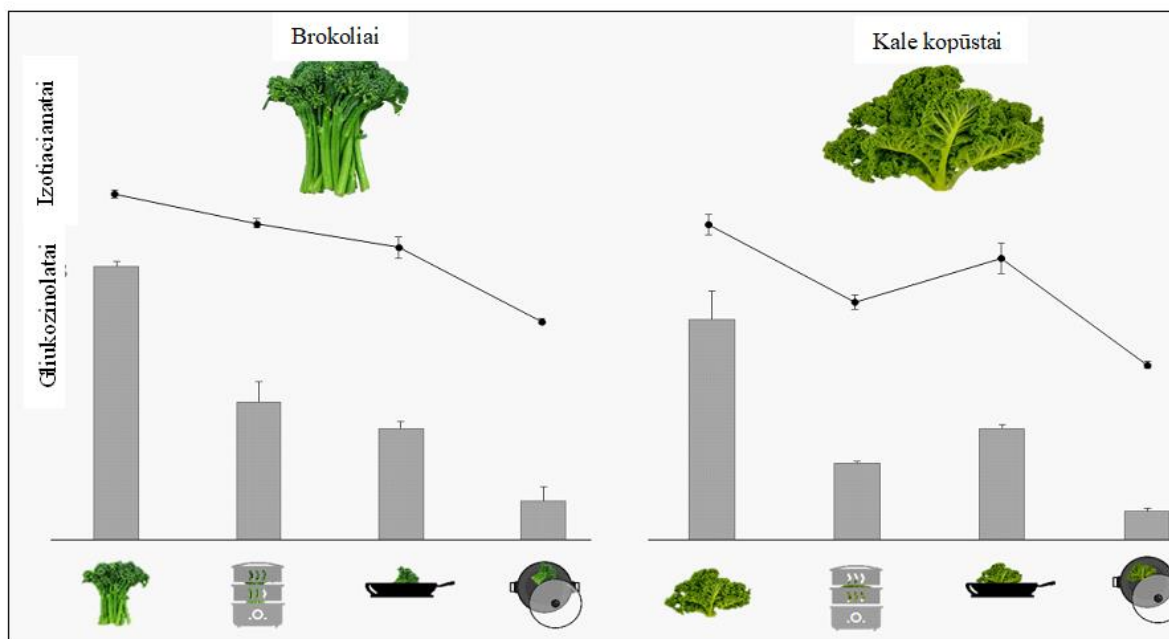
Source: Fuentes, F., Paredes-Gonzalez, X., & Kong, A. N. T. (2015). Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'-diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. *Current pharmacology reports*, 1, 182 p.

Laikymo bei apdoravimo įtaka gliukozinolatų koncentracijai

Gliukozinolatų koncentracija augaluose ir maiste kinta atsižvelgiant į keletą veiksnių, tokių kaip augalo genetika, veislė, auginimo vieta, augimo sąlygos, vystymosi stadija, augalo dalis, tvarkymas po derliaus nuėmimo (laikymo laikas, temperatūra) ir maisto paruošimo būdas. Gliukozinolatų ir jų skilimo produktų biologiniam prieinamumui turi įtakos ir daugybė kitų veiksnių, taip pat mirozinazės inaktyvavimo procesai (Jaafaru ir kt., 2018).

Didžiausias kryžmažiedžių daržovių poveikis nustatytas tada, kai jos vartojamos neapdorotos, išvengiant fermento mirozinazės skilimo perdurbant ir verdant (Vermeulen ir kt., 2008). Smulkiai supjaustyti *Brassica* šeimos augalai per 6 valandas netenka iki 75% gliukozinolatų, tačiau juose pasigamina daugiau sulforafano. Kai kryžmažiedės daržovės prieš vartojimą verdamos, mirozinazė inaktyvuojama ir gliukozinolatai patenka į žarnyną, kur juos hidrolizuoja ir skaido žarnyno mikrobiota. Prieš verdant ar garinant brokolius smulkiai supjausčius ir susmulkinus ląsteles, kuriose yra sulforafano pirmtakas gliukozinolatas, jis susiduria su fermentu mirozinaze, kuris paverčia jį sulforafanu. Manoma, kad supjaustytas daržoves palaikius bent dvidešimt minučių ir po to apdorojus termiškai, organizmas iš jų gautų daugiau veikliosios medžiagos sulforafano, nes jis stabilesnis už gliukozinolatus (Greger ir Stone, 2023). Virimo būdas gali labai pakeisti naudingų junginių kiekį brokolių žiedynuose, o optimalus sulforafano kiekis gali būti gaunamas lengvai troškintus brokolių žiedynus (Jones ir kt., 2010). Terminis apdorojimas verdant garuose, mikrobangų krosnelėje ar kepimas keptuvėje gliukozinolatų kiekį sumažina per pusę, tačiau jų kiekis labiausiai sumažėja verdant vandenyje (maždaug 90%), kadangi jie išsiplauna į virimo vandenį (Barba ir kt., 2016). Tyrimais įrodyta, kad dėl šių priežasčių garuose virti brokoliai pasižymi geresnėmis kardioprotekcinėmis savybėmis negu vandenyje virti brokoliai (Mukherjee ir kt., 2010). Brokolių fermentas mirozinazė taip pat termiškai nestabilus – 90% jo suskyla 10 min.

išlaikant 60°C temperatūroje (Van Eylen ir kt., 2008). Visas augalines mirozinazes aktyvina askorbo rūgštis, o amarų ir bakterijų mirozinazes ji slopina. Mirozinazė katalizuoja S-glikozilo ryšio, 0-β glikozilo ryšio ir 0-glikozilo ryšio hidrolizę (Bhat ir Vyas, 2019). Lu, Pang ir Yang (2020) nustatė, kad mikrobangų krosnelėje virtuose brokoliuose sulforafanų kiekis lieka didesnis, palyginti su vandenyje virtais brokoliais. Apdoravimo temperatūra taip pat turi įtakos sulforatano kiekiui brokoliuose: didžiausias jo kiekis gautas 60°C temperatūroje. Tyrimai, atlikti su brokoliais ir lapiniais (Kale) kopūstais (Baenas ir kt. 2019), taip pat patvirtino, kad apdorojimas garuose ir kepimas maišant geriau išsaugo bendrą gliukozinolatų kiekį, palyginti su virimu vandenyje (žr. 3 pav.).



3 pav. Gliukozinolatų kiekiai šviežiose ir skirtingais būdais apdorotose daržovėse

Šaltinis: Baenas, N., Marhuenda, J., García-Viguera, C., Zafrilla, P., & Moreno, D. A. (2019). Influence of Cooking Methods on Glucosinolates and Isothiocyanates Content in Novel Cruciferous Foods. *Foods*, 8(7), 257p.

Fig. 3. The levels of glucosinolates in fresh vegetables and vegetables treated in different ways

Source: Baenas, N., Marhuenda, J., García-Viguera, C., Zafrilla, P., & Moreno, D. A. (2019). Influence of Cooking Methods on Glucosinolates and Isothiocyanates Content in Novel Cruciferous Foods. *Foods*, 8(7), 257p.

Ne visada ruošiant maistui brokolius, juose išlieka naudingų savybių turinčios bioaktyvios medžiagos. Naudojant maistui pramoniniu būdu užšaldytus brokolius ir juos išvirus, gautame produkte sulforafano nebelieka. Manoma, kad tai susiję su fermento mirozinazės inaktyvavimu, kuris iš dalies įvyksta pramoninio apdoravimo – blanširavimo metu, o iš dalies – vartotojui ruošiant maistą (Dosz ir Jeffery, 2013). Į virtas kryžmažiedes daržoves pridėjus aktyvaus mirozinazės šaltinio, pvz., garstyčių sėklų miltelių, sveikatai naudingų izotiocianatų gamyba suaktyvėja. *In vivo* tyrimais su sveikais asmenimis įrodyta, kad sulforafano biologinis prieinamumas šiuo atveju gautas daugiau kaip keturis kartus didesnis nei vartojant vien tik virtus brokolius (Okunade ir kt., 2018).

Palani ir kt. (2016) atliko fermentacijos įtakos gliukozinolatams ir jų skilimo produktams tyrimą. Švieži žali kopūstai buvo fermentuoti 20°C ir po to laikyti 4°C temperatūroje iki 9 dienų. Gliukozinolatai buvo intensyviai skaidomi tarp 2 ir 5 fermentacijos dienų, o iki 7 dienos gliukozinolatų neliko, tačiau fermentacijos metu susidarė kiti potencialiai bioaktyvūs junginiai: askorbigenas ir indol-3-karbinolis, kurių didžiausia koncentracija nustatyta nuo 5 iki 9 dienos. Laikymo metu indol-3-acetonitrilo kiekis greitai sumažėjo, indolo-3 karbinolis skaidėsi lėtai, o askorbigenas buvo gana stabilus nuo 4 iki 8 savaitės. Tyrimo rezultatai parodė, kad daugiausiai sveikatai naudingų medžiagų kopūstuose buvo praėjus 7–9 dienoms nuo fermentacijos pradžios.

Gliukozinolatų poveikis organizmui **Sveikatą gerinantis ir ligas stabdantis poveikis**

Gliukozinolatai ir izotiocianatai yra tyrinėjami daugiau nei pusę amžiaus. Susidomėjimas šiais unikaliais fitocheminiais junginiais išaugo sužinojus, kad sulforafanas, brokolių izotiocianatas, gali sužadinti žinduolių citoprotekcinis baltymus. Buvo dedama daug pastangų siekiant išsiaiškinti poveikį organizmui gerinant žmonių sveikatą ir kovojant su ligomis. Atlikta nemažai tyrimų su gyvūnais, įrodančių teigiamą gliukozinolatų ir izotiocianatų poveikį kancerogenezės, širdies ir kraujagyslių bei neurologinių ligų prevencijai (Bischoff, 2016). Tyrimais įrodyta, kad gliukozinolatai sumažina cholesterolio, ypač blogojo, koncentraciją kraujyje (Sanlier ir Guler, 2018; Djaldetti, 2022).

Gliukozinolatai ir jų skilimo produktai vertinami dėl jų fungicidinių, bakteriocidinių, nematocidinių ir alelopatinių savybių, tačiau pastaruoju metu didžiausio susidomėjimo sulaukia dėl vėžio chemoprotekcinis požymių rezultatų. Gliukozinolatų dariniai sustabdo vėžį sunaikindami vėžio ląsteles, be to, jie slopina genus, kurie sukuria naujas kraujagysles, palaikančias naviko augimą ir plitimą (Pistollato, Giampieri ir Battino, 2015). Nustatyta, kad organizmui poveikį daro ne patys gliukozinolatai, o jų metabolitai. Gliukozinolatų skilimo produktai (izotiocianatai, ditiolionai ir sulforafanas) dalyvauja blokuojant fermentus, atsakingus už navikų augimą kepenyse, plaučiuose, krūtyse ir virškinimo trakte (stemplėje, storosiose žarnose) (Arya ir kt., 2019), taip pat veikia kaip priešvėžiniai agentai, sužadindami antioksidacinius fermentus, kurie inaktyvuoja galimus kancerogenus.

Melrose (2019) ištyrė dviejų gliukozinolatų šeimos junginių sinigrino ir gliukorafanino priešnavikines ir antimikrobines savybes. B-sulfogliukozidazės mirozinazė arba žarnyno mikrobiota sinigriną ir gliukorafaniną paverčia į bioaktyvias formas – alilo izotiocianatą ir sulforafaniną. *In vitro* eksperimentai su išgrynintais junginiais parodė jų, kaip antimikrobinių vaistų, terapinį poveikį prieš daugelį kliniškai svarbių bakterijų ir grybelių. Izotiocianatas ir sulforafaninas yra tokie pat stiprūs kaip vankomicinas, kovojant su bakterijomis, kurias Pasaulio sveikatos organizacija įvardijo kaip atsparius antibiotikams patogenus. Gliukozinolatai efektyviai veikia prieš biofilmus, kuriuos ant medicininių implantų ir kateterių suformuoja probleminės patogeninės bakterijos, tokios kaip *Pseudomonas aeruginosa* ir *Staphylococcus aureus*, ir yra stiprūs antimikrobiniai vaistai nuo daugelio kliniškai svarbių bakterijų ir grybelių.

Jaafaru ir kt. (2018) apžvelgė gliukozinolatų neuroprotektinį poveikį, kuris buvo priskirtas jų antriniams metabolitams izotiocianatams. Tyrimai atskleidė daugiau nei kelis molekulinis veikimo mechanizmus, išaiškinančius daugialypį biologinį gliukozinolatų hidrolizės produktų poveikį. Įrodytas akivaizdus sulforafano, moringino, feniletilizotiocianato, 6-(metilsulfinil) heksilo izotiocianatų ir erucino *in vitro* ir *in vivo* neuroprotektinis poveikis sergant neurodegeneracinėmis ligomis. Tyrimo rezultatai parodė, kad oksidacinio streso ir (arba) smegenų ašies blokavimas sulforafanu gali būti nauja gydymo strategija siekiant išvengti kraujagyslių komplikacijų sergant cukriniu diabetu (Yamagishi ir Matsui, 2016).

Sulforafanas yra plačiausiai ištirtas gliukozinolatų grupės cheminis junginys. Sulforafanas susidaro hidrolizuojant jo alkilinių gliukozinolatų pirmtaką gliukorafaniną, kurio gausu *Brassica* daržovėse, įskaitant brokolius, kopūstus, brokolinius kopūstus (įprastinių brokolių ir kininių kopūstų hibridas), gūžinius kopūstus, briuselinius kopūstus ir kt. Didelis gliukorafaninų kiekis nustatytas brokoliuose bei jų sėklose (You ir kt., 2008), bet didžiausia jų koncentracija – daiguose. Sulforafano koncentracija rasta brokolių daiguose 1153 µg /100 g, t. y. maždaug 10 kartų didesnė nei žaliuose brokoliuose (44–171 µg/100 g), todėl kopūstinių daržovių daigai laikomi turtingu sulforafano šaltiniu (Wu ir kt., 2014). Įrodyta, kad sulforafanas pasižymi antioksidaciniu ir priešuždegiminiu poveikiu (Rakariyatham ir kt., 2019), apsaugo nuo įvairių smegenų ligų ir sutrikimų, tokių kaip cerebravaskulinės ligos, Alzheimerio liga, smegenų traumos, Parkinsono liga, depresija, nerimas, autizmo spektro sutrikimai, Huntingtono liga, epilepsija, išsėtinė sklerozė,



bipolinis sutrikimas, psichoze ir šizofrenija. Sulforafano sukelta neuroprotekcija pasireiškia slopinant uždegimą, oksidacinį stresą, endotelio disfunkciją ir neuronų apoptozę. Sulforafanas reguliuoja priešuždegiminius, antioksidacinio streso žymenis, taip pat neurogenezės žymenis (Sharma, ir kt., 2024). Jis yra labai stiprus fermentų, tokių kaip NAD(F), chinono oksidoreduktazė ir glutationo-S-transferazė, induktorius, galintis užkirsti kelią uždegimui, oksidaciniam stresui ir nuovargiui (Ruheer ir Suzuki, 2020). Be to, pastebėtas ir terapinis sulforafano teigiamas poveikis *Helicobacter pylori* sukeltam gastritui ir skrandžio vėžiui (Mirmiran ir kt., 2017).

Naujausi tyrimai parodė teigiamą gliukozinolatų poveikį, įskaitant reguliavimo funkcijas, susijusias su uždegimu, reakcija į stresą, I fazės metabolizmą ir antioksidacinį aktyvumą, taip pat tiesiogines antimikrobines savybes. Gliukozinolatai – tai galingi antioksidantai, kurie geba itin veiksmingai kovoti su reprodukcinės sistemos vėžiu (pavyzdžiui, krūties ir prostatos), taip pat šalina endokrininės sistemos pusiausvyros sutrikimus, kurie gali sukelti įvairias skydliaukės ligas, netgi vėžį. Be to, gliukozinolatų metabolitai (izotiocianatai ir sulforafanas) veikia ne tik vieni, bet ir sustiprina chemoterapinių vaistų poveikį, gydant įvairias vėžio rūšis (Mukherjee ir kt., 2009).

Dėl įvairiapusiškos naudos kryžmažiedės daržovės rekomenduojama vartoti kuo dažniau. Skirtingose šalyse maistui suvartojamas kryžmažiedžių daržovių kiekis labai skiriasi, pvz. Vokietijoje vienas asmuo suvartoja apie 56 g šių daržovių per parą, iš kurių gauna 36–46 mg gliukozinolatų, o Suomijoje ir Švedijoje suvartojamas gliukozinolatų kiekis mažesnis – tik 4–6 mg per parą (Holst ir Williamson, 2004). Kol kas nėra pateikiamos būtent šių daržovių vartojimo rekomendacijos, tačiau jos turėtų sudaryti didžiausią dalį tarp visų vartojamų daržovių (Sanlier ir Guler, 2018).

Neigiamas gliukozinolatų poveikis

Kita vertus, gliukozinolatai gali turėti ir neigiamą poveikį. Įrodyta, kad kai kurie iš šių junginių yra kenksmingi, jei juos vartoja dideliais kiekiais žmonės ir gyvūnai. Daugiausia gliukozinolatų (iki 75000 µg/g) susikaupia kryžmažiedžių augalų sėklose (rapsuose, garstyčiose), todėl naudojant jas ar jų miltus maistui ar pašarams kyla problemų. Kryžmažiedžių daržovių pašarai naudojami Australijoje ir Europos dalyse kaip pagrindinė atrajotojų raciono dalis. Įrodyta, kad kai kurioms gyvulių rūšims, šeriamiems pašarais su dideliu gliukozinolatų kiekiu, nustatytas neigiamas poveikis, įskaitant dėl virškinimo problemų sumažėjusį pašarų suvartojimą ir svorio prieaugį, dirginimą virškinimo trakte, taip pat kitus sveikatos sutrikimus, kaip anemija, kepenų ir inkstų pažeidimai. Didelis sieros kiekis gali būti susijęs su mikroelementų trūkumu ir smegenų išemija. Todėl, nors kryžmažiedės daržovės yra geras maisto šaltinis, geriau vengti per didelio jų vartojimo, be to, ir toliau turi būti tiriama skirtingų gliukozinolatų toksiškumas ir saugumas (Dinkova-Kostova ir Kostov, 2012; Bischoff, 2016). Be to, gliukozinolatai nerekomenduojami asmenims, sergantiems skydliaukės hipofunkcija, nes jie turi goitrogeninį poveikį (Sanlier ir Guler, 2018).

Turėtų būti nuodugniau ištirtas agliukonų, kurie gali būti suformuoti iš gliukozinolatų, biologinis poveikis ir sąlygos, kuriomis agliukonai susidaro (Van Etten ir Tookey, 2018). Po aliejaus ekstrakcijos rapsų išspaudose ir rupiniuose lieka gliukozinolatų, kurie lemia aštrų skonį ir stiprų kvapą. Gliukozinolatų kiekiai rapsų sėklose ir po jų perdirbimo likusiuose produktuose labai skiriasi, jiems įtakos turi rapsų auginimo vieta ir veislė. Lietuvoje auginamų rapsų veislėse randama 15–20 µmol/g gliukozinolatų: gliukonapino, gliukonabrasikonapino, progointrino, sinalbino, gliukonasturtino, gliukobrasicino, 4-hidroksigliukobrasicino (Butkutė ir Dabkevičius, 2008). Ypač kenksmingi yra minėtų pirmųjų keturių gliukozinolatų skilimo produktai: izotiocianatai, tiocionatai ir kt., nes turi aštrų kvapą ir skonį, gyvuliams gali sukelti kepenų, inkstų, skydliaukės pakitimus bei pabloginti mėsos skonį. Paskutinių dviejų paminėtų gliukozinolatų (indolinės prigimties) rapsuose yra apie 4–6 µmol/g jie gana stabilūs ir selektininkams nesiseka sėklose pakeisti jų kiekio (Butkutė ir Dabkevičius, 2008).

Taigi, nors gliukozinolatai paprastai laikomi „gerais“ metabolitais, yra atvejų, kai jie yra susiję su toksiškumu, daugiausia dėl skydliaukės hipertrofijos. Todėl turi būti tiriama priemonės,



kuriomis būtų galima reguliuoti šių junginių kiekį augaluose, siekiant padidinti augalinių produktų maistinę vertę ir sumažinti toksiškumo riziką (Di Gioia ir kt., 2020). Šias problemas bandoma spręsti įvairiais būdais, iš kurių priimtinausias – fermentinis jų skaidymas. El-Fadaly ir kt. (2017) tyrimo rezultatai parodė, kad mikroskopinių grybų *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma longibrachiatum* ir *Penicillium digitatum* fermentai gali suskaidyti gliukozinolatus ir sumažinti jų perteklinį poveikį. Mirozinazių taip pat rasta kituose grybuose (pvz., *Aspergillus sydowi*, *Aspergillus niger* ir kt.), amaruose (pvz., *Brevicoryne brassicae*) ir bakterijose (pvz., *Enterococcus casseliflavus*, *Bacteroides thetaiotaomicron* ir kt.). Taip pat buvo minėta, kad jų kiekį sumažina virimas vandenyje.

Gliukozinolatų išskyrimas ir panaudojimas farmacijoje bei maisto pramonėje

Gliukozinolatai gali būti naudojami kaip funkciniai priedai norint padidinti maisto produktų antioksidacinį potencialą, taip pat siekiant užkirsti kelią bakteriniam ir grybeliniam maisto produktų gedimui, tačiau tam juos pirmiausia reikia išgryninti. West ir kt. (2008) išrado gliukozinolatų, ypač gliukorafanino, išskyrimo iš šalutinių žemės ūkio produktų ir atliekų būdą. Gliukozinolatų turinčios augalinės medžiagos vandeninis mišinys pašildomas, kad būtų inaktyvuojami fermentai, tada leidžiamas per anijonų mainų membraną, tokiu būdu iš skysčio išgaunama bent dalis gliukozinolatų, jie absorbuojasi ant anijonų mainų membranos ir po to išlaisvinami.

Doheny-Adams ir kt. (2017) aprašė ir palygino kelis gliukozinolatų ekstrahavimo iš žalių lapinių daržovių būdus. Ekstrahavimas buvo atliekamas trimis būdais: karštu metanoliumi, šaltu metanoliumi ir verdančiu vandeniu. Ekstrahuojant karštu metanoliumi (remiantis ISO 9167-1 metodu), naudojamas 70:30 metanolio–vandens mišinys, pašildomas iki 75 °C, užpilamas, inkubuojama, purtoma ir centrifuguojama. Gautas supernatantas naudojamas gelfiltracijai.

Ekstrahavimas šaltu metanoliumi pagal Ishida ir kt. (2011) – naudojamas 80:20 metanolio vandens mišinys, esant 20 °C mėginys sukratomas, paliekamas 30 min. pastovėti, maišomas 30 min., centrifuguojamas, supernatantas filtruojamas per 0,22 µm filtrą norint tiesiogiai sušvirkšti į chromatografo kolonėlę, arba nefiltruojamas, jei gryninimo etape naudojamos Sephadex kolonėlės. Ekstrahavimo verdančiu vandeniu metodas pritaikytas Herzallah ir Holley (2012). Produktas užpilamas verdančiu vandeniu, mėginys kaitinamas 100 °C temperatūroje 10 min. maišant magnetine maišykle, tada kaitinamas dar 4 valandas 70 °C temperatūroje ir po to centrifuguojamas 10 min. Norint gauti sausą medžiagą, reikia tirpalą išgarinti arba liofilizuoti.

Taigi, dėl sudėtingo gliukozinolatų išgryninimo ir kartoko nemalonaus skonio jie retai naudojami maisto produktų papildymui, tačiau yra nemažai mokslinių tyrimų apie maisto produktų papildymą ne išgrynintais gliukozinolatais, o džiovintomis arba liofilizuotomis kryžmažiedėmis daržovėmis arba jų šalutiniais perdirbimo produktais. Ranawana ir kt. (2016) pabandė duoną papildyti brokolių milteliais, tai padidino duonos antioksidacinį potencialą, tačiau suteikė specifinį nelabai priimtina skoni. Drabińska ir kt. (2018) panašius rezultatus gavo papildžiusi brokolių milteliais pyragėlius be glitimo. Păucean ir kt. (2018) į baltą kvietinę duoną pabandė įdėti garstyčių miltelių, ir nustatė kad 7 % miltų pakeitimas garstyčių milteliais buvo optimalus ir turėjo teigiamą įtaką maistinei vertei ir jusliniams rodikliams. Brokoliais papildžius alų, taip pat gauti neblogi rezultatai: juslinės ir fizikinės-cheminės savybės pasikeitė nežymiai, o sulforafanas jame išliko stabilus net 150 dienų (Abellán ir kt., 2021).

Išvados

Gliukozinolatų metabolitai yra galingi antioksidantai, kurie turi veiksmingą teigiamą poveikį kovojant su reprodukcinės sistemos vėžiu (pavyzdžiui, krūties ir prostatos), padeda kovoti su neurodegeneraciniais pakitimais, turi antimikrobinį poveikį, tačiau tam, kad organizmas gautų šių veikliųjų medžiagų (izotiocianatų, sulforafano) labai svarbu gliukozinolatų turinčias daržoves tinkamai paruošti. Daugiausiai sulforafano išlieka ruošiant brokolius garuose 2–4 min., kaitinant mikrobangų krosnelėje arba verdant nedideliame skysčio kiekyje ne aukštesnėje kaip 60 °C.



Daugiau sulforafano išlieka ruošiant smulkiai supjaustytus brokolius ir iki terminio paruošimo palaikant apie 20 min. Išgrynintais gliukozinolatais arba džiovintomis kryžmažiedėmis daržovėmis galima papildyti kasdienius duonos gaminius.

Be to, kai kurie gliukozinolatai, vartojami didesniais kiekiais, gali būti kenksmingi tiek žmonėms, tiek gyvūnams. Tad mokslininkams svarbu ne tik rasti būdų, kaip papildyti maistą biologiškai vertingais gliukozinolatais, bet ir kaip pašalinti kitų panašių junginių perteklių iš augalų sėklų.

Literatūra

1. Abellán, Á., Domínguez-Perles, R., Giménez, M. J., Zapata, P. J., Valero, D., & García-Viguera, C. (2021). The development of a broccoli supplemented beer allows obtaining a valuable dietary source of sulforaphane. *Food Bioscience*, 39, 100814.
2. Arya, M. S., Reshma, U. R., Syama, S. T., & Anaswara, S. J. (2019). Nutraceuticals in vegetables: New breeding approaches for nutrition, food and health: A. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 677-682.
3. Baenas, N., Marhuenda, J., García-Viguera, C., Zafrilla, P., & Moreno, D. A. (2019). Influence of Cooking Methods on Glucosinolates and Isothiocyanates Content in Novel Cruciferous Foods. *Foods*, 8(7), 257.
4. Barba, F. J., Nikmaram, N., Roohinejad, S., Khelfa, A., Zhu, Z., & Koubaa, M. (2016). Bioavailability of glucosinolates and their breakdown products: impact of processing. *Frontiers in nutrition*, 3, 24.
5. Becker, T. M., & Juvik, J. A. (2016). The role of glucosinolate hydrolysis products from Brassica vegetable consumption in inducing antioxidant activity and reducing cancer incidence. *Diseases*, 4(2), 22.
6. Bhat, R., & Vyas, D. (2019). Myrosinase: insights on structural, catalytic, regulatory, and environmental interactions. *Critical reviews in biotechnology*, 39(4), 508-523.
7. Bischoff, K. L. (2016). Glucosinolates. In *Nutraceuticals* (pp. 551-554). Academic Press.
8. Butkutė, B. ir Dabkevičius, Z. (2008). Individualių gliukozinolatų kaupimosi dėsningumai ir jų tarpusavio santykis rapsų sėklose. *Žemės ūkio mokslai*, (2).
9. Di Gioia, F., Pinela, J., De Haro Bailón, A., Ferreira, I. C., & Petropoulos, S. A. (2020). The dilemma of “good” and “bad” glucosinolates and the potential to regulate their content. In *Glucosinolates: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 1-45). Academic Press.
10. Dinkova-Kostova, A. T., & Kostov, R. V. (2012). Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. *Trends in molecular medicine*, 18(6), 337-347.
11. Djaldetti, M. (2022). Sulforaphane: The principal broccoli phytochemical as a cancer challenger. *Recent Progress in Nutrition*, 2(1), 1-37.
12. Dosz, E. B., & Jeffery, E. H. (2013). Commercially produced frozen broccoli lacks the ability to form sulforaphane. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 987-990.
13. Doheny-Adams, T., Redeker, K., Kittipol, V., Bancroft, I., & Hartley, S. E. (2017). Development of an efficient glucosinolate extraction method. *Plant methods*, 13(1), 17.
14. Drabińska, N., Ciska, E., Szmatawicz, B., & Krupa-Kozak, U. (2018). Broccoli by-products improve the nutraceutical potential of gluten-free mini sponge cakes. *Food chemistry*, 267, 170-177.
15. El-Fadaly, H. A., El-Kadi, S. M., El-Moghazy, M. M., Soliman, A. A., & El-Haysha, M. S. M. (2017). Glucosinolates Detoxification by Solid State Fermentation as Fungi" Biological" and Copper Sulfate Solution" Chemical" Methods. *International Journal of Bioengineering & Biotechnology*, 2(6), 41-53.
16. Fuentes, F., Paredes-Gonzalez, X., & Kong, A. N. T. (2015). Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'-diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. *Current pharmacology reports*, 1, 179-196.
17. Giacoppo, S., Galuppo, M., Montaut, S., Iori, R., Rollin, P., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2015). An overview on neuroprotective effects of isothiocyanates for the treatment of neurodegenerative diseases. *Fitoterapia*, 106, 12–21.
18. Greger, M., Stone, G. (2023). *Kaip nenumirti. Knyga sumaniems, savo sveikata besirūpinantiems žmonėms, kurie nenori jos patikėti maisto, farmacijos ir medicinos industrijai*. Kitos knygos.
19. Herzallah, S., Holley, R. (2012). Determination of sinigrin, sinalbin, allyl- and benzyl isothiocyanates by RP-HPLC in mustard powder extracts. *LWT Food Sci Technol*. 47(2), 293–299.
20. Holst, B., & Williamson, G. (2004). A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural product reports*, 21(3), 425–447.
21. Ishida, M., Kakizaki, T., Ohara, T., Morimitsu, Y. (2011). Development of a simple and rapid extraction method of glucosinolates from radish roots. *Breed Sci.*; 61(2), 20 -211.
22. Yamagishi, S. I., & Matsui, T. (2016). Protective role of sulphoraphane against vascular complications in diabetes. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2329-2339.



23. You, Y., Wu, Y., Mao, J., Zou, L., & Liu, S. (2008). Screening of Chinese *brassica* species for anti-cancer sulforaphane and erucin. *African Journal of Biotechnology*, 7(2).
24. Yuanfeng, W., Chengzhi, L., Ligen, Z., Juan, S., Xinjie, S., Yao, Z., & Jianwei, M. (2021). Approaches for enhancing the stability and formation of sulforaphane. *Food Chemistry*, 345, 128771.
25. Jaafaru, M. S., Karim, A., Ashikin, N., Enas, M. E., Rollin, P., Mazzon, E., & Abdull Razis, A. F. (2018). Protective effect of glucosinolates hydrolytic products in neurodegenerative diseases (NDDs). *Nutrients*, 10(5), 580.
26. Johnson, T. L., Dinkova-Kostova, A. T., & Fahey, J. W. (2015). Glucosinolates from the Brassica vegetables and their health effects. In *Encyclopedia of food and health* (pp. 248-255). Elsevier Inc..
27. Jones, R. B., Frisina, C. L., Winkler, S., Imsic, M., & Tomkins, R. B. (2010). Cooking method significantly effects glucosinolate content and sulforaphane production in broccoli florets. *Food chemistry*, 123(2), 237-242.
28. Kissen, R., Rossiter, J. T., & Bones, A. M. (2009). The 'mustard oil bomb': not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry reviews*, 8, 69-86.
29. Lu, Y., Pang, X., & Yang, T. (2020). Microwave cooking increases sulforaphane level in broccoli. *Food Science & Nutrition*, 8(4), 2052-2058.
30. Melrose, J. (2019). The Glucosinolates: A Sulphur Glucoside Family of Mustard Anti-Tumour and Antimicrobial Phytochemicals of Potential Therapeutic Application. *Biomedicines*, 7(3), 62.
31. Mirmiran, P., Bahadoran, Z., Ghasemi, A., Jeddi, S., & Azizi, F. (2017). High-sulforaphane broccoli sprout powder reduces serum nitric oxide metabolites in *Helicobacter pylori* infected patients. *Journal of Functional Foods*, 34, 356-358.
32. Mukherjee, S., Dey, S., Bhattacharya, R. K., & Roy, M. (2009). Isothiocyanates sensitize the effect of chemotherapeutic drugs via modulation of protein kinase C and telomerase in cervical cancer cells. *Molecular and cellular biochemistry*, 330, 9-22.
33. Mukherjee, S., Lekli, I., Ray, D., Gangopadhyay, H., Raychaudhuri, U., & Das, D. K. (2010). Comparison of the protective effects of steamed and cooked broccolis on ischaemia-reperfusion-induced cardiac injury. *British journal of nutrition*, 103(6), 815-823.
34. Okunade, O., Niranjana, K., Ghawi, S. K., Kuhnle, G., & Methven, L. (2018). Supplementation of the diet by exogenous myrosinase via mustard seeds to increase the bioavailability of sulforaphane in healthy human subjects after the consumption of cooked broccoli. *Molecular nutrition & food research*, 62(18), 1700980.
35. Palani, K., Harbaum-Piayda, B., Meske, D., Keppler, J. K., Bockelmann, W., Heller, K. J., & Schwarz, K. (2016). Influence of fermentation on glucosinolates and glucobrassicin degradation products in sauerkraut. *Food chemistry*, 190, 755-762.
36. Păucean, A., Man, S., Muste, S., Pop, A., Chiș, S., & Cotișel, D. (2018). Physico-chemical and sensory properties of wheat bread supplemented with mustard flour. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 75, 1.
37. Pistollato, F., Giampieri, F., & Battino, M. (2015). The use of plant-derived bioactive compounds to target cancer stem cells and modulate tumor microenvironment. *Food and chemical toxicology*, 75, 58-70.
38. Ranawana, V., Campbell, F., Bestwick, C., Nicol, P., Milne, L., Duthie, G., & Raikos, V. (2016). Breads fortified with freeze-dried vegetables: quality and nutritional attributes. part II: breads not containing oil as an ingredient. *Foods*, 5(3), 62.
39. Ruhee, R. T., & Suzuki, K. (2020). The integrative role of sulforaphane in preventing inflammation, oxidative stress and fatigue: A review of a potential protective phytochemical. *Antioxidants*, 9(6), 521.
40. Sanlier, N., & Guler, S. M. (2018). The benefits of Brassica vegetables on human health. *Journal of Human Health Research*, 1(1), 1-13.
41. Sharma, P., Luhach, K., Dhiman, N., Awasthi, R., Kharkwal, H., Kulkarni, G. T., & Sharma, B. (2024). Neuroprotection induced by sulphoraphane in central nervous system disorders. In *Natural Molecules in Neuroprotection and Neurotoxicity* (pp. 1815-1838). Academic Press.
42. Van Eylen, D., Oey, I., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2008). Effects of pressure/temperature treatments on stability and activity of endogenous broccoli (*Brassica oleracea L. cv. Italica*) myrosinase and on cell permeability. *Journal of food engineering*, 89(2), 178-186.
43. Van Etten, C. H., & Tookey, H. L. (2018). Glucosinolates. In *Handbook of Naturally Occurring Food Toxicants* (pp. 15-30). CRC Press.
44. Vermeulen, M., Klöpping-Ketelaars, I. W., Van Den Berg, R., & Vaes, W. H. (2008). Bioavailability and kinetics of sulforaphane in humans after consumption of cooked versus raw broccoli. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(22), 10505-10509.
45. West, L. G., Pomerleau, T., Matusheski, N. V., Ludwig, C. J., Hestekin, J., Crowley, C., & Kim, N. C. (2008). U.S. Patent Application No. 11/761,883.



46. Wu, Q. Q., Zong, J., Gao, L., Dai, J., Yang, Z., Xu, M., Fang, Y., Ma, Z. G., & Tang, Q. Z. (2014). Sulforaphane protects H9c2 cardiomyocytes from angiotensin II-induced hypertrophy. *Herz*, 39(3), 390–396.

Glucosinolates and Their Metabolites in Cruciferous Vegetables: Biological Activity and Health Benefits

(Received in March, 2024; Accepted in March, 2024; Available Online from 10th of May, 2024)

Summary

Glucosinolates are biologically active compounds found in cruciferous plants such as broccoli, cabbage, cauliflower, rape, and mustard. They have a wide range of health benefits, including cancer prevention, neuroprotection, and antimicrobial effects. Glucosinolates are composed of a sugar moiety, a sulphur atom and an aglycone moiety derived from amino acids. They are chemically stable and biologically inert until they interact with the enzyme myrosinase in plant tissues. The concentration of glucosinolates in food can vary depending on a variety of factors such as the genetics of the plant, the conditions of cultivation, the method of processing and the time of cooking. The metabolites of glucosinolates are known for their antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial effects. They may help protect against a wide range of diseases, including cancer, neurodegenerative diseases, and cardiovascular diseases.

Some glucosinolates can be harmful when taken in large quantities. They can cause thyroid disorders, gastrointestinal irritation, and liver damage. Glucosinolates can be used as functional food additives, but due to the complex purification process, they are rarely used to supplement food products. Glucosinolates are biologically valuable compounds with many potential health benefits. It is important to consume cruciferous vegetables regularly and to prepare them properly to preserve as much of the beneficial substances as possible. Most sulforaphane is retained when broccoli is steamed for 2–4 minutes, microwaved, or boiled in a small amount of liquid at a temperature of no more than 60°C.

More sulforaphane remains of finely chopped broccoli and kept for about 20 minutes until thermal preparation. Purified glucosinolates or dried cruciferous vegetables can be added to everyday bread products. Regular consumption of cruciferous vegetables such as broccoli, cabbage, cauliflower, rapeseed, and mustard are recommended.

