

*Tomasz Cebulak, Ireneusz Kapusta,  
Maria Czernicka<sup>1</sup>, Grzegorz Zaguła<sup>1</sup>, Czesław Puchalski<sup>1</sup>*

## WARTOŚĆ ODŻYWCZA I PROZDROWOTNA BROKUŁÓW Z UPRAWY EKOLOGICZNEJ I KONWENCJONALNEJ

Katedra Technologii i Oceny Jakości Produktów Roślinnych,  
Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego  
Kierownik: dr hab. *A. Kuczyński* prof. UR

<sup>1</sup> Zakład Technologii Bioenergetycznych  
Uniwersytetu Rzeszowskiego  
Kierownik: dr hab. inż. prof. UR *Cz. Puchalski*

*Celem badań była analiza jakościowa i ilościowa związków polifenolowych oraz aktywność antyoksydacyjna róż brokułu pochodzących z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. Analiza LC-PDA-MS pozwoliła na identyfikację 36 związków polifenolowych. Ogólna suma oznaczonych związków polifenolowych wyniosła 655,37 mg/100 g s.m. dla brokułów uprawianych ekologicznie i 585,12 mg/100 g s.m. dla brokułów uprawianych konwencjonalnie. Średnio, brokuły z uprawy ekologicznej wykazały się 19% większą zawartością związków polifenolowych. Aktywność antyoksydacyjna różyczek brokułu mierzona została metodą ABTS, rodnika DPPH i ORAC. We wszystkich przypadkach stwierdzono statystycznie istotną większą zawartość związków antyoksydacyjnych w materiale pochodzącym z uprawy ekologicznej.*

Słowa kluczowe: brokuły, polifenole, uprawa ekologiczna, uprawa komercyjna.

Key words: broccoli florets, polyphenoles, ecological cultivation, conventional cultivation.

Obecnie obserwuje się w krajach europejskich wzrost społecznego zainteresowania żywnością ekologiczną. Jest to wynikiem wzrostu świadomości społecznej związanej z wpływem jakości spożywanej żywności na zachowanie zdrowia. Żywność ekologiczna utożsamiana jest z produktami nie tylko o wyższych walorach smakowych, lecz także o wyższej jakości biologicznej (1). Produkty rolnictwa ekologicznego z reguły w swoim składzie zawierają wyższe poziomy substancji biologicznie czynnych, wśród których najczęściej wymieniane są karotenoidy, witamina C i związki polifenolowe (2, 3). Szczególnie tym ostatnim przypisuje się ważną rolę w kształtowaniu zdrowia organizmu. Związki polifenolowe zaliczane są do wtórnych metabolitów roślinnych, posiadają właściwości zmiatania wolnych rodników, a tym samym zabezpieczają komórki organizmu przed stresem oksydacyjnym (4). Powstawanie wolnych rodników w organizmie jest następstwem naturalnych przemian biochemicznych, jak i procesów detoksykacji ksenobiotyków. Wiadomo jest, że konsumpcja żywności tradycyjnej z reguły podnosi ryzyko przeniesienia do organizmu wyższych pozio-

mów zanieczyszczeń chemicznych związanych z pozostałościami środków ochrony roślin, metali ciężkich, chlorowanych bifenyli czy azotanów, co tym samym zwiększa w organizmie pulę związków o charakterze ksenobiotyków. Żywność ekologiczna natomiast zmniejsza ryzyko skażenia chemicznego organizmu, a przy tym jest zasobniejsza w związki biologicznie aktywne (5). Kształtowanie poziomu związków polifenolowych w roślinie nie jest tylko cechą gatunkową lub odmianową, ale przede wszystkim jest wypadkową warunków klimatyczno-glebowych panujących w okresie wegetacji. Metabolizm związków polifenolowych oraz ich dostępność z pokarmu ciągle pozostaje w sferze badań (6). Z doniesień literaturowych wynika że ilość przyswajanych związków polifenolowych jest niewielka i wynika głównie z interakcji między związkami polifenolowymi a mikroflorą okrężnicy (7). Szczególne kwestie budzi znaczna suplementacja wysokich dawek oczyszczonych związków przeciwutleniających. W przypadku stosowania bardzo wysokich dawek galusanu epigalokatechiny stwierdzono uszkodzenie wątroby i nerek, a przy wysokich dawkach witaminy E i karotenu stwierdzono zwiększone ryzyko wystąpienia raka płuc (8). Bardzo często w literaturze można spotkać także informacje o prewencyjnym ochronnym, jak i leczniczym działaniu związków polifenolowych zawartych w całych owocach i warzywach (3). Szczególne właściwości ochronne notuje się w przypadku chronicznych chorób niezakaźnych związanych z układem sercowo-naczyniowo-mózgowym, chorobami nowotworowymi i schorzeniami degeneracyjnymi wieku starczego (9). W całych owocach i warzywach związki polifenolowe występują łącznie z innymi związkami biologicznie aktywnymi, co dodatkowo zwiększa ich biologiczną efektywność. Ponadto, dieta całościowa owocowo-warzywna wnosi do organizmu duże ilości cennego błonnika pokarmowego, który wspomaga utrzymanie prawidłowej higieny jelita grubego poprzez stymulację mikroflory okrężnicy, która jak donoszą najnowsze badania pełni istotną rolę w metabolizmie fitozwiązków (10). Cennym a zarazem popularnym warzywem ostatnich lat stał się brokuł, warzywo należące do rodziny brassica, obfitujące w związki polifenolowe i glukozyzyny (10). Stabilność związków polifenolowych i glukozyzyny jest uzależniona od warunków i czasu przechowywania, oraz od zastosowanych metod obróbki kulinarnej. Z reguły ilość tych związków maleje zarówno podczas przechowywania, jak i obróbki termicznej (11). Warzywa z grupy kapustnych cenione są ze względu na zdrowotnych. Wysoka zawartość glukozyzyny i polifenoli decyduje o właściwościach odtruwających i ochronnych organizmu. Celem pracy była identyfikacja oraz oznaczenie zawartości związków polifenolowych w różyczkach brokułów pochodzących z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej, jak również określenie statusu antyoksydacyjnego mierzonego metodami ORAC, ABTS i rodnika DPPH.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły świeżo zebrane róże brokułu odmiany Parthenon w miesiącu sierpniu z uprawy ekologicznej i tradycyjnej w miejscowości Łopuszka. Zebrany materiał został zamrożony do temp.  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  i poddany procesowi liofilizacji. Następnie zliofilizowany materiał poddano ekstrakcji za pomocą wysokociśnieniowego SpeedExtractora E-926 Büchii. Ekstrakcje prowadzono w 70% mieszaninie

metanolowo-wodnej w dwuetapowym procesie w temp. 70°C i ciśnieniu 100 at., czas ekstrakcji 25 min. Uzyskany ekstrakt odparowano do sucha za pomocą rotacyjnej wyparki próżniowej Rotavapor R 215. Pozostałość rozpuszczono w wodzie i oczyszczono frakcję fenolową za pomocą techniki SPE. Tak oczyszczoną frakcję ponownie odparowano do sucha i rozpuszczono w 2 cm<sup>3</sup> mieszaniny wody i acetonitrylu w stosunku 1:1. Przygotowany roztwór przeniesiono do fiolek i poddano analizie LC-PDA-MS na ultrasprawnym chromatografie Watersa. Rozdziału dokonano na kolumnie Aquity BEH C-18 o dł. 100 mm i granulacji ziarna 1,7 µm. Temperatura kolumny 50°C. Prędkość przepływu fazy ruchomej, którą stanowiła liniowy gradient acetonitrylu w wodzie wyniósł 0,35 cm<sup>3</sup>/min.

Pomiaru aktywności antyoksydacyjnej dokonano testem ORAC, który wykonano na analizatorze antyoksydantów Photochem® Jena. Zasada pomiaru opiera się wzbudzeniu optycznym dodawanego do analizowanej próbki w standardowych ilościach sensybilizatora wywołującego proces wytwarzania rodników (rodników anionowych nadtlenu). Rodniki zostają częściowo wyeliminowane w czasie reakcji z zawartymi w próbce przeciwutleniaczami. Pozostałe rodniki powodują świecenie substancji detekcyjnej – Luminolu. Następuje precyzyjne określenie luminescencji Luminolu w oddzielnej komorze przy zastosowaniu rurowego zmacniacza światła (PMT).

Pomiar aktywności rodnika DPPH oznaczano wg zmodyfikowanej metody Branda-Wiliamsa i współprac. (12) z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pirylohydrazyl, Sigma). Absorbancję roztworów mierzono przy dł. fali  $\lambda = 517$  nm. 0,5 mM po czasie 30 min. Alkoholowy roztwór DPPH przygotowano, rozpuszczając 19,71 mg DPPH ( $M = 394,32$  g/mol) w 100 cm<sup>3</sup> etanolu. Otrzymany roztwór DPPH rozcieńczono tak, aby jego absorbancja przy dł. fali  $\lambda = 517$  nm wynosiła ok. 0,9. Roztwór przechowywano w ciemności. Aktywność ABTS oznaczano badając zdolność badanych roztworów do dezaktywacji kationorodnia ABTS – Kwas 2,2'-azyno-bis(3-etylenobenzotiazolinowy). Stopień redukcji rodnika ABTS mierzony był przy dł. fali 734 nm po 6 min (13). Analiza jakościowa związków polifenolowych dokonana została na podstawie charakterystycznych widm, maksimum absorpcji promieniowania UV oraz stosunku masy do ładunku  $m/z$ , zarejestrowanego dla widma jonów ujemnych. Analizę ilościową oparto na eksperymencie SIR (*Single Ion Recording – rejestracja jonu pojedynczego*), polegającym na rejestrowaniu wybranych jonów, charakterystycznych dla szukanych jonów. W eksperymencie tym zastosowana filtr mas pozwalający na utworzenie odrębnych kanałów analitycznych dla konkretnych mas odpowiadających pojedynczym związkom z rozdzielczością 0,5 Da.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Celem pracy było określenie różnic w jakości biologicznej wyrażonej składem ilościowym i jakościowym polifenoli oraz aktywnością antyoksydacyjną wyrażoną metodami ABTS, rodnika DPPH i ORAC różyczek brokułu z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. Wyniki analizy chromatograficznej zamieszczono w tab. I, natomiast w tab. II przedstawiono potencjał antyoksydacyjny różyczek brokułu wyrażony metodą ABTS, metodą z użyciem rodnika DPPH i ORAC. Analizę statystyczną prowadzono w oparciu o test post-hoc Duncana. Procedury statystyczne oparto o możliwości programu Statistica 10.

Tabela I. Zawartość polifenoli w mg/100 g s.m. w różyczkach brokołu

Table I. Polyphenoles content in mg/100 g dry mass broccoli florets

Lp.	Nazwa	Parthenon	Parthenon eko
1	kwas 3-O-kawowo-chinowy	3,07	5,22
2	3,7-O-diglukozyd Kemferolu	9,36	1,33
3	3-O-(6 <sup>7</sup> -acetylo-galaktozyd) 7-O-ramnozyd Kemferolu	1,32	1,95
4	3-O-ferulo-triglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	1,47	0,85
5	Kwas 2,3-O-dikawowo-tartarowy	1,42	4,31
6	3,4-O-diglukozyd Kwercetyny	2,31	15,04
7	3-O-diglukozyd-7-diglukozyd Kemferolu	0,36	0,66
8	3-O-triglukozyd-7-O-diglukozyd Kemferolu	2,24	1,23
9	3-O-Kawylu-diglukozyd-7-O-glukozyd Kwercetyny	0,47	0,77
10	kwas 5-O-kawowo-chinowy	1,93	2,29
11	3-O-synapylo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kwercetyny	11,86	15,39
12	3-O-kawylu-diglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	2,31	1,78
13	3-O-Kawylu-diglukozyd-7-O-diglukozyd Kemferolu	0,84	0,35
14	3-O-ferulo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kwercetyny	2,89	4,24
15	3-O-synapylo-triglukozyd-7-O-diglukozyd Kwercetyny	1,14	1,39
16	3-O-rutynozyd Kwercetyny	1,41	1,60
17	3-O-synapylo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	0,95	2,40
18	3-O-ferulo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	1,75	3,83
19	7,4-O-diglukozyd Kwercetyny	8,78	10,85
20	3-O-galaktozyd-ramnozyd- Kwercetyny	13,46	17,02
21	3-O-p-kumarylo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	3,11	0,49
22	3-O-glukozyd Kwercetyny	2,58	5,22
23	3-O-ferulo-hydroxyferulo-triglukozyd-7-O-diglukozyd Kwercetyny	13,56	16,25
24	3-O-synapylo-hydroxyferulo-triglukozyd-7-O-diglukozyd Kemferolu	0,46	0,60
25	3-O-ferulo-diglukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	0,51	0,61
26	3-O-ferulo-hydroxyferulo-triglukozyd-7-O-diglukozyd Kemferolu	0,57	0,70
27	3-O-p-kumarylo-glukozyd-7-O-glukozyd Kemferolu	0,89	1,087
28	O-diglukozyd Izoramnetyny	37,24	12,93
29	3-O-glukozyd Kemferolu	2,43	2,62
30	O-glukozyd Izormanetyny	137,21	24,11
31	1,2-disynapylo-gentobiozyd	68,48	67,45
32	1-disynapylo-2-ferylo-gentobiozyd	126,3	157,84
33	1,2-diferylo-gentobiozyd	21,06	77,12
34	1,2,2 <sup>1</sup> -trisynapylo-gentobiozyd	38,30	64,27
35	1,2 <sup>1</sup> -disynapylo-2-ferylo-gentobiozyd	30,94	88,61
36	1-synapylo-2,2 <sup>1</sup> -diferylo-gentobiozyd	32,14	42,92
	SUMA	585,12	655,37

Tab e l a II. Potencjał antyoksydacyjny badanych warzyw mierzony metodą rodnika DPPH, ABTS i ORAC  
 Ta b l e II. Antioxidative potential of study vegetables determined by DPPH, ABTS and ORAC methods

	Metoda rodnika DPPH Ekwiwalent kwasu galusowego (mg/100 g)	Metoda ABTS Ekwiwalent kwasu galusowego (mg/100 g)	Potencjał ORAC Ekwiwalent kwasu askorbinowego (mg/100 g)
Parthenon	202±2,56*	80±1,57*	115±1,68*
Parthenon eko	297±2,56	105±1,57	156±1,68

\* różnica statystycznie istotna przy poziomie istotności  $p < 0,05$  dla testu Duncana

Uzyskane chromatogramy poddano analizie, w wyniku której wyodrębniono w różyczkach brokułu 36 związków polifenolowych. Profil zidentyfikowanych związków był zgodny z pracami (14, 15). Nie zanotowano różnic w składzie jakościowym, natomiast wystąpiły różnice w składzie ilościowym między materiałem pochodzącym z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. W wielu pracach (16, 17) autorzy zwracali uwagę, iż materiał biologiczny pochodzący z upraw ekologicznych odznaczał się wyższą jakością biologiczną wyrażoną najczęściej potencjałem antyoksydacyjnym. Różnice w aktywności antyoksydacyjnej są wynikiem zmiennych warunków agrotechnicznych głównie związanych z nawożeniem i ochroną. Wiadomym jest, że rośliny nie wspomagane „chemią”, a więc z uprawianych zgodnie ze sztuką rolnictwa ekologicznego w większym stopniu radzić sobie muszą z niesprzyjającymi warunkami wzrostu, są one nastawione na wyższe natężenie czynników stresowych, co tym samym zwiększa syntezę metabolitów wtórnych w tym związków polifenolowych. Analiza związków polifenolowych wykazała ogólny wzrost związków polifenolowych w różyczkach brokułu ekologicznego w stosunku do różyczek z uprawy tradycyjnej średnio o 19%. Suma oznaczonych związków polifenolowych w brokułach z upraw ekologicznych była wyższa niż z materiału z uprawy konwencjonalnej i wynosiła odpowiednio 655,37 i 585,11 mg/100 g s.m. Struktura ilościowa związków polifenolowych nie we wszystkich przypadkach wykazywała wyższe poziomy zawartości w brokułach z uprawy ekologicznej. Dla 9 związków polifenolowych wyższe poziomy zanotowano w przypadku materiału pochodzącego z uprawy konwencjonalnej. Różnice przyjęły poziomy od 86% (3,7-O-diglukozyd Kemferolu) do 1,5% (1,2-disynapyl-gentobiozyd). Natomiast dla pozostałych polifenoli wyższymi poziomami odznaczały się brokuły z uprawy ekologicznej, zakres przyjął wielkości od 85% (3,4-O-diglukozyd Kwercetyny) do 12% (3-O-rutynozyd Kwercetyny). Wśród analizowanych polifenoli najwięcej oznaczono 1-disynapyl-2-ferylo-gentobiozydu, i to zarówno w różyczkach z uprawy ekologicznej, jak i konwencjonalnej. Pomiar potencjału antyoksydacyjnego metodą ABTS, metodą z użyciem rodnika DPPH i metodą ORAC, wykazał we wszystkich pomiarach wyższe poziomy związków antyoksydacyjnych w brokułach uprawianych ekologicznie. Uzyskane dane były zgodne z danymi spotykanymi w literaturze (16). Analiza statystyczna wyników wykazała istotną statystycznie zależność w poziomie aktywności antyoksydacyjnej między różyczkami brokułu z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej.

## WNIOSKI

1. Uprawa ekologiczna brokułów pozwala na uzyskanie wyższych poziomów polifenoli.
2. Różyczki brokułów z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej posiadały ten sam profil związków polifenolowych, ale różną ich zawartość.
3. Stwierdzono statystycznie istotną różnicę właściwości antyoksydacyjnych brokułów z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej i to bez względu na rodzaj stosowanej metody pomiaru zdolności antyoksydacyjnej

T. Cebulak, I. Kapusta, M. Czarnicka, G. Zaguła, Cz. Puchalski

HEALTH PROMOTING PROPERTIES BROCCOLI WITH CONVENTIONAL  
AND ORGANIC CULTIVATION

Summary

The aim of the study was qualitative and quantitative analysis of polyphenolic compounds and antioxidant activity of postharvest broccoli florets from organic and conventional crops. LC-PDA-MS allowed the identification of 36 of polyphenolic compounds. The total content of polyphenolic compounds was 655.37 mg/100 g dry mass broccoli grown organically and 585.12 mg/100 g dry mass broccoli grown conventionally. On average, organically grown broccoli demonstrated a 19% higher content of polyphenolic compounds. Antioxidant activity of broccoli florets was measured using ABTS, DPPH and ORAC. In all cases, there was a significantly higher content of antioxidant compounds in the material originating from organic farming.

PIŚMIENNICTWO

1. *Dangour A. D., Dodhia S. K, Hayter A, Allen E., Lock K., and Uauy R.*: Nutritional quality of organic foods: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 90; 2009: 680-685. – 2. *Cartea M. E., Francisco M., Soengas P., Velasco P.*: Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. *Molecules*, 2011; 16: 251-280. – 3. *Prędką A., Gronowska-Senger A.*: Właściwości przeciwutleniające wybranych warzyw z upraw ekologicznych i konwencjonalnych w redukcji stresu oksydacyjnego. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009; 65(4): 9-18. – 4. *Kaur CH., Kumar K., Anil D., and Kapoor H. C.*: Variations in antioxidant in broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars. *Journal of Food Biochemistry*, 2007; 31: 68-75. – 5. *Huber M., Rembiakowska E., Średnicka D, Bügel S., L.P.L. van de Vijver.*: Organic food and impact on human health: Assessing the status quo and prospects research. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 2011; 58: 103-109. – 6. *Ramos dos Reis L. C. Oliveira V. R., Hagen M. E. K., Jablonski A., Flores S. H., Oliveira Rios A.*: Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). *LWT - Food Science and Technology*, 2015; 63: 177-183. – 7. *Jaiswal A. K., Abu-Ghannam N., Gupta S.*: A comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of *Brassica oleracea* vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 2012; 47(2): 223-231. – 8. *Lambert J. D., Elisa R.J.*: The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010; 501: 65-72. – 9. *Ravikumar Ch.*: Therapeutic Potential of *Brassica oleracea* (Broccoli) - A Review. *International Journal of Drug Development and Research*, 2015; 7(2): 9-10. – 10. *Walter J. Crinnion, N. D.*: Organic Foods Contain Higher Levels of Certain Nutrients, Lower Levels of Pesticides, and May Provide Health Benefits for the Consumer. *Alternative Medicine*, 2015; 1: 4-12.
11. *Gawlik-Dzku U.*: Effect of hydrothermal treatment on the antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* var. botrytis italica) florets. *Food Chemistry*, 2008; 109: 393-401. – 12. *Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.*: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmit-*

tel-Wissenschaft und -Technologie/Food Science and Technology, 1995; 28: 25-30. – 13. *Barto H., Folta M., Zachwieja Z.*: Zastosowanie metod FRAP, ABTS i DPPH w badaniu aktywności antyoksydacyjnej produktów spożywczych. *Nowiny lekarskie*, 2005; 74(4): 510-513. – 14. *Sun J., Xiao Z., Lin L., Lester G. E., Wang Q., Harnly J. M., Chen P.*: Profiling Polyphenols in Five Brassica species Microgreens by UHPLC-PDA-ESI/HRMS. *J. Agric. Food Chem.*, 2013; 61, 46: 10960-10970. – 15. *Vallejo F., Tomás-Barberán F. A., Ferreres F.*: Characterisation of flavonols in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) by liquid chromatography–UV diode-array detection–electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2004; 181-193. – 16. *Valverde J., Reilly K., Villacreces S., Gaffney M., Granta J. and Brunton N.*: Variation in bioactive content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) grown under conventional and organic production systems. *J. Sci Food Agric.*, 2015; 95 1163-1171. – 17. *Vicas S. I., Teusdea A. C., Carbutar M., Socaci S. A., Socaciu C.*: Glucosinolates Profile and Antioxidant Capacity of Romanian Brassica Vegetables Obtained by Organic and Conventional Agricultural Practices. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2013; 68: 313-321.

Adres: 35-601 Rzeszów, ul. Zelwerowicza 4