

*Irena I. Bąk-Sypień, Aleksandra Karmańska, Krystyna Kubiak,
Bolesław T. Karwowski*

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA ŚWIEŻEGO I TERMICZNIE PRZETWORZONEGO ZIELONEGO I CZERWONEGO JARMUŻU*

Zakład i Katedra Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego,
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: dr hab. prof. nadz. B. Karwowski

Badano zawartość związków polifenolowych oraz potencjał przeciwutleniający jarmuży dostępnych w handlu na rynku łódzkim. Pomiary wykonano metodami spektrofotometrycznymi. W zależności od odmiany oraz formy przetworzenia, jarmuże odznaczały się zróżnicowanym potencjałem wymiatania rodnika DPPH oraz kationorodnika ABTS, zawartością polifenoli ogółem i flawonoidów ogółem.

Hasła kluczowe: jarmuż, właściwości przeciwutleniające, związki fenolowe, obróbka termiczna.

Key words: curly kale, antioxidant activities, polyphenolic compounds, thermal treatment.

Owoce i warzywa a także ich formy przetworzone stanowią bogate źródło biologicznie czynnych substancji. Jak wykazują liczne badania kliniczne i epidemiologiczne istnieje odwrotna korelacja między konsumpcją warzyw i owoców a występowaniem chorób zapalnych, układu sercowo-naczyniowego, nowotworów oraz zaburzeń związanych z wiekiem. Szczególnie ważną rolę w profilaktyce wielu chorób stanowią warzywa kapustne, wśród nich jarmuż (1, 2).

Jarmuż (*Brassica oleracea* L. *convar acephala* var. *Sabellica*) jest rośliną liściastą, nie tworzy głowy jak kapusta, czy jadalnych pąków kwiatowych jak brokuły i kalafior. Występujące obecnie odmiany jarmużu odznaczają się postrzępioną strukturą liści o zielonym lub czerwono-fioletowym zabarwieniu. Jarmuż jest warzywem wytrzymałym, tolerującym trudne warunki glebowe i klimatyczne. Ma ostry, goryczkowy smak, który jest mniej wyczuwalny po lekkim przemrożeniu liści. Ze względu na obecność korzystnych dla zdrowia człowieka związków aktywnych, w gronie warzyw kapustnych, jarmuż uważany jest za „super food”. Poza wysoką zawartością glukozyzolanów, związków specyficznych dla rodziny warzyw kapustnych, jarmuż odznacza się największym stężeniem witamin, zwłaszcza witaminy C, A, B₁, B₂, B₆, E, zawiera również kwas foliowy i niacynę. Posiada znaczne ilości związków fenolowych, w tym kwercetynę i kamferol, które łącznie z wysoką zawartością karotenoidów odpowiedzialne są za silną aktywność przeciwutleniającą tego warzywa. Ponadto, jarmuż odznacza się stosunkowo dużą ilością niezbędnych minerałów, zarówno makro- jak i mikroelementów (3–7).

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-02/503-01)

Jarmuż dostępny jest na rynku w całości, poszatowany i paczkowany oraz w postaci mrożonek, soków lub kiełków. Może być spożywany w różnej formie. Na surowo jako składnik smoothie, po zblanszowaniu jako dodatek do dań lub po upieczeniu w formie chipsów. Obróbka kulinarna wpływa znacząco na tkanki roślinne i obecne w nich fitozwiązki oraz prowadzi do zmian w jakości zdrowotnej żywności (8). Przetwarzanie może pozytywnie wpłynąć na uwalnianie związków biologicznych i zwiększyć ich biodostępność ale może także spowodować degradację składników chemicznych. Celem prowadzonych badań była ocena właściwości przeciwutleniających ekstraktów etanolowo-wodnych jarmużu świeżego i termicznie przetworzonego.

MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy stanowiły liście zielonego i czerwonego jarmużu. Badano: *a.* – odmiany Winterbor F1 Redbor F1 wyhodowane w Ogrodzie Roślin Leczniczych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi ($51^{\circ}44' N$, $19^{\circ}24' E$; EJ-1÷EJ3 jarmuż zielony, EJ-4 jarmuż czerwony) oraz w ekologicznym ogrodzie przydomowym ($51^{\circ}20' N$ $19^{\circ}20' E$; EJ-5 jarmuż zielony, EJ-6 jarmuż czerwony); *b.* – liście zakupione w całości (EJK-1 jarmuż zielony, EJK-2 jarmuż czerwony); *c.* – liście zielone rozdrobnione i pakowane w opakowania foliowe (EJK-3, EJK-4); *d.* – kiełki jarmużu (EJK-5).

Próbki roślin hodowanych sadzono i zbierano w tym samym okresie oraz przygotowano do analizy bezpośrednio po zerwaniu. Wszystkie liście były myte pod bieżącą wodą, osuszane bibułą, a w przypadku całych liści dodatkowo krojone na 2–3 cm. części. Liście próbek EJK-1, EJK-2, EJK-3 i EJK-4 poddawano blanszowaniu (20 g produktu, 3 min wodą o temp. $100^{\circ}C$: EJK-1b, EJK-2b, EJK-3b, EJK-4b), a liście próbek EJK-3 i EJK-4 dodatkowo pieczono (20 g produktu, 5 min w piekarniku, temp. $180^{\circ}C$: EJK-3c, EJK-4c). Ze świeżych (20 g) i przetworzonych termicznie próbek przygotowano ekstrakty etanolowo-wodne (80:20 v/v). Metody oznaczeń oparto na pomiarze absorbancji w zakresie długości fali UV-VIS. Użyte odczynniki odznaczały się czystością analityczną.

Oznaczono:

- ogólną zawartość kwasów fenolowych za pomocą spektrofotometrycznej metody *Folina-Ciocalteu* (9) i wyrażono w mg ekwiwalentu kwasu galusowego w 100 g świeżej masy (mg GAE/100g ś.m.) na podstawie krzywej standardowej;
- całkowitą zawartość flawonoidów, zmodyfikowaną metodą *Jia* i współpr. (10) i wyrażono w mg ekwiwalentu katechiny w 100 g świeżej masy (mg CA/100 g ś.m.);
- zdolność przeciwutleniającą, w obecności rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) oraz kationorodnika ABTS (2,2'-azynobis-3-etylobenzenotiazolino-6-sulfonionian diaminowy), którą wyrażono jako wartość IC_{50} (mg świeżej masy) (11, 12).

Każdą z analiz przeprowadzono trzykrotnie, wyniki przedstawiono jako średnią pomiaru \pm odchylenie standardowe (SD). Wartości średnich i odchyłeń standardowych oraz równania regresji dla krzywych standardowych wyliczono w programie Microsoft Office Excel 2013; analizę statystyczną przeprowadzono w programie Statistica 13.1 Polska (Dell) przyjmując przedział ufności na poziomie 95%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Całkowita zawartość związków polifenolowych w badanych ekstraktach etanowo-wodnych jarmużu (oznaczona w reakcji z odczynnikiem *Folina-Ciocalteu*'a w przeliczeniu na kwas galusowy) była różna w zależności od odmiany, miejsca wyhodowania oraz obróbki kulinarnej. Najwyższe stężenie polifenoli w ekstraktach świeżych liści oznaczono w odmianie czerwonej: EJ-4 (156,19±9,03 mg GAE/100 g produktu), EJ-6 (290,42±13,80 mg GAE/100 g produktu), EJK-2 (257,25±8,60 mg GAE/100 g produktu) zarówno wśród roślin wyhodowanych, jak i dostępnych w handlu. Najmniejszą ilość polifenoli stwierdzono w próbce EJ-3 (125,30±10,85 mg GAE/100 g produktu), czyli odmianie jarmużu zielonego wyhodowanego w ogrodzie miejskim (tab. I i II). Podobne zawartości polifenoli, oznaczone tą samą metodą podają inni autorzy (13, 14).

Tab e l a I. Stopień wymiatania rodnika DPPH wyrażony jako IC₅₀ (mg surowej masy) oraz zawartość ogólna związków fenolowych (mg GAE/100 g surowego produktu) w ekstraktach etanowo-wodnych (80:20; v/v) jarmużu (EJ-1÷EJ-6)

Tab l e I. The degree of scavenging of the DPPH radical expressed as IC₅₀ (mg of crude weight) and the overall content of phenolic compounds (mg GAE/100 g crude weight) in ethanolic-water extracts of kale (EJ-1÷EJ-6)

Jarmuż świeży	IC ₅₀ DPPH (mg ś.m.)	Polifenole całkowite (mg GAE/100 g ś.m.)
EJ-1	1,50±0,04 ^a	128,41 ± 16,62 ^A
EJ-2	1,29±0,03 ^b	150,67 ± 6,83 ^B
EJ-3	1,39±0,01 ^c	125,30 ± 10,85 ^C
EJ-4	1,22±0,03 ^d	156,19 ± 9,03 ^D
EJ-5	1,05±0,01 ^e	217,14 ± 7,75 ^E
EJ-6	0,72±0,01 ^f	290,42 ± 13,80 ^F

(a,b,c,d,e,f) – różnice istotne statystycznie ($p < 0,001$) pomiędzy zdolnością przeciwutleniającą prób; dla (b,d) $p < 0,05$.

(A,B,C,D,E,F) – różnice istotne statystycznie ($p < 0,001$) pomiędzy zawartością polifenoli prób; dla (C,D) $p < 0,05$; z wyjątkiem (A,D), (B,C), (A,B), (B,D), (A,C).

Najwyższą zawartością związków polifenolowych w ekstraktach z liści jarmużu termicznie przetworzonego cechowały się próbki liści poddanych pieczeniu: EJK-3c (226,21±2,95 mg GAE/100 g produktu) oraz EJK-4c (216,86±6,96 mg GAE/100 g produktu). Ilość polifenoli w ekstraktach z chipsów była ok. 1,5 razy wyższa niż w ekstraktach z surowych liści. Natomiast ekstrakty po blanszowaniu wykazywały mniejszą o ok. 1,5–2 razy zawartość związków polifenolowych niż nie poddane obróbce świeże liście (tab. II). Ubytek związków polifenolowych pod wpływem blanszowania zaobserwowali również inni autorzy. *Ismail* i współpr. (15) wykazali, że blanszowanie przez 1 min kapusty, kapusty włoskiej i szpinaku spowodowało spadek zawartości ogólnej polifenoli odpowiednio o 20%, 12%, 14%. Stwierdzono również, że w zależności od odmiany kapusty zawartość polifenoli po 5 min blanszowania uległa zmniejszeniu od 4,4% do 57,5% (16). Blanszowanie próbek jarmużu spowodowało również spadek flawonoidów wynoszący od 10 do 30% (tab. II).

Table II. Stopień wymiatania rodnika DPPH (IC₅₀) oraz kationorodnika ABTS (IC₅₀) wyrażona w mg świeżej masy, zawartość polifenoli (mg GAE/100 g ś.m.) i flawonoidów (mg CA/100 g ś.m.) w świeżych liściach jarmuzu dostępnych na rynku łódzkim: EJK-1 → EJK-5 oraz termicznie przetworzonych: EJK-1b → EJK-4b, EJK-3c i EJK-4c

Table II. DPPH (IC₅₀) scavenging and ABTS (IC₅₀) cation exchanger expressed in mg fresh weight, total polyphenols (mg GAE/100 g ś.m.) and flavonoids content (mg CA/100 g ś.m.) in fresh kale leaves available on the Lodz market: EJK-1 → EJK-5 and thermally processed: EJK-1b → EJK-4b, EJK-3c and EJK-4c

badana próbka	Jarmuz świeży					Jarmuz po obróbce termicznej				
	IC ₅₀ DPPH (mg ś.m.)	IC ₅₀ ABTS (mg ś.m.)	polifenole całkowite (mg GAE/100 g ś.m.)	flawonoidy (mg CA/100 g ś.m.)	obróbka termiczna	badana próbka	IC ₅₀ DPPH (mg ś.m.)	IC ₅₀ ABTS (mg ś.m.)	polifenole całkowite (mg GAE/100 g ś.m.)	flawonoidy (mg CA/100 g ś.m.)
EJK-1	1,04±0,02 ^a	0,98±0,03 ^A	184,12±7,71 ^{*a}	9,85±0,31 ^{***a}	blanszowane	EJK-1b	2,89±0,05 ^e	2,30±0,05 ^E	106,82±2,99 ^{*e}	8,57±0,22 ^{**e}
EJK-2	0,72±0,02 ^b	0,80±0,06 ^B	257,25±8,60 ^{*b}	11,35±0,67 ^{**b}		EJK-2b	2,35±0,06 ^f	2,11±0,02 ^F	154,65±2,73 ^{*f}	10,54±0,24 ^{**f}
EJK-3	1,25±0,13 ^c	1,33±0,01 ^C	136,35±2,73 ^{*c}	8,98±0,27 ^{**c}		EJK-3b	2,45±0,01 ^g	2,14±0,01 ^G	99,78±3,93 ^{*g}	7,24±0,04 ^{**g}
EJK-4	2,04±0,06 ^d	2,07±0,01 ^D	129,55±2,14 ^{*d}	11,17±0,21 ^{**d}		EJK-4b	3,50±0,02 ^h	3,47±0,01 ^H	99,50±4,50 ^{*h}	8,04±0,04 ^{**h}
EJK-5	2,16±0,04	2,26±0,03	184,54±2,25	7,24±0,19		EJK-3c	1,02±0,01	0,90±0,01	226,21±2,95	9,55±0,11
					chipsy	EJK-4c	0,97±0,04	1,04±0,01	216,86±6,96	9,93±0,50

(a,b,c,d) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy zdolnością przeciwutleniającą prób; dla (a,c) p<0,05. (A,B,C,D) – różnice istotne statystycznie (p<0,01) pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą prób. (*a,*b,*c,*d) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy zawartością polifenoli prób; z wyjątkiem (**a,**b,**c,**d) – różnice istotne statystycznie (p<0,05) pomiędzy zawartością flawonoidów prób; z wyjątkiem (**b,**d).

(e,f,g,h) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy zdolnością przeciwutleniającą prób; dla (f,g) p<0,05. (E,F,G,H) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą prób; oprócz (F,G). (*e,*f,*g,*h) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy zawartością polifenoli prób; z wyjątkiem (*e,*h). (*e,*g) i (*g,*h). (**e,**f,**g,**h) – różnice istotne statystycznie (p<0,001) pomiędzy zawartością flawonoidów prób; dla (**e,**h) p<0,05; oprócz (**g,**h).

Wszystkie ekstrakty z liści jarmużu w badanych stężeniach bezpośrednio reagowały z rodnikiem DPPH*. Największą zdolność redukcji DPPH* spośród przebadanych świeżych liści wykazywały próbki EJ-6 ($IC_{50(DPPH)}=0,72\pm 0,01$) i EJK-2 ($IC_{50(DPPH)}=0,72\pm 0,02$), czyli liście jarmużu czerwonego. Z kolei najniższą wartość potencjału przeciwutleniającego cechowały się próbki EJK-3 ($IC_{50(DPPH)}=1,25\pm 0,13$) oraz EJK-4 ($IC_{50(DPPH)}=2,04\pm 0,06$), czyli dostępne w handlu, gotowe do spożycia produkty. Zbliżone wartości IC_{50} oznaczono również dla ekstraktów z liści jarmużu zielonego wyhodowanego w Łodzi (EJ-1 – EJ-5: $IC_{50(DPPH)} 1,22\pm 0,03 \div 1,50\pm 0,04$) oraz kielki dostępne w handlu ($IC_{50(DPPH)}=2,16\pm 0,04$) (tab. I i II). Wszystkie próbki badanych ekstraktów jarmużu wykazały znaczne zdolności zmiatania kationorodnika ABTS⁺. Podobnie, jak w przypadku reakcji z DPPH największym potencjałem antyoksydacyjnym cechowała się próbka EJK-8 ($IC_{50(ABTS)}=0,80\pm 0,06$), a najmniejszym EJK-4 ($IC_{50(ABTS)}=2,07\pm 0,01$) oraz EJK-5 ($IC_{50(ABTS)}=2,26\pm 0,03$) (tab. II). W wyniku blanszowania potencjał antyoksydacyjny w badanych próbkach zmalał o ok. 30–50% przy oznaczaniu metodą z użyciem DPPH i 40–60% przy oznaczaniu metodą z użyciem ABTS (tab. II). W piśmiennictwie spotkać można wiele danych, które wskazują na spadek aktywności przeciwutleniającej w czasie gotowania. *Sikora* i *Bodziarczyk* (17) wykazali 38% spadek potencjału przeciwutleniającego w badanych próbkach kapusty w porównaniu ze świeżym produktem (17). Kontakt warzyw z wysokotemperaturowym środowiskiem wodnym prowadzi do ekstrakcji związków aktywnych do wody, degradacji związków termolabilnych, tworzenia prooksydantów i nowych kompleksów oraz różnych enzymatycznych modyfikacji co wpływa na zmniejszenie stężenia antyoksydantów i potencjału antyoksydacyjnego. Z drugiej jednak strony, liście jarmużu poddane pieczeniu wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą niż produkt surowy, IC_{50} wynosiło odpowiednio: próbka EJK-3c: ($IC_{50(DPPH)}=1,02\pm 0,01$; $IC_{50(ABTS)}=0,90\pm 0,01$) oraz próbka EJK-4c: ($IC_{50(DPPH)}=0,97\pm 0,04$; $IC_{50(ABTS)}=1,04\pm 0,01$). Wynika to z faktu, że sama wysoka temperatura w trakcie obróbki może prowadzić do rozerwania macierzy komórkowej, a tym samym do wzrostu biodostępności wielu związków w niej obecnych. W takich przypadkach wzrasta wartość odżywcza produktu (18).

WNIOSKI

1. Liście jarmużu czerwonego odznaczają się wyższą aktywnością przeciwutleniającą oraz zawartością antyoksydantów niż liście jarmużu zielonego. Zawartość związków przeciwutleniających różni się pomiędzy odmianami jarmużu zielonego i zależy od warunków środowiskowych.

2. Istnieje ujemna korelacja między aktywnością przeciwutleniającą wyznaczoną metodą z użyciem rodnika DPPH oraz kationorodnika ABTS a całkowitą zawartością polifenoli. Wraz ze wzrostem zawartości polifenoli w świeżej próbce zwiększa się jej potencjał przeciwutleniający.

3. Obróbka wodno-termiczna (blanszowanie) wpływa na zmniejszenie poziomu stężenia polifenoli oraz flawonoidów w porównaniu z surowym materiałem, jak i obniżenie aktywności przeciwutleniającej. Natomiast pod wpływem pieczenia wzrasta aktywność przeciwutleniająca badanych liści.

I. Bąk-Sypień, A. Karmańska, K. Kubiak, B. Karwowski

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRESH AND THERMAL PROCESSED GREEN AND RED CULTIVARES OF CURLY KALE (*BRASSICA OLERACEA* L.)

Summary

Curly kale as the most nutritious, antioxidant and healthy representative of the brassicas, available throughout the year, should be an important part of the human diet. The level of bioactive phytochemicals in kale is strongly dependent on the type of vegetables, environmental conditions and the processes that the vegetable is subjected before consumption. The study noted a significant decrease in the levels of total polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in conventional blanching and growth their content during short baking at 180°C compared with the raw vegetables.

PIŚMIENNICTWO

1. *Borek C.*: Antioxidants and the prevention of hormonally regulated cancer. *Journal of Men's Health and Garden*, 2005; 2(3): 346-354. – 2. *Verkerk R., Schreiner M., Krumbein A., Ciska B., Holst B., et al.*: Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molec. Nutr. & Food Res.*, 2009; 53(S2): S219-S219. – 3. *Podsedeck A.*: Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2007; 40: 1-11. – 4. *Nilsson J., Olsson K., Engqvist G., Ekvall J., Olsson M., Nyman M., Åkesson B.*: Variation in the content of glucosinolates, hydroxycinnamic acids, carotenoids, total antioxidant capacity and low molecular-weight carbohydrates in Brassica vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 2006; 86: 528-538. – 5. *de Azevedo C. H., Rodriguez-Amaya D. B.*: Carotenoid composition of kale as influenced by maturity, season and minimal processing. *J. Sci. Food Agric.*, 2005; 85: 591-597. – 6. *Korus A.; Lisiewska Z.*: Effect of preliminary processing and method of preservation on the content of selected antioxidative compounds in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) leaves. *Food Chem.*, 2011; 129: 149-154. – 7. *Thavarajah P., Abare A., Basnagala S., Lacher C., Smith P., Combs G. F.*: Seasonal variation in protein, mineral and glucosinolate composition of Portuguese cabbages and kale. *Animal Feed Science and Technology*, 2016; 57(1-2): 111-127. – 8. *Mazzeo T., N'Dri D., Chiavaro E.*: Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen vegetables. *Food Chem.*, 2011; 128(3): 627-633. – 9. *Singleton V. L., Rossi J. A.*: Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 1965; 16(3): 144-158. – 10. *Jia Z., Tang M., Wu J.*: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 1999; 64: 555-559.
11. *Carmona-Jiménez Y. M., García-Moreno V., Igartuburu J. M., Barroso C. G.*: Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chem.*, 2014; 165: 198-204. – 12. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Yang M., Rice-Evans C.*: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 1999; 26: 1231-1237. – 13. *Heimler D., Vignolini P., Dini M. G., Vincieri F. F., Romani A.*: Antiradical activity and polyphenol composition of local *Brassicaceae* edible varieties. *Food Chem.*, 2008; 99: 464-469. – 14. *Zhou K., Yu L.*: Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT.*, 2006; 39: 1155-1162. – 15. *Ismail A., Marjan Z. M., Foong C. W.*: Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 2004; 87: 581-586. – 16. *Amin I., Lee W. Y.*: Effect of different blanching times on antioxidant properties in selected cruciferous vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 2005; 85: 2314-2320. – 17. *Sikora E., Bodziarczyk I.*: Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* l. var. *acephala*) raw and cooked. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2012; 11(3): 239-248. – 18. *Murtaza I., Beigh G. M., Shah T. A.*: Antioxidant activity and total phenolic content of kale genotypes grown in Kashmir valley. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2005; 14(2): 215-217.