

Marta Zalewska-Korona

Zawartość wybranych związków biologicznie aktywnych w różnych odmianach brokułów (*Brassica oleracea* var. Italica)

The content of chosen biologically active compounds in different cultivars of broccoli
(*Brassica oleracea* var. Italica)

ABSTRACT. The volatile compounds of five cultivars of broccoli (Lord F₁, Grandeur, Chevalier F₁, SVR 1140, SR 1141) were analysed by GC/MS method. Five compounds: sulphoraphane, sulphoraphane nitrile, 1-H-indole-3-acetonitrile, 3-beta-ergost-5-en-3-ol and iberin were recognized. Lord F₁ variety was the best and it had the highest content of volatile compounds. Blanching caused a lower level of volatile compounds. The comparison of the amount of volatile substances allows to evaluate the effect of cultivation on the usefulness of different varieties of vegetables for processing and facilitates the selection of the best method of processing or preservation.

KEY WORDS: broccoli, volatile compounds, blanching, sulphoraphane, GC/MS method

Brokuły są warzywem wysoko cenionym w spożyciu ze względu na właściwości odżywcze i lecznicze. Zawierają one dużo witamin (A, B₁, C), karotenoidów (w tym β-karotenu) oraz błonnika. Pod względem zasobności w witaminę C, której ilość dochodzi nawet do 1,15 g/kg, ustępują tylko pietruszce naciowej i papryce. Część kwiatostanowa rośliny zawiera więcej witaminy C i karotenoidów niż część łodygowa. Brokuły zawierają także znaczne ilości wapnia (480–1050 mg/kg), fosforu (660–820 mg/kg), magnezu (ok. 240 mg/kg) i żelaza (9–13 mg/kg). Spożycie świeżych brokułów wzrosło gwałtownie w wielu krajach po stwierdzeniu w roku 1994 przez naukowców amerykańskich ich antykancerogennych właściwości. Brokuły zawierają bowiem związek zwany sulfo-

rafanem, który zmniejsza „rakowacenie” komórek. Sulforafan zaliczany jest do produktów enzymatycznej hydrolizy glukozynolanów [Ciska, Kozłowska 1998]. Związek ten przedostaje się do krwi i aktywizuje enzymy wewnątrzkomórkowe, nazywane enzymami drugiej fazy. Łączą się one z cząsteczkami kancerogennymi i usuwają je ostatecznie z komórki. Sulforafan został zidentyfikowany w brokułach jako produkt enzymatycznej lub kwasowej hydrolizy glukorafanu. Na podstawie różnych badań eksperymentalnych, przeprowadzanych zarówno *in vivo* na zwierzętach jak i *in vitro* na kulturach komórkowych, wykazano, że sulforafan redukuje zawartość różnych form kancerogennych [Fahey 1997]. Brokuł jest warzywem zawierającym duże ilości glukozynolanów [Daxenbichler 1991]. Podczas enzymatycznego ich rozkładu powstają substancje, tj. tiocyjaniany, indole, izotiocyjaniny, a także opisany wyżej sulforafan. Liczne doświadczenia potwierdzają zdolność tych związków do hamowania nowotworu żołądka, piersi, wątroby i płuc. Szczególne działanie wykazuje indol 3-karbinol, który występuje w brokułach i wpływa na metabolizm estrogenów [Steinmetz 1996]. Brokuły są warzywem, które odznacza się wyjątkową przydatnością do mrożenia. Zachowują bowiem odpowiednią konsystencję, delikatny smak i zapach, intensywną zieloną barwę, a przy tym wysoką wartość odżywczą [Rutkowska 1996]. Celem pracy było porównanie zawartości wybranych związków biologicznie aktywnych, w tym sulforafanu, w różnych odmianach brokułów oraz określenie wpływu blanszowania na zmiany ilościowe tych związków.

METODY

Surowcem użytym do badań były brokuły (*Brassica Oleracea L. conovar botrytis*), których materiał nasienny pochodził z firmy Seminis Vegetable Seeds-Polska, a uprawiany był w miejscowości Moszna koło Nałęczowa. Lord F₁ to odmiana brokuła koronowego, która jest polecana zwłaszcza do nasadzeń późnoletnich i jesiennych. Po około 60 dniach od sadzenia w kwietniu, maju i czerwcu oraz po około 70 dniach od nasadzeń w lipcu i początku sierpnia wytwarza bardzo duże, kuliste, ciężkie róże, dzięki czemu uważana jest za dobrą odmianę, nadającą się na bezpośrednie spożycie i do przetwórstwa. Bardzo drobne, ciemnozielone pąki kwiatowe tworzą kształtne, zasklepione, ścisłe róże. Lord F₁ wykazuje wysoką tolerancję na mączniaka rzekomego oraz brązowienie pąków róż brokuła. Chevalier F₁ to nowa, późna odmiana, której róże osiągają dojrzałość zbiorczą po 80 dniach w uprawie wiosennej, po 75 dniach w uprawie latem i po 90 dniach w uprawie jesiennej. Ciemnozielone róże główne mają ładny, kopulasty kształt, są gładkie, ciężkie i ścisłe, zbudowane z bardzo drobnych pąków kwiatowych, pokrytych grubą warstwą wosku. Chevalier F₁ jest

tolerancyjny na mączniaka rzekomego krzyżowych. Grandeur jest odmianą pochodzenia koreańskiego, podobną do Lorda F₁. Tworzy bardzo ciężką, dużą różę i nadaje się dla przemysłu. Okres wegetacji jest o tydzień dłuższy niż u odmiany Lord F₁. SVR 1140 to odmiana brokuła koronowego, która na drobnych łodygach wytwarza wyraźne, kopulaste różę. Jest polecana zarówno do bezpośredniego spożycia, chłodniczego przechowywania, jak i do przetwórstwa. RS 1131 to odmiana brokuła przeznaczona zarówno do przemysłu, jak i bezpośredniego spożycia. Okres wegetacji ma podobny do odmiany Lord. Różę średnie lub duże, bardzo wypukłe, zwarte i zwięzłe. Liście bardzo mocne, ładnie osłaniające różę. Jest bardzo tolerancyjna na choroby.

Analizie zawartości związków lotnych poddano pięć badanych odmian brokułów mrożonych w postaci nieblanszowanej i blanszowanej. Blanszowanie przeprowadzono w wodzie o temperaturze 80°C przez 3 minuty. Następnie drobne różę brokułów liofilizowano w liofilizatorze typu Labcono „Freeze Dry”/Shell System. Do kolbek stożkowych odważono po 2 g liofilizowanych i zmielonych brokułów (blanszowane i nieblanszowane) i przeprowadzono dwukrotną ekstrakcję chlorkiem metylenu (Merc) w ilości 20 ml. Ekstrakcję prowadzono przy użyciu wytrząsarki Water Bath Shaker Type 357 „Elan” w czasie 60 minut. Połączone ekstrakty sączono i dwukrotnie płukano nasyconym roztworem NaCl w ilości 30 ml. Oczyszczone ekstrakty zagęszczano w wyparce próżniowej Unipan-Pro Vacuum Rotary Evaporator Type 350P, dodawano 10 µl wzorca (salicylan metylu o stężeniu 800 mg/10ml) i uzupełniano chlorkiem metylenu do objętości 4 ml.

Analizę przeprowadzono w Zakładzie Fizyki Chemicznej i Fizykochemicznych Metod Rozdzielania Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, stosując metodę GC/MS do analizy ekstraktów. Zastosowano układ ITS – 40 (Chromatograf gazowy Varian 3400 sprzężony ze Spektrofotometrem Masowym) firmy Finnigan MAT, USA, kolumna kapilarna z fazą DB – 5 firmy J&W Scientific, 30×0,25 nm, grubość filmu 0,25 µm, dozownik typu Split-Splitless pracujący w systemie Splitless. Gaz nośny: hel, szybkość przepływu 1,5 ml/min, temperatura dozownika 250°C, temperatura linii łączącej chromatograf ze spektrometrem 280°C. Temperatura pracy MS: 220°C, jonizacja elektronowa (70 eV), zakres analizowanych mas: 35–550 amu, częstotliwość skanowania: 1 sek. Spektrometr wyłączony przez pierwsze 3 minuty analizy chromatograficznej (aby nie analizować rozpuszczalnika). Do identyfikacji substancji w analizowanych ekstraktach stosowano porównanie widm związków badanych z widmami znajdującymi się w bibliotece NIST (National Institute of Science and Technology), zawierającej około 62000 widm uzyskanych metodą jonizacji elektronowej przy energii elektronów 70 eV. W niektórych przypadkach widma

z tej biblioteki nieznacznie różnią się od widm uzyskanych przy zastosowaniu pułapki jonowej.

WYNIKI

Korzystny wpływ diety zawierającej brokoły w zapobieganiu chorobom nowotworowym, opisywany wielokrotnie, zależy od zawartości takich składników, jak sulforafan i indol. Wydaje się, że świadomy proces krzyżowania roślin kapustnych i otrzymywanie nowych odmian ma wpływ na zawartość substancji aktywnych biologicznie. Opisywane wielokrotnie zróżnicowanie składu chemicznego różnych odmian znalazło potwierdzenie w tych badaniach.

Ze względu na bardzo duże różnice między odmianami należy starannie dobrać odmiany przeznaczone zarówno do bezpośredniego spożycia, jak i do przetwarzania metodą mrożenia. Dokładne porównanie wyników uzyskanych w tym doświadczeniu z zawartością związków lotnych podaną w literaturze jest trudne, ponieważ większość autorów zamieszcza w swoich publikacjach dane dotyczące jedynie ogólnej zawartości, np. glukozynolanów w brokułach. Główna grupa związków lotnych, występująca w badanych odmianach brokoła, to produkty hydrolizy enzymatycznej glukozynolanów. Produkty degradacji glukozynolanów to przede wszystkim izotiocyjaniiny, które są toksyczne dla wielu grzybów patogennych, bakterii, wirusów. Wyniki zawartości związków lotnych w poszczególnych kombinacjach doświadczalnych zawiera tabela 1. Związkiem występującym w największych ilościach w badanych odmianach, z wyjątkiem Chevalieur, był nitryl sulforafanu. Związek ten okazał się bardzo wrażliwy na proces blanszowania. W próbkach blanszowanych nie stwierdzono bowiem jego obecności. Największą zawartością związków lotnych ogółem cechowała się odmiana Lord F₁ (196,57 µg/g), najmniejszą Chevalieur (23,18 µg/g). Biorąc pod uwagę wymienione oddziaływanie glukozynolanów na zdrowie człowieka, wydaje się uzasadnione zwiększenie ich spożycia [Steinmetz 1996]. Można to osiągnąć poprzez bezpośrednie dostarczanie tych związków jako składnika diety lub dodatków do żywności funkcjonalnej [Hrnčičk 2000].

Narodowy Instytut Raka w Stanach Zjednoczonych bada możliwość dodawania do żywności stężonych substancji o działaniu przeciwnowotworowym, pochodzących z brokułów, które miałyby dzięki temu zapobiegać występowaniu nowotworów. Pod uwagę brane jest stosowanie w tej nowej żywności kilku składników, w tym indoli, które zapobiegają wzrostowi pewnych nowotworów estrogenowrażliwych [Mindell 1999]. Tego typu rozwiązania w Europie w odniesieniu do otrzymywania produktów o działaniu silnie prozdrowotnym są dopiero w stadium początkowym. Przed powszechnym stosowaniem tego rodzaju

Tabeta 1. Średnia zawartość związków lotnych w badanych odmianach brokoła ($\mu\text{g/g}$ surowca)
 Table 1. Content of volatile compounds in different varieties of broccoli ($\mu\text{g/g}$ of raw material)

Odmiany Cultivars	Sulforafan Sulphoraphane	Nitryl sul- forafanu Sulphorap- hane nitrile	1-H-indol-3- acetonitryl 1-H-indol-3- acetonitrile	3-beta-ergost- 5-en-3-ol	Iberin Iberin	Suma Total
Lord F ₁ (k)	17,48	136,37	32,90	8,92	0,903	196,57
Lord F ₁ (b)	-	-	10,24	-	-	10,24
Grandeur (k)	3,78	108,22	40,69	8,12	0,715	161,53
Grandeur (b)	-	-	9,34	0,98	-	10,32
RS-1131 (k)	9,64	89,31	29,57	5,17	0,527	134,22
RS-1131 (b)	-	-	7,21	0,88	-	8,09
SVR1140 (k)	4,89	25,15	7,43	3,56	0,178	41,21
SVR1140 (b)	-	-	2,77	0,61	-	3,38
Chevalieur (k)	2,63	2,60	11,82	5,92	0,210	23,18
Chevalieur (b)	-	-	3,46	1,16	-	4,62

k – kontrola control, b – blanszowanie blanching

żywności i dodatków muszą być spełnione wszelkie warunki określające jej bezpieczeństwo i wykazane klinicznie pozytywne efekty ich spożycia. Choć istnieje coraz większa liczba dowodów na to, że izotiocyjaniiny i indole należą do istotnych substancji wykazujących działanie przeciwnowotworowe w organizmie człowieka, to istnieją informacje, że mogą one także wykazywać potencjalnie niekorzystny efekt, szczególnie gdy spożywane są w nadmiernych ilościach. W licznych pracach nad składem chemicznym brokoła zwraca się uwagę na dużą koncentrację związków indolowych. Znaczenie substancji indolowych jako substancji chemicznie przekształcających potencjalnie kancerogenne pochodne estrogenów w formy łagodne niepowodujące wzrostu guzów estrogenowrażliwych udowodniono wielokrotnie w badaniach klinicznych. W badanych odmianach oznaczono ważny z punktu aktywności farmaceutycznej 1-H-indol-3-acetonitryl. Jego ilość wahała się w zakresie od 2,77 $\mu\text{g/g}$ (brokoły blanszowane odmiany SVR 1140) do 40,69 $\mu\text{g/g}$ (brokoły nieblanszowane odmiany Grandeur). Istotne jest to, że związek ten, mimo obniżenia zawartości w analizowanych próbkach, po blanszowaniu zachowuje taki poziom zawartości jaki może mieć korzystne działanie na organizm człowieka i zwierząt. Na odrębną uwagę zasługuje wysoka zawartość sulforafanu we wszystkich badanych odmianach brokoła. Próby nieblanszowane zawierały od 2,63 $\mu\text{g/g}$ (odmiana Chevalieur) do 17,48 $\mu\text{g/g}$ (odmiana Lord F₁) (tab.1). Sulforafan, powstający w wyniku przemian biochemicznych, w efekcie ogranicza możliwość powstawania komórek kancerogennych. Możliwość stosowania sulforafanu w chemioterapii schorzeń nowotworowych została potwierdzona w badaniach klinicz-

nych. Zawartość substancji aktywnych biologicznie w nowych odmianach brokuła uzasadnia ich uprawę w celu bezpośredniego spożycia, przetwarzania, jak i surowca do otrzymywania związków chemicznych, które mogą być użyte jako dodatki w opracowywaniu receptur żywności nowej generacji – żywności funkcjonalnej.

WNIOSKI

1. Badane odmiany różnią się wyraźnie pod względem zawartości lotnych substancji zapachowych. Odmianą o najwyższej zawartości lotnych substancji aktywnych biologicznie okazała się Lord F₁, a najmniejszej Chevalier.

2. Blanszowanie wpływa bardzo silnie na obniżenie zawartości substancji aktywnych biologicznie do poziomu wartości śladowych lub powoduje całkowite rozłożenie większości zidentyfikowanych związków, w tym sulforafanu i nitylu sulforafanu

PIŚMIENICTWO

- Ciska E., Kozłowska H. 1998. Glucosinolates of cruciferous vegetables. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 7, 5–22.
- Daxenbichler M.E., Spencer G.F., Carlson D.G., Rose G.B., Brinker A.M., Powell R.G. 1991. Glucosinolates composition of seeds from 297 species of wild plants. *Phytochemistry* 30, 2623–2638.
- Fahey J.W., Yoesheng Z., Talay P. 1997. Broccoli sprouts an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 94, 19, 10367–10372.
- Fenwick G.R., Heaney R.K. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in Cruciferous crops, foods and feedingstuffs. *Food Chem.* 11, 249.
- Fenwick G.R., Heaney R.K., Mawson R.K. 1989. *Toxicants of plant origin.* 2. Cheeke P.R. (ed.), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1–41.
- Hrnčíř K., Velisek J. 2000. Bioaktywne składniki roślin kapustnych – glukozynolany. *Przemysł Spożywczy* 1, 20–21.
- Macleod A.J. 1976. *Volatile flavour compounds of the Cruciferae.* Academic Press, New York, 307–330.
- Nishe K. 1980. Toxicology of Glucosinolates Related Compounds (nitriles, R-goitrin, isothiocyanates) and vitamin U found in Cruciferae. *Cosmetic Toxicology* 18, 159–172.
- Rutkowska G. 1996. Brokuły – nowy surowiec dla zamrażalnictwa. *Chłodnictwo* 31, 12, 36–38.
- Steinmetz K.A., Potter J.D. 1996. Vegetables, fruit and cancer prevention: A review. *J. Amer. Diet. Assoc.* 96, 1027–1039.