

Michał Świeca¹, Urszula Gawlik-Dziki¹,
Dariusz Dziki², Barbara Baraniak¹

KIEŁKI BROKUŁU JAKO ŹRÓDŁO POTENCJALNIE BIOPRZYSWAJALNYCH ANTYOKSYDANTÓW

¹Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

²Katedra Technologii Ciepłej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. B. Baraniak

Celem badań było określenie potencjału antyutleniającego biodostępnej frakcji kielków brokułu. Badany materiał był bogatym źródłem polifenoli i wykazywał szerokie spektrum aktywności antyutleniających. Biodostępne fitozwiązki obecne w kielkach brokułu okazały się być bardzo efektywnymi substancjami chroniącymi lipidy przed uszkodzeniami antyoksydacyjnymi. Dodatkowo, wykazywały one zdolność do hamowania lipooksygenazy oraz aktywacji katalazy. W oparciu o uzyskane wyniki można konkludować, że kielki brokułu posiadają bioskładniki o właściwościach nutraceutycznych.

Hasła kluczowe: kielki brokułu, bioprzyswajalność, właściwości przeciwutleniające
Key words: broccoli sprouts, bioaccessibility, antioxidant activity

Kielki są grupą produktów roślinnych, która w ostatnich latach nabiera coraz większego znaczenia wśród konsumentów ceniących sobie zdrowy styl życia. Kielki brokułu stanowią doskonałe źródło substancji bioaktywnych o właściwościach przeciwutleniających, immunomodulacyjnych, przeciwnowotworowych czy też antymikrobiologicznych (1, 2).

W ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby badań nad biodostępnością, bioprzyswajalnością oraz metabolizmem przeciwutleniaczy obecnych w pożywieniu. Dostępność biologiczna substancji zależna jest od wielu czynników, m.in. sposobu jej podania, rodzaju matrycy pokarmowej czy formy, w jakiej substancja występuje (3). Związki fenolowe są grupą o niezwykle zróżnicowanej biodostępności, która w dużej mierze wynika z różnic w strukturze chemicznej tych substancji. Ogromny wpływ na stopień wchłonięcia danego związku ma odpowiednie rozdrobnienie pokarmu w jamie ustnej, które ułatwia jego wymywanie z matrycy żywności. Absorpcja aglikonów niektórych flawonoidów odbywa się już w żołądku, jednak generalnie związki fenolowe ulegają absorpcji w jelicie cienkim oraz grubym (4).

Wysoka zawartości substancji biologicznie czynnych w żywności nie zawsze przekłada się na zwiększenie aktywności biologicznej stąd niezwykle ważne staje się analiza biodostępności oraz aktywności in vitro frakcji, które są potencjalnie bioprzyswajalne. Celem pracy była analiza biodostępności biologicznie aktywnych składników kielków brokułu. W pracy określono zawartość polifenoli w potencjalnie

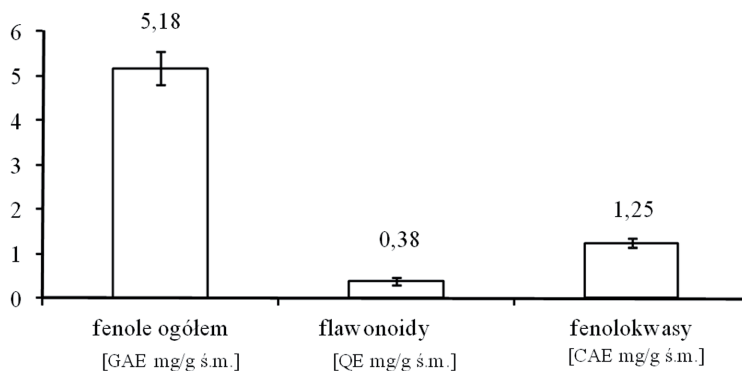
bioprzyswajalnej frakcji kiełków brokułu oraz jej bioaktywność w oparciu o analizę nieenzymatycznych (zdolność do chelatowania metali, neutralizacji rodników, ochronny lipidów oraz siły redukcyjnej) i enzymatycznych (indukcja aktywności katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej) aktywności antyoksydacyjnych oraz wpływu na enzymy związane z generowaniem stresu oksydacyjnego (oksydaza ksantynowa, lipooksygenaza).

MATERIAŁY I METODY

Materiałem do badań były kielki brokułu odm. Cezar. Suche nasiona poddano sterylizacji 1% roztworem podchlorynu sodu w celu usunięcia powierzchniowych zanieczyszczeń. Sterylizację prowadzono w temperaturze 25°C przez 10 minut. Nadmiar podchlorynu sodu usunięto przez 10-krotne przepłukanie wodą destylowaną. Nasiona kiełkowano 5 dni na płytkach *Petriego* (Φ 125 mm) wyłożonych 3 warstwami bibuły filtracyjnej. Proces kiełkowania prowadzono w komorze badań cieplnych w temperaturze 25°C, w ciemnościach przy względnej wilgotności 65%. Kielki podlewano każdego dnia 5 ml wody destylowanej. Analizy przeprowadzono w 3 powtórzeniach na 3 odrębnych próbach z różnych partii kiełków brokułu. Zastosowano następujące metody oznaczeń: symulowane trawienie płynem gastrycznym i jelitowym przeprowadzono w oparciu o metodę opracowaną przez *Elless* i wsp. (5); wchłanianie *in vitro* przeprowadzono wg procedury opisaną przez *Gawlik-Dziki* i *Świeca* (6); analizę polifenoli wykonano wg metody opisaną przez *Gawlik-Dziki* i *Świeca* (7); siłę redukcji oznaczono wg metody opisaną przez *Pulido* i wsp. (8) bazującej na zdolności badanych substancji do redukcji Fe^{3+} do Fe^{2+} ; zdolność do neutralizacji wolnych rodników określono jako zdolność do neutralizowania kationorodnika $ABTS^{\cdot+}$ wg metody opisaną przez *Re* i wsp. (9); oznaczanie zdolności do chelatowania jonów Fe^{2+} wykonano wg metody opisaną przez *Guo* i wsp. (10); zdolności do hamowania utleniania lipidów określono jako zdolność do hamowania peroksydacji kwasu linolowego wg metody opisaną przez *Groupy* i in. (11); zdolności do modyfikacji aktywności katalazy określono w oparciu o metodę opracowaną przez *Claiborne* (12); zdolności do modyfikacji aktywności dysmutazy ponadtlenkowej określono w oparciu o metodę opracowaną przez *Beauchamp* i *Fridovich* (13); zdolność do modyfikacji aktywności lipooksygenazy określono w oparciu o metodę opracowaną przez *Juntachote* i *Berghofer* (14); zdolności do modyfikacji aktywności oksydazy ksantynowej określono w oparciu o metodę opracowaną przez *Sweeney* i wsp. (15).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W pracy wykonano analizę potencjalnie biodostępnej frakcji kiełków brokułu. Ocenie poddano skład polifenolowy oraz aktywności antyutleniające, które mogą wskazywać na fakt, że kielki brokułu, prócz właściwości odżywczych posiadają szereg aktywności biologicznych wpisujących je w segment żywności funkcjonalnej.



Ryc. 1. Zawartość potencjalnie biodostępnych związków fenolowych ogółem, flawonoidów oraz fenolokwasów w kiełkach brokołu

Fig. 1. Content of potentially bioaccessible phenolics, flavonoids and phenolic acids in broccoli sprouts

Kielki brokołu stanowią dobre źródło potencjalnie biodostępnych związków fenolowych. Zawartość całkowita związków fenolowych wynosiła ponad 5 mg/ g s.m. W obrębie puli polifenoli flawonoidy i kwasy fenolowe stanowiły 7,3% i 24,1%, odpowiednio (Ryc. 1).

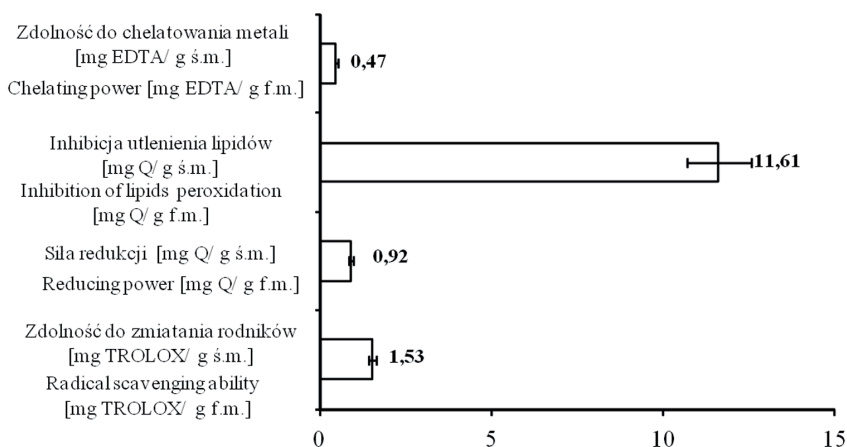
Rozdział techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej pozwolił na ilościowe i jakościowe oznaczenie aglikonów związków fenolowych obecnych w potencjalnie biodostępnej frakcji kiełków brokołu. W płynie uzyskanym w wyniku dializy ekstraktu trawionego zidentyfikowano 15 związków fenolowych. Dominującym składnikiem frakcji kwasów polifenolowych były kwasy: galusowy, wanilinowy oraz benzoesowy. Wśród flawonoidów dominowały: kemferol oraz (+)-katechina (Tab. I).

Tab e l a I. Zawartość potencjalnie bioprzyswajalnych aglikonów polifenoli w kiełkach brokołu

Tab l e I. Content of potentially bioaccessible phenolics aglycones from broccoli sprouts

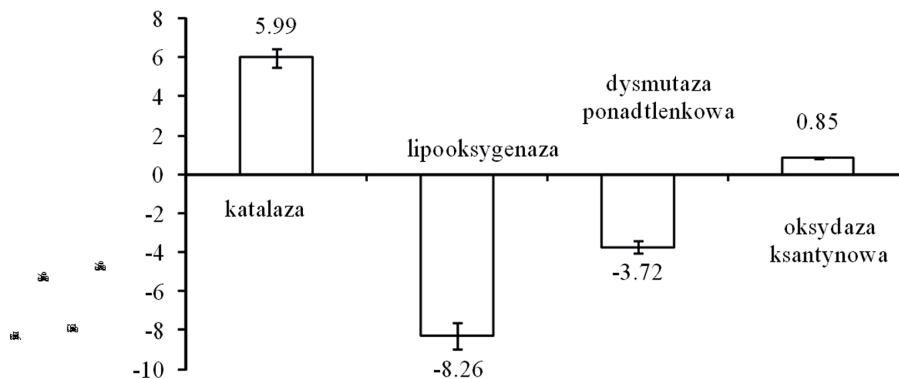
Kwasy fenolowe Phenolic acids	Zawartość [$\mu\text{g}/\text{g}$ s.m.]	Flawonoidy Flavonoids	Zawartość [$\mu\text{g}/\text{g}$ s.m.]
galusowy	$58,47 \pm 2,34$	kempferol	$59,55 \pm 2,38$
kawowy	$2,23 \pm 0,09$	kwercetyna	$0,34 \pm 0,01$
<i>p</i> -hydroksybenzoesowy	$3,17 \pm 0,13$	naryngenina	$0,34 \pm 0,01$
chlorogenowy	$7,82 \pm 0,31$	genisteina	$0,13 \pm 0,01$
wanilinowy	$14,57 \pm 0,58$	(+)-katechina	$4,45 \pm 0,18$
syryngowy	$2,23 \pm 0,09$		
ferulowy	$0,47 \pm 0,02$		
synapinowy	$7,89 \pm 0,32$		
benzoesowy	$10,72 \pm 0,43$		
trans-cynamonowy	$0,74 \pm 0,03$		

Potencjalnie bioaktywna frakcja kielków brokuła charakteryzowała się szerokim zakresem aktywności antyutleniających. Należy podkreślić, że otrzymany przesącz wykazywał bardzo wysoką zdolność do ochrony lipidów przed utlenieniem (ekwiwalent 11,61 mg kwercetyny (QE)/ g ś.m.). Dodatkowo analizowana frakcja wykazywała zdolność do wiązania jonów żelaza, substratów reakcji Fentona, która odpowiadała 0,47 mg EDTA/ g ś.m.. Potencjalnie biodostępne składniki kielków brokuła wykazywały także potencjał redukcyjny porównywalny z 0,92 mg kwercetyny/ g ś.m. oraz efektywnie neutralizowały wolne rodniki (1,53 mg TROLOX/ g ś.m.) (Ryc. 2).



Ryc. 2. Profil aktywności antyutleniających w potencjalnie biodostępnej frakcji kielków brokuła
 Fig. 2. Profile of antioxidant activities of potentially bioaccessible fraction of broccoli sprouts

Potencjalnie bioaktywne składniki kielków brokuła modulowały aktywność enzymów biorących udział w enzymatycznej ochronie przed stresem oksydacyjnym. Należy podkreślić, że ekstrakt otrzymany z 1 mg ś.m. aktywował działanie katalazy, enzymu rozkładającego nadtlenek wodoru, zwiększając jego aktywność o około 6%. Należy również podkreślić, że badany przesącz hamował również w niewielkim stopniu aktywność dysmutazy ponadtlenkowej. Analizując wpływ badanego ekstraktu na aktywność enzymów prooksydacyjnych (generujących stres oksydacyjny w organizmie) należy wskazać na istotne zahamowanie aktywności lipooksygenazy, obniżając jej aktywność o 8,26 % (przez 1 mg ś.m.) (Ryc. 3).



Ryc. 3. Wpływ potencjalnie biodostępnej frakcji kiełków brokołu na aktywność wybranych enzymów pro- i antyoksydacyjnych

Fig. 3. Influence of potentially bioaccessible fraction of broccoli sprouts on the activity of selected pro- and antioxidant enzymes

WNIOSKI

Uzyskane w pracy wyniki wskazują, że:

1. Kiełki brokołu mogą być źródłem potencjalnie biodostępnych związków fenolowych.
2. Potencjalnie biodostępne antyutleniacze z kiełków brokołu wykazują zdolność ochronną w stosunku do lipidów.
3. Biodostępne *in vitro* związki obecne w kiełkach brokołu modulują aktywność enzymów generujących stres oksydacyjny oraz odpowiedzialnych za jego neutralizację. W znacznym stopniu aktywują aktywność katalazy oraz hamują działanie lipooksygenazy.

M. Świeca, U. Gawlik-Dziki, D. Dziki, B. Baraniak

BROCCOLI SPROUTS AS A POTENTIAL SOURCE OF BIOACCESSIBLE ANTIOXIDANTS

Summary

The aim of this study was to determine the antioxidant potential of potentially bioaccessible fraction of broccoli sprouts. Studied material is a rich source of polyphenols and showed a wide range of antioxidant activities. Bioaccessible phytochemicals of broccoli sprouts are very effective lipids preventers. Additionally, they play as lipoxigenase inhibitors and catalase activators. Broccoli sprouts possess bioactive compounds with nutraceutical properties.

PIŚMIENNICTWO

1. *Gawlik-Dziki U., Świeca M., Sugier D.*: (2012) Enhancement of antioxidant abilities and the lipoxigenase and xanthine oxidase inhibitory activity of broccoli sprouts by biotic elicitors. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 2011; 11(1): 13-25.
2. *Vallejo F., Gil-Izquierdo A., Perez-Vicente A., Garcia-Viguera C.*: In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates and vitamin C. *J. Agric. Food Chem.*, 2004; 52: 135-138.
3. *D'Archivio M., Filesì C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R.*: Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann. Ist. Super. Sanita.*, 2007; 43: 348-356.
4. *Tarko T., Duda-Chodak A., Sroka P., Satora P., Michalik J.*: Transformations of phenolic compounds in an in vitro model simulating the human alimentary tract. *Food Technol. Biotechnol.* 2009; 42: 456-467.
5. *Elles M., Blaylock M.J., Huang J.W., Gussman C.D.*: Plants as a natural source of concentrated mineral nutritional supplements. *Food Chem.*, 2000; 71: 181-188.
6. *Gawlik-Dziki U., Świeca M.*: Sprouts of selected plants as a source of bioavailable antioxidants and lipoxigenase inhibitors. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Lublin – Polonia*, 2011; 18 (3) Sectio DDD: 67-79.
7. *Gawlik-Dziki U., Świeca M.*: Effect of various pH conditions simulated in vivo on the activity of lipophilic antioxidants isolated from selected spices. *Pol. Jour. Food Nutr. Sci.*, 2007; 57/3: 19-22.
8. *Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F.*: Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 3396–3402.
9. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.*: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999; 26, 9-10: 1231-1237.
10. *Guo J-T., Lee H-L., Chiang S-H., Lin H-L., Chang C-Y.*: Antioxidant properties of extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *J. Food Drug. Anal.* 2001; 9: 96-101.
11. *Groupy P., Vulcain E., Caris-Veyrat C., Dangles O.*: Dietary antioxidants as inhibitors of the heme-induced peroxidation of linoleic acid: Mechanism of action and synergism. *Free Radic. Biol. Med.*, 2007; 43: 933–943.
12. *Claiborne A.*: Catalase activity. In *CRC hand-book of methods for oxygen radical research*, Greenwald RA (ed.). CRC Press: Boca Raton, FL, 1985: 283-284.
13. *Beauchamp C., Fridovich I.*: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 1971; 44: 276-287.
14. *Juntachote T., Berghofer E.*: Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chem.* 2005; 92: 193–202.
15. *Sweeney A., Wyllie S.G., Shaliker R. A., Markhan J.L.*: Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 273-277.

Adres: 20-704 Lublin, ul. Skromna 8.

Praca finansowana w ramach projektu Nr N N312 233738

Work financed from the national budget for science in years 2010-2013 as the research project Nr N N312 233738