

## WPLYW TERMINU ZBIORU, BLANSZOWANIA I MROŻENIA NA ZAWARTOŚĆ FLAWONOIDÓW W BROKULACH

### EFFECT OF HARVEST TIME, BLANCHING AND FREEZING ON FLAVONOIDS CONTENT IN BROCCOLI

**Ryszard Kosson<sup>1</sup>, Magdalena Tuszyńska<sup>1</sup>, Paweł Szymczak<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Instytut Ogrodnictwa

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

<sup>2</sup>Primavega, Zdunowo

e-mail: Ryszard.Kosson@inhort.pl

#### Abstract

The effect of harvest time, blanching, freezing and long term storage of frozen broccoli on flavonoids content in broccoli florets was studied. Two broccoli cultivars Naxos F<sub>1</sub> and Chronos F<sub>1</sub> grown conventionally were used in the experiments. The small broccoli florets of 2 cm diameter were blanched in water of temperature 96-98 °C for 2,5 minutes, cooled in cold water and next packaged into nonperforated PE bags of 250 g capacity. Samples of broccoli were frozen at temperature -25 °C and next stored for 9 months in cold room at temperature -25 °C. Before flavonoid analysis of fresh and frozen broccoli were lyophilized and homogenized to receive a homogenous material. Analyses of flavonoids were performed for fresh broccoli, blanched and frozen material, as well as after 9 months of storage at -25 °C. Quercetin and kaempferol were found in fresh broccoli florets after harvest of both cultivars Naxos F<sub>1</sub> and Chronos F<sub>1</sub>. Total flavonoids content in fresh broccoli ranged between 205,0 mg·kg<sup>-1</sup> d.m. and 406,6 mg·kg<sup>-1</sup> d.m. After blanching quercetin content in broccoli has decreased by 46-91% and kaempferol by 58-75%. After storage of frozen broccoli for 9 months there was found 8,0-17,1 mg·kg<sup>-1</sup> d.m. of quercetin and 42,0-188,3 mg·kg<sup>-1</sup> d.m. of kaempferol.

Key words: broccoli, blanching, freezing, storage, flavonoids

#### WSTĘP

Warzywa są źródłem wielu związków biologicznie czynnych o oddziaływaniu prozdrowotnym, w tym związków polifenolowych z grupy flawonoidów. Udział flawonoidów w całkowitej zawartości polifenoli w warzywach według niektórych badań może wahać się od 51 do 79%. (Bahorun i in. 2004). Wśród warzyw, brokuły zostały uznane za szczególnie bogate źródło związków biologicznie czynnych, w tym polifenoli.

Głównymi związkami polifenolowymi brokułów są 3-soforozyd kwercetyny i 3-soforozyd kemferolu. Ponadto brokuły zawierają 3-glukozyd kwercetyny, 3,7-diglukozyd kemferolu oraz 3-glukozyd kemferolu (Price i in. 1998; Moreno i in. 2006). W warzywach występują również kwasy fenolowe, głównie kwasy hydroksycynamonowe, wśród których dominuje kwas chlorogenowy. Brokuły charakteryzują się dużą zawartością kwasu neochlorogenowego (kwas 3-kawoilochinowy), kwasu chlorogenowego oraz pochodnych kwasu synapowego. Do głównych związków fenolowych brokułów należy także zaliczyć 1,2-diferuloiloligencjobiozę (Vallejo i in. 2002, 2003).

Na zawartość związków polifenolowych w warzywach mają wpływ czynniki przedzbiorcze, uprawowe m.in.: warunki klimatyczne i agrotechniczne, stopień dojrzałości, czas zbioru, oraz postępowanie pozbiorcze, w tym warunki przechowywania i sposoby przetwarzania. Przetwórstwo warzyw niezależnie od zastosowanej technologii wpływa niekorzystnie na wartość odżywczą uzyskanego produktu. Procesom mycia, rozdrabniania, obróbki cieplnej i przechowywania towarzyszą procesy utleniania, degradacja termiczna lub wypłukiwanie składników (Hunter i Fletcher 2002). Wśród technologii przetwórczych zamrażanie należy do najbardziej skutecznych metod zachowania składników odżywczych warzyw, pozwala również na zachowanie wysokiej jakości sensorycznej wyjściowego surowca. Tradycyjne gotowanie w wodzie może intensyfikować niekorzystne zmiany w składzie chemicznym, które pojawiły się w trakcie produkcji i przechowywania mrożonych warzyw (Czarniecka-Skubina 2002).

Celem badań było określenie wpływu terminu zbioru brokułów oraz niektórych zabiegów przetwórczych na zawartość flawonoidów w różach brokułów.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były brokuły odmian Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub>, pochodzące z uprawy konwencjonalnej w 2011 roku w gruncie (Primavega, Zdunowo). Uprawa brokułów prowadzona była zgodnie z zasadami agrotechnicznymi, właściwymi dla tego gatunku. Zbiór brokułów był wykonany w optymalnej fazie dojrzałości zbiorczej róż, przy zachowaniu jednolitej wielkości roślin, wolnych od porażeń chorobowych i uszkodzeń mechanicznych. Bezpośrednio po zbiorze brokuły były „różyczkowane”, tj. dzielone na małe róży o średnicy 2 cm. Proces technologiczny mrożenia brokułów obejmował blanszowanie w wodzie w temp. 96-98 °C przez 2,5 minuty, schładzanie w zimnej wodzie, osuszanie oraz pakowanie

w opakowania jednostkowe (250 g) z litej folii polietylenowej. Próby mrożono w komorze zamrażalniczej w temperaturze  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  i następnie przechowywano w tej samej temperaturze przez okres do 9 miesięcy. Brokuły świeże, blanszowane i po przechowywaniu chłodniczym były liofilizowane, a następnie homogenizowane.

Badania obejmowały oznaczenie zawartości związków flawonoidowych w brokułach świeżych, blanszowanych oraz po 3-, 6- i 9-miesięcznym okresie przechowywania w stanie zamrożenia. Analizę flawonoidów prowadzono według częściowo zmodyfikowanych metod Croziera i in. (1997), Hertoga i in. (1992) oraz Gliszczyńskiej-Świągło i in. (2007).

Przed analizą chromatograficzną prowadzono ekstrakcję glikozydowych form flawonoidów w 62,5% metanolu z zastosowaniem łaźni ultradźwiękowej. Glikozydy flawonoidowe poddano następnie hydrolizie w roztworze 2M HCl, w temperaturze  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  przez 30 minut oraz przesączono przez filtr  $0,45\text{ }\mu\text{m}$ . Warunki analizy HPLC: chromatograf Agilent Technologies Series 1200, kolumny hplc Eclipse XDB z fazą stacjonarną typu RP-18 i fazą ruchomą o składzie metanol : woda (60 : 40, v/v) z dodatkiem 0,2% kwasu ortofosforowego. Prędkość przepływu fazy wynosiła  $1\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , temperatura kolumny  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , detektor DAD, długość fali detekcyjnej 370 nm.

## WYNIKI I DYSKUSJA

W świeżych brokułach obu odmian – Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub> – stwierdzono obecność glikozydów dwóch flawonoli – kwercetyny oraz kemferolu. Dominującym pod względem ilościowym w brokułach obu odmian jest kemferol, którego zawartość wynosiła od 236 do 321  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. Kwercetyna w porównaniu z kemferolem występuje w świeżych brokułach w kilkukrotnie niższym stężeniu. W odmianie Naxos F<sub>1</sub> stwierdzono jedynie jej śladowe ilości (tab. 1). Poziom zawartości tych flawonoidów zależy również od okresu uprawy i terminu zbioru brokułów w danym sezonie wegetacyjnym. W brokułach ‘Naxos F<sub>1</sub>’ uprawianych na wczesny zbiór (lipiec) stwierdzono około ośmiokrotnie więcej kwercetyny i dwukrotnie więcej kemferolu w porównaniu z brokułami uprawianymi na zbiór jesienny (wrzesień). W przypadku kemferolu w brokułach różnice w zawartości pomiędzy terminami zbioru są znacznie mniejsze. Sumaryczna zawartość flawonoidów jest wyższa dla zbioru wczesnego w brokułach odmiany Naxos F<sub>1</sub> (406,6  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m.), natomiast dla zbioru późniejszego jest wyższa w brokułach odmiany Chronos F<sub>1</sub> (205,0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m.). We wcześniejszych badaniach (Horbowicz i Babik 2005) stwierdzono również duże

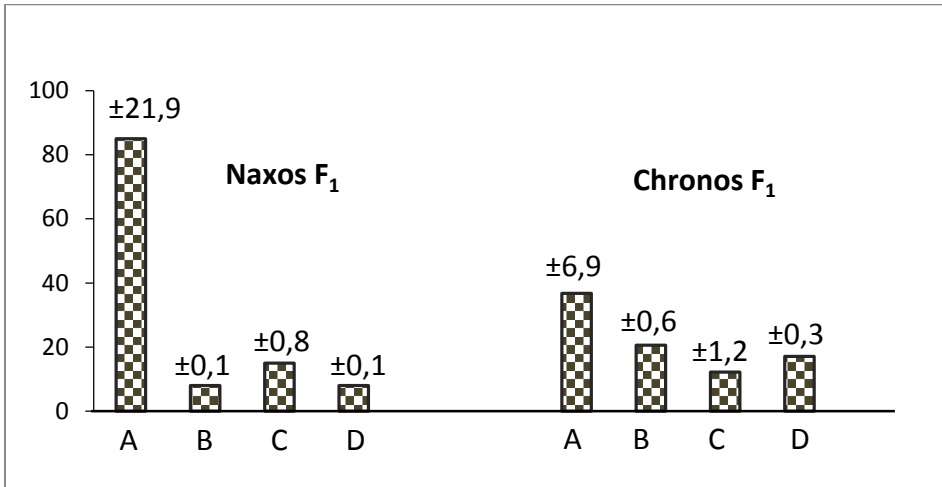
zróznicowanie międzyodmianowe w zawartości flawonoidów ogółem w brokułach. Spośród badanych 8 odmian najwyższe zawartości flawonoidów stwierdzono w odmianach Marathon i Lord, średnio wysokie w odmianach Milady i Lucky, a najniższe w odmianach Chevalier, Monaco, Griffen i Monopoly. Średnia zawartość flawonoidów w 8 badanych odmianach brokułów wynosiła 460-540 mg·kg<sup>-1</sup> s.m., zależnie od roku uprawy brokułów, co jest wartością zbliżoną do wyników badań własnych. Według bazy danych USDA (2006), opracowanej na podstawie wielu źródeł literaturowych, zawartość kwercetyny w świeżych brokułach wynosi 2,51 mg·100 g<sup>-1</sup> ś.w. (218,3 mg·kg<sup>-1</sup> s.m. – przy 11,5% zawartości suchej masy w brokułach) i może wahać się od 0 do 13,7 mg·100 g<sup>-1</sup> ś.m. (około 0-1191 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.). Natomiast zawartość kemferolu w świeżych brokułach wynosi 4,01 mg·kg<sup>-1</sup> świeżej masy (349 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.) przy wahaniach od 0 do 9,15 mg·100 g<sup>-1</sup> ś.m. (około 0-796 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.). W badaniach własnych stwierdzono również, że flawonoidy występują niemal wyłącznie w pąkach róż brokułu, natomiast w pędach są jedynie śladowe ilości tych składników (dane nie publikowane).

Tabela 1. Zawartość flawonoidów w świeżych różach brokułów w zależności od terminu zbioru odm. Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub>

Table 1. Flavonoids content in fresh broccoli florets cv. Naxos F<sub>1</sub> and Chronos F<sub>1</sub> depending on harvest time

Brokuł /Broccoli Odmiana/Cultivar		Kwercetyna Quercetin	Kemferol Kaempferol	Suma flawonoidów Total flavonoids
		mg·kg <sup>-1</sup> s.m./d.m.		
Naxos F <sub>1</sub>	zbiór wczesny/ early harvest (lipiec; July)	85,5 b	321,1 b	406,6 b
	zbiór późny/ late harvest (wrzesień; September)	9,8 a	156,7 a	166,5 a
Chronos F <sub>1</sub>	zbiór wczesny/ early harvest (lipiec; July)	<8,0	236,2 a	236,2 a
	zbiór późny/ late harvest (wrzesień; September)	<8,0	205,0 a	205,0 a

Wartości średnie w kolumnach dla poszczególnych odmian oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy p = 0,05, test t-Studenta; Mean values in columns for particular cultivar marked with the same letter do not differ significantly at p = 0,05, t-Student test

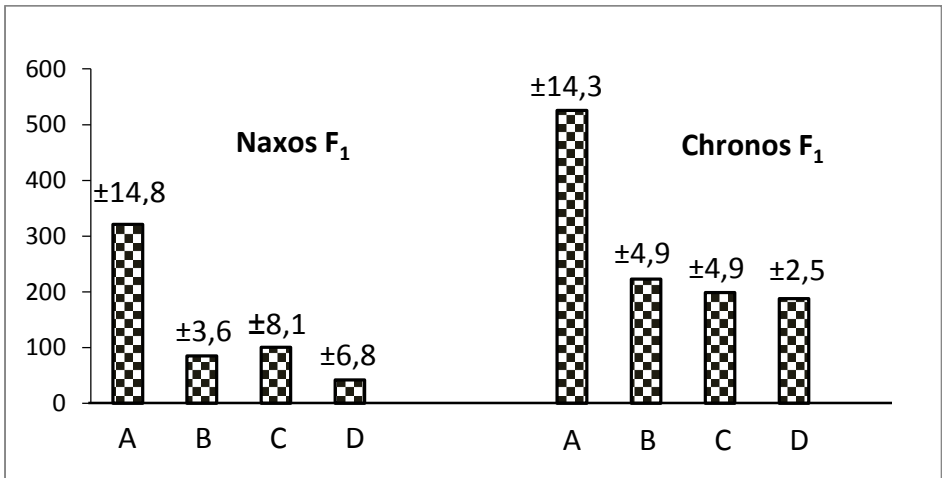


\*) wartości średnie ± odch.stand./mean values ± std.dev.

\*\*\*) **A** – brokuły świeże/fresh broccoli; **B** – blanszowane brokuły/blanched broccoli; **C** – mrożone brokuły/frozen broccoli (4 mies./months); **D** – mrożone brokuły/frozen broccoli (9 mies./months)

Rys. 1. Wpływ blanszowania i mrożenia na zawartość kwercetyny w brokułach odm. Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub> (mg·kg<sup>-1</sup> s.m.)

Fig. 1. Quercetin content in blanched and frozen broccoli cv. Naxos F<sub>1</sub> and Chronos F<sub>1</sub> (mg·kg<sup>-1</sup> d.m.)



Objaśnienia jak w rys. 1/explanation see Fig. 1

Rys. 2. Wpływ blanszowania i mrożenia na zawartość kemferolu w brokułach odm. Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub> (mg·kg<sup>-1</sup> s.m.)

Fig. 2. Kaempferol content in blanched and frozen broccoli cv. Naxos F<sub>1</sub> and Chronos F<sub>1</sub> (mg·kg<sup>-1</sup> d.m.)

Blanszowanie brokułów w wodzie wpływa na znaczny spadek zawartości flawonoidów. W zależności od odmiany straty kwercetyny wynoszą 46% ('Chronos F<sub>1</sub>') oraz 91% ('Naxos F<sub>1</sub>') – rys. 1 i 2. Straty kemferolu w wyniku blanszowania są również wysokie i wynoszą 75% w brokułach odmiany Naxos F<sub>1</sub> oraz 58% dla odmiany Chronos F<sub>1</sub>. Okres 9-miesięcznego składowania mrożonek nie spowodował dalszych zmian w zawartości kwercetyny w różach brokułów, zarówno dla odmiany Naxos F<sub>1</sub> jak i Chronos F<sub>1</sub> (rys. 1 i 2). Po okresie składowania zamrażalniczego notowano natomiast spadek o 50% zawartości kemferolu (w odniesieniu do brokułów blanszowanych przed zamrożeniem) u odmiany Naxos F<sub>1</sub> i o 16% u odmiany Chronos F<sub>1</sub>. Brokuły po 9-miesięcznym składowaniu zawierały od 8,0 do 17,1 mg kwercetyny i od 42,0 do 188,3 mg kemferolu w kg suchej masy. W odniesieniu do brokułów świeżych w końcowym produkcie po przechowaniu chłodniczym pozostało 12,3% początkowej zawartości kwercetyny i 36,5% kemferolu. W badaniach Puupponen-Pimiä (2003) zawartość kwercetyny w brokułach mrożonych wynosiła od 0,91 mg do 3,52 mg w 100 g świeżej masy (od 67,4 mg do 260,7 mg w kg suchej masy), a kemferolu od 0,96 mg do 3,27 mg w 100 g świeżej masy (od 77,1 mg do 242,2 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.). Z kolei, według badań Mullena i in. (2002), mrożenie nie miało wpływu na zawartość flawonoidów w malinach, w których zarówno przed mrożeniem, jak i po mrożeniu stwierdzono 22,3-27,0 nmol flawonoli w 1 g świeżej masy malin.

### WNIOSKI

W świeżych brokułach odmian Naxos F<sub>1</sub> i Chronos F<sub>1</sub> stwierdzono obecność glikozydów dwóch flawonoli kwercetyny i kemferolu. Dominującym pod względem ilościowym w brokułach obu odmian jest kemferol. Poziom zawartości tych flawonoidów zależał od okresu uprawy i terminu zbioru brokułów w danym sezonie wegetacyjnym. Blanszowanie brokułów w wodzie powodowało ubytki flawonoidów wynoszące od 21% do 75%, zależnie od odmiany brokułów i typu flawonoidu. W końcowym produkcie po przechowaniu chłodniczym stwierdzono 9,5-46,5% początkowej zawartości kwercetyny oraz 13,1-35,7% kemferolu.

### Literatura

- Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A., Aruoma O.I. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food Agr.* 84: 1553-1561.

- Czarniecka-Skubina E. 2002. Effect of the material form, storage and cooking methods on the quality of Brussels sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 11/52: 75-82.
- Crozier A., Lean M.E.J., McDonald M.S., Black C. 1997. Quantitative analysis of the flavonoids content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Food Chem.* 45: 590-595.
- Gliszczyńska-Swigo A., Kałużewicz A., Lemańska K., Knaflewski M., Tyrakowska B. 2007. The effect of solar radiation on the flavonol content in broccoli inflorescence. *Food Chem.* 100: 241-245.
- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Venema D.P. 1992. Optimization of quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agr. Food Chem.* 40: 1591-1598.
- Horbowicz M., Babik I. 2005. Sulforaphane and flavonoid contents in chosen broccoli cultivars. *Veget. Crops Res. Bull.* 62: 127-138
- Hunter K.J., Fletcher J.M. 2002. The antioxidant activity and composition of fresh, frozen, jarred and canned vegetables. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 3: 399-406.
- Moreno D.A., Carvajal M., Lopez-Berenguer C., Garcia-Viguera C. 2006. Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli. *J. Pharmaceut. Biomed.* 41: 1508-1522.
- Mullen W., Stewart A.J., Lean M.E.J., Gardner P., Duthie G.G., Crozier A. 2002. Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *J. Agr. Food Chem.* 50: 5197-5201.
- Price K.R., Casascelli F., Colquhoun I.J., Rhodes M.J.C. 1998. Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (*Brassica oleracea*) and their fate during cooking. *J. Sci. Food Agr.* 77: 468-472.
- Puupponen-Pimiä R., Häkkinen S. T., Aarni M., Suortti T., Lampi A-M., Eurola M., Piironen V., Nuutila A.M., Oksman-Caldentey K-M. 2003. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *J. Sci. Food Agr.* 83: 1389-1402.
- USDA 2006. Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. Release 2. Beltsville Human Nutrition Research Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, p. 29.
- Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C. 2002. Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *J. Sci. Food Agr.* 82: 1293-1297.
- Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C. 2003. Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. *J. Sci. Food Agr.* 83: 1511-1516.