

Beata Drużyńska, Katarzyna Stępień, Małgorzata Piecyk

WPLYW GOTOWANIA I MROŻENIA NA ZAWARTOŚĆ NIEKTÓRYCH SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH I ICH AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ W BROKUŁACH

Zakład Oceny Jakości Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

Celem pracy było oznaczenie zawartości niektórych składników bioaktywnych i ich właściwości przeciwutleniających w brokułach surowych oraz po procesie gotowania i mrożenia. W pracy oznaczono zawartość polifenoli ogółem, catechin, witaminy C i związków karotenoidowych ogółem. Właściwości przeciwutleniające badano metodą z wykorzystaniem stabilnych rodników DPPH[•] oraz metodą z użyciem kationorodników ABTS^{•+}. Określono także zdolność do chelatowania jonów żelaza (II). Stwierdzono, że największą zawartość polifenoli, catechin i karotenoidów oraz zdolność do zmiatania rodników DPPH[•] mają ekstrakty z brokułów surowych po procesie gotowania. Wszystkie preparaty wykazywały zdolności przeciwutleniające wobec syntetycznych rodników. Najlepsze właściwości przeciwutleniające posiadał ekstrakt z brokułów mrożonych. Największą zawartością witaminy C odznaczał się ekstrakt z brokułów surowych.

Hasła kluczowe: polifenole, właściwości przeciwutleniające, witamina C, karotenoidy, brokuły.

Key words: polyphenols, antioxidant properties, vitamin C, carotenoids, broccoli.

Niezaprzeczalnym osiągnięciem nauki w ostatnich latach jest uznanie sposobu żywienia za jeden z najważniejszych czynników decydujących o stanie zdrowia i występowaniu określonych chorób. Modyfikacja sposobu żywienia umożliwia także zapobieganie wielu schorzeniom. Coraz bardziej wzrasta zainteresowanie konsumentów i technologów żywności zagadnieniem bezpieczeństwa żywności, jakością sensoryczną i wartością odżywczą. Badania toksykologiczne i żywieniowe wskazują na toksyczną działalność niektórych syntetycznych przeciwutleniaczy stosowanych w żywności. Szkodliwość syntetycznych przeciwutleniaczy oraz udowodniona konieczność stosowania ich w produktach spożywczych, głównie w tłuszczach jadalnych, spowodowały, że konsumenci bardziej aprobują naturalne antyoksydanty, jako bezpieczniejsze od dodatków chemicznych. Takimi związkami są polifenole, witamina C i karotenoidy. Występują one w surowcach pochodzenia roślinnego i odznaczają się również wysoką skutecznością działania jak syntetyki (1).

W pracy oznaczono zawartość niektórych składników bioaktywnych i ich właściwości przeciwutleniające w brokułach. Brokuły zyskały aprobatę konsumentów

ze względu na wysoką wartość odżywczą, przypisywane im właściwości antykancerogenne, a także ze względu na niską cenę (2). Zaletą brokułów jest ich dostępność w sprzedaży przez cały rok, zarówno w formie świeżej, jak i mrożonej, dzięki czemu są wykorzystywane przez konsumenta w warunkach domowych, jak również na potrzeby zakładów gastronomicznych czy cateringu (1). Ponieważ brokuły są najczęściej spożywane po ugotowaniu, badania przeprowadzano na brokułach surowych, surowych po ugotowaniu, mrożonych i mrożonych po ugotowaniu. Podczas obróbki cieplnej zachodzą przemiany mające istotny wpływ na cechy organoleptyczne brokułów, zawartość związków bioaktywnych i w konsekwencji na właściwości przeciwutleniające.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym były ekstrakty uzyskane z brokułów: surowych, gotowanych, mrożonych, mrożonych gotowanych. Przedmiotem badań były brokuły dostępne powszechnie na rynku warzywnym. Rośliny gotowano sposobem tradycyjnym zachowując proporcję masy wody do masy warzywa, jak 1:1. Brokuły wkładano do wrzącej wody i gotowano do miękkości, tj. ok. 7 min. Warzywa mrożono w temp. -18°C przez 48 godz. Do mrożenia wykorzystano torebki na mrożonki z klipami o wymiarach 18×25 cm. Do badań używano brokuły po rozmrożeniu. Próbkę rozmrażano w woreczkach przez 1 godz. w temperaturze pokojowej.

Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów obejmowała określenie zawartości polifenoli ogółem metodą *Folina-Ciocalteu'a* (wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy) (3), katechin ogółem metodą wanilinową (wynik wyrażano w przeliczeniu na (-)epikatechinę) (4), karotenoidów ogółem (5) oraz witaminy C metodą spektrofotometryczną (6). Oznaczanie polifenoli ogółem, katechin i właściwości przeciwrodnikowych wykonywano w ekstraktach acetonowych (70% v/v, stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:10), karotenoidy ogółem w ekstraktach heksanowych (stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:10), natomiast do ekstrakcji witaminy C wykorzystywano roztwór ekstrahujący mieszaniny kwasu metafosforowego i octowego 1:2,5 (m/v), (stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:5).

Właściwości przeciwutleniające ekstraktów oznaczano przez pomiar ich zdolności do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH. Metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do metanolowego roztworu DPPH[•], który w formie rodnikowej wykazuje absorbcję przy 517 nm. Wartość tej absorbcji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego (7).

Przeciwrodnikowe właściwości ekstraktów oznaczano również, badając ich zdolności do dezaktywacji kationorodników ABTS^{•+} (8). Zasada metody polega na bezpośrednim generowaniu ABTS^{•+} w wyniku utleniania ABTS przez nadsiarczan potasu. Dodatek przeciwutleniacza powoduje redukcję ABTS^{•+} do ABTS i spadek intensywności zabarwienia roztworu rodników. Stopień redukcji ABTS^{•+} określany jest spektrofotometrycznie przy dł. fali 734 nm.

Badanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) przez związki zawarte w ekstraktach przeprowadzono dodając do roztworów chlorek żelaza(II) i ferrozynę. Ab-

sorbancję barwnego kompleksu mierzono po 10 min od dodania ferrozyny przy dł. fali 562 nm (9).

Wszystkie oznaczenia wykonywano w co najmniej trzech powtórzeniach. Wartości średnich i odchyłeń standardowych obliczano korzystając z programu Microsoft Office Excel 2003. Analizę statystyczną doświadczenia dwuczynnikowego oraz współczynniki korelacji wyliczano za pomocą programu STATGRAPHICS Plus 4.1.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Stwierdzono, że najwyższą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się ekstrakty z brokułów surowych po ugotowaniu (1,71 g/100 g s.m. brokułów). W ekstraktach z brokułów surowych zawartość tych związków była niższa (1,29 g/100 g s.m.). Najniższą zawartością tych związków odznaczały się ekstrakty z brokułów mrożonych (0,74 g/100 g s.m.).

Ekstrakty z brokułów mrożonych po ugotowaniu zawierały większe ilości związków fenolowych (1,30 g/100 g s.m.) niż ekstrakty z brokułów mrożonych (0,74 g/100 g s.m.). Podobną tendencję zaobserwowano w ekstraktach z brokułów nie poddawanych procesom zamrażania. Być może było to spowodowane większym rozdrobnieniem materiału badawczego w ekstraktach z gotowanych brokułów, a w konsekwencji skuteczniejszym wyekstrahowaniem polifenoli.

Tabela I. Zawartość polifenoli ogółem i katechin

Table I. Content of total polyphenols and catechins

Brokuły	Polifenole ogółem (mg/100 g s.m.)	Katechiny (mg/100 g s.m.)
Surowe	1,29 ($\pm 0,61$)	0,82 ($\pm 1,15$)
Gotowane	1,71 ($\pm 0,32$)	1,24 ($\pm 1,32$)
Mrożone	0,74 ($\pm 0,35$)	0,70 ($\pm 1,14$)
Gotowane po mrożeniu	1,30 ($\pm 0,64$)	1,10 ($\pm 1,07$)

Oznaczona w pracy zawartość polifenoli ogółem (tab. I) w ekstraktach z surowych brokułów jest taka sama jak wyniki uzyskane przez *Heimlera* i współpr. (2) i zbliżona do wyników otrzymanych przez *Turkmena* i współpr. (10), którzy podają ich zawartość na poziomie 1,20 g/100 g s.m. *Heimler* i współpr. (2) wykazali, że zawartość polifenoli w ekstraktach z brokułów gotowanych metodą konwencjonalną zmniejszyła się w stosunku do surowych z 1,2 g/100 g s.m. do 1,13 g/100 g s.m. *Borowski* i współpr. (11) zaobserwowali, że gotowanie brokułów w wodzie, spowodowało znaczące, ok. 12-krotne obniżenie koncentracji polifenoli, podając jako jedną z przyczyn migrację niektórych związków fenolowych do wody.

Porównywanie wyników z różnych doświadczeń stwarza wiele trudności. Wynika to z szerokiej możliwości doboru warunków prowadzenia procesu ekstrakcji oraz różnych metod oznaczania zawartości polifenoli ogółem. Stosowane są ekstrahenty

o odmiennym składzie i pH, proces ekstrakcji może zachodzić w różnej temperaturze i w różnym czasie, inny może być także stosunek – materiał roślinny: rozpuszczalnik. Odmienne wyniki uzyskane przez różnych badaczy mogą być też spowodowane samym materiałem doświadczalnym. Skład chemiczny świeżych warzyw zależy od wielu czynników, spośród których za najważniejsze uważa się przebieg pogody, odmianę, warunki uprawy, a wśród nich zwłaszcza nawożenie. Zmienność będąca następstwem tych czynników może sięgać w stosunku do średniej od –50% do +175% (12).

Uszeregowanie zawartości katechin w badanych ekstraktach jest analogiczne, jak w przypadku polifenoli ogółem (tab. I). Najwięcej katechin zawierał ekstrakt z brokułów surowych po ugotowaniu (1,24 g/100 g s.m.), najmniej ekstrakt z brokułów mrożonych (0,70 g/100 g s.m.). Zarówno w ekstraktach z brokułów surowych, jak i mrożonych zawartość katechin była niższa o ok. 0,4 g/100 g s.m. w porównaniu z ekstraktami z brokułów surowych i mrożonych po ugotowaniu, dlatego można wnioskować o lepszym wyekstrahowaniu katechin z próbek poddanych gotowaniu.

Przeprowadzona analiza wariancji (ANOVA) dla doświadczenia jednoczynnikowego (rodzaj brokułów występował na czterech poziomach zmienności) wykazała, że przeprowadzone procesy (gotowanie i mrożenie) mają istotny wpływ ($p < 0,0001$) na wydobycie polifenoli ogółem i katechin z brokułów na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Zastosowany test *Tukeya* HDS do podziału średnich na grupy jednorodnie wykazał, że ekstrakty z brokułów surowych i mrożonych po ugotowaniu mają istotnie podobną zawartość polifenoli. W przypadku katechin, test *Tukeya* HDS wskazał, że istotnie podobne zawartości katechin zawierały ekstrakty z brokułów mrożonych i surowych oraz ekstrakty z brokułów surowych i mrożonych po ugotowaniu. Zbadano również współzależność pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a zawartością katechin. Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że istnieje bardzo dobra dodatnia korelacja (współczynnik korelacji wyniósł 0,86) na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Tab e l a II. Zawartość karotenoidów ogółem i witaminy C

Tab l e II. Content of total carotenoids and vitamin C

Brokuły	Karotenoidy ogółem (mg/100 g s.m.)	Witamina C (mg/100 g s.m.)
Surowe	27,2 ($\pm 1,2$)	983,61 ($\pm 0,19$)
Gotowane	36,4 ($\pm 1,3$)	781,87 ($\pm 0,14$)
Mrożone	19,0 ($\pm 1,0$)	833,88 ($\pm 0,27$)
Gotowane po mrożeniu	34,7 ($\pm 1,7$)	521,08 ($\pm 0,24$)

Najwyższą zawartością karotenoidów odznaczały się ekstrakty z brokułów surowych po ugotowaniu (36,4 mg/100 g s.m.) i ekstraktów z brokułów mrożonych po ugotowaniu (34,7 mg/100 g s.m.) (tab. II). Najmniejszą zawartość karotenoidów oznaczono w ekstraktach z brokułów mrożonych (19,0 mg/100 g s.m.). Zawartość karotenoidów ogółem w ekstraktach z surowych brokułów wynosiła 27,2 mg/100 g s.m.

Wydaje się, że wzrost zawartości karotenoidów w ekstraktach z gotowanych brokułów może być spowodowany możliwością lepszego wyekstrahowania barwników z ugotowanej tkanki, gdzie struktura komórkowa uległa pełnej degradacji. Oznaczona w pracy zawartość karotenoidów ogółem jest zbliżona do wyników uzyskanych przez *Kmieciaka* i *Budnik* (12), którzy oznaczyli zawartość tych związków na poziomie 27 mg/100 g s.m. dla ekstraktu z brokułów surowych (w pracy zawartość karotenoidów ogółem w ekstraktach z surowych brokułów wynosiła 27,2 mg/100 g s.m.) i 34 mg/100 g s.m. dla ekstraktu z brokułów surowych po ugotowaniu. *Holden* i współpr. (13) zbadali zawartość dominujących karotenoidów występujących w brokułach: α -karotenu (0,001 mg/100 g w częściach jadalnych), β -karotenu (0,78 mg/100 g w częściach jadalnych) oraz luteiny i zeaksantyny (2,45 mg/100 g w częściach jadalnych). Po zsumowaniu i przeliczeniu na suchą masę uzyskano wynik zbliżony do wyniku otrzymanego w niniejszej pracy – 26,6 mg/100 g s.m. Po przeprowadzeniu analizy wariancji (ANOVA) dla doświadczenia jednoczynnikowego (gdzie czynnikiem jest rodzaj brokułów na czterech poziomach zmienności) na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ wykazano, że zawartość karotenoidów ogółem w brokułach jest zależna od procesów jakim zostały one poddane. Test *Tukeya* HSD wskazał na istotne różnice zawartości karotenoidów w ekstraktach z brokułów mrożonych i surowych po ugotowaniu.

Najwyższą zawartością witaminy C odznaczały się ekstrakty z brokułów surowych (119,41 mg/100 g świeżych brokułów), zaś najmniejszą ekstrakty z brokułów mrożonych po ugotowaniu (45,23 mg/100 g świeżych brokułów) (tab. II). Brokuły surowe po ugotowaniu zawierały jej 68,57 mg/100 g świeżych brokułów, zaś brokuły mrożone 86,64 mg/100g świeżych brokułów tab. III.

Tabela III. Aktywność ekstraktów wobec rodników DPPH[•] i ABTS^{•+} oraz zdolność do chelatowania jonów żelaza (II)

Table III. Antiradical activity toward DPPH[•] and ABTS^{•+} and iron ion chelating ability of broccoli extracts

Brokuły	Aktywność przeciwrodnikowa wobec rodników		Zdolność do chelatowania (%)
	DPPH [•] (%)	ABTS ^{•+} (%)	
Surowe	85,1 (±1,2)	18,1 (±0,9)	91,4 (±0,1)
Gotowane	87,1 (±1,7)	11,4 (±1,0)	79,4 (±0,1)
Mrożone	58,9 (±1,9)	32,5 (±0,8)	91,2 (±0,2)
Gotowane po mrożeniu	85,7 (±1,4)	16,4 (±1,1)	85,4 (±0,1)

Po przeprowadzeniu analizy regresji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ stwierdzono, że zawartość polifenoli i katechin wpływa na zdolność ekstraktów do dezaktywacji stabilnych rodników DPPH[•]. Istnieje bardzo dobra dodatnia korelacja (współczynnik korelacji wyniósł 0,89) pomiędzy zawartością polifenoli, a zdolnością do zmianowania rodników DPPH[•]. Obliczone współczynniki determinacji wskazują, że obecne w ekstraktach polifenole i katechiny w ok. 97% decydują o zdolności ekstraktów brokułów do zmianowania rodników DPPH[•].

W pracy zaobserwowano, że wszystkie ekstrakty odznaczają się zdolnością zmiatania syntetycznych kationorodników ABTS⁺ (tab. III). Najsilniejsze właściwości przeciwordnikowe w stosunku do rodników ABTS⁺ posiadał ekstrakt z brokułów mrożonych (32,55%). Ekstrakt z brokułów surowych zmiatał 18,13% rodników ABTS⁺. Najsłabszą zdolność zmiatania kationorodników ABTS⁺ wykazały ekstrakty z brokułów gotowanych, zarówno surowych, jak i mrożonych (procent zmiatanych kationorodników ABTS⁺ wynosił odpowiednio 11,45% i 16,37%). Dobre właściwości przeciwordnikowe ekstraktów brokułów być może wynikają z faktu, że jednym z głównych związków polifenolowych występujących w brokułach jest kwercetyna. Kwercetyna uważana jest za bardzo dobry zmiatacz kationorodników ABTS⁺ (20).

Ekstrakt z brokułów surowych po ugotowaniu, zawierający największe ilości katechin (1,24 g/100 g s.m.) odznaczał się najsłabszymi zdolnościami zmiatania rodników ABTS⁺ (11,45% zmiecionych rodników), natomiast ekstrakt z brokułów mrożonych posiadający najmniej katechin (0,70 g/100 g s.m.) najlepiej zmiatał rodniki ABTS⁺ (32,55% zmiecionych rodników).

Z przeprowadzonej analizy regresji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ wynika, że na zdolność do dezaktywacji kationorodników ABTS⁺ ma wpływ zawartość polifenoli ogółem, ale także samych katechin. Korelacje pomiędzy zawartością w ekstraktach polifenoli ogółem i katechin a zdolnością do zmiatania kationorodników ABTS⁺ są ujemne i wynoszą odpowiednio $-0,93$ i $-0,68$. Współczynniki determinacji pokazują, że polifenole i katechiny znajdujące się w ekstraktach w ok. 90% mają wpływ na zdolność ekstraktów brokułów do dezaktywacji kationorodników ABTS⁺.

Największą zdolność do chelatowania jonów żelaza wykazywały ekstrakty z surowych i mrożonych brokułów (% zchelatowanego żelaza wyniósł odpowiednio 91,43 i 91,21) (tab. III). Nieco mniejszą zdolność chelatowania jonów żelaza (II) miały ekstrakty z brokułów mrożonych po procesie gotowania (85,43%). W najmniejszym stopniu jony żelaza były wiązane przez ekstrakty z brokułów surowych po ugotowaniu (83,37% zchelatowanego żelaza). Ekstrakt z surowych brokułów odznaczał się dużą ilością polifenoli ogółem i katechin i to właśnie te związki wpływają na zdolności kompleksowania jonów metali przez ekstrakty brokułów. Podobne wyniki dla ekstraktów z brokułów surowych i gotowanych przedstawili *Lin* i *Chang* (21), odpowiednio 90% i 79% zchelatowanego żelaza. W pracy stwierdzono, że najsłabsze zdolności wiązania jonów żelaza (II) mają ekstrakty przygotowane z gotowanych brokułów. Wynika to głównie z mniejszej zawartości polifenoli po procesie gotowania. Znaczny spadek nastąpił zarówno po ugotowaniu surowych brokułów (z 91,43% w ekstraktach z surowych brokułów do 79,47% w ekstraktach z brokułów surowych po ugotowaniu), jak i mrożonych (z 91,21% w ekstraktach z brokułów mrożonych do 85,43% w ekstraktach z brokułów mrożonych po ugotowaniu). Ponieważ wyniki uzyskane w ekstraktach z brokułów surowych i mrożonych są bardzo zbliżone, można przypuszczać, że proces zamrażania nie wpływa na zdolności wiązania jonów metali przejściowych przez ekstrakty brokułów.

Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ wykazała istnienie ujemnej korelacji pomiędzy zawartością polifenoli i katechin a zdolnością do chelatowania jonów żelaza (II) i wynosiła ona odpowiednio $-0,80$ i $-0,90$.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych oznaczeń i otrzymanych wyników można sformułować następujące stwierdzenia i wnioski:

1. Najwyższą zawartość związków polifenolowych stwierdzono w ekstraktach z brokułów surowych po ugotowaniu. Najmniej tych związków zawierał ekstrakt z brokułów mrożonych. Również zawartość katechin była największa w ekstrakcie z brokułów surowych po ugotowaniu, a najmniejsza w ekstrakcie z brokułów mrożonych.

2. Ekstrakty z brokułów po ugotowaniu (surowe i mrożone) odznaczały się najwyższą zawartością związków karotenoidowych.

3. Witamina C w najwyższych ilościach występowała w preparatach z brokułów surowych. Jej zawartość była znacznie mniejsza w ekstraktach z brokułów po ugotowaniu. Proces zamrażania także przyczynił się do spadku witaminy C.

4. Wszystkie ekstrakty brokułów wykazały właściwości przeciwutleniające wobec stabilnych rodników DPPH^{*} i kationorodników ABTS⁺, a także zdolności chelatowania jonów żelaza (II). Zdolności do dezaktywacji rodników DPPH^{*} były istotnie skorelowane z zawartością polifenoli ogółem, katechin i związków karotenoidowych.

B. Drużyńska, K. Stępień, M. Piecyk

THE INFLUENCE OF COOKING AND FREEZING ON CONTENTS OF BIOACTIVE COMPONENTS
AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BROCCOLI

Summary

The aim of this research was to analyse the contents of some bioactive components and their antioxidant properties in raw broccoli and after boiling or freezing. Dry mass was determined in broccoli, while the contents of polyphenols, catechins, vitamin C and carotenoids were assayed in extracts of broccoli. The antioxidant properties of acetone extracts were determined by two methods: with DPPH^{*} radicals and ABTS⁺ cation radicals. The ability of extracts to chelate iron ions (II) was also investigated. Extracts from raw broccoli after boiling showed highest content of polyphenols, catechins and carotenoids, and strongest DPPH^{*} radicals scavenging activity. All extracts showed antioxidant properties toward synthetic radicals. Extract from frozen broccoli showed weakest antioxidant properties. Highest levels of vitamin C were detected in extracts from raw broccoli.

PIŚMIENNICTWO

1. Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1) i (2). Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2003; 5: 11-126, 6:29-30. – 2. Heimler D., Vignolini P., Dini M. G., Vincieri F. F., Romani A.: Antiradical activity and polyphenol composition of *Brassicaceae* edible varieties. Food Chem., 2006; 99: 464-469. – 3. Slinkard K., Singleton V.L.: Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Vitic., 1977; 28: 49-55. – 4. Swain T., Hillis W.: The phenolic constituents of *prunus domestica*. J. Sci. Food Agric., 1956; 1: 63-68. – 5. Sztangret J., Korzeniowska A., Niemirowicz-Szczyt K.: Ocena plonowania oraz zawartości suchej masy i związków karotenoidowych w nowych mieszańcach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.). Folia Hort, 2001;13: 37-43. – 6. AOAC, Official Method 984.26, 1990. – 7. Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N.: Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. J. Agric. Food Chem., 1999; 47: 425-431. – 8. Re R., Pellergrini N., Proleggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Rad. Biol. Med., 1999; 9-10: 1231-1237. – 9.

Lai L.S., Chou S.T., Chao W.W.: Studies on the Antioxidative Activities of Hsian-tsoa Leaf Gum. *J. Agric. Food Chem.*, 2001; 49: 963-968. – 10. *Turkmen N., Sari F., Velioglu Y.S.*: The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidants activity of selected green vegetables. *Food Chem.*, 2005; 93: 713-718.

11. *Borowski J., Borowska E. J., Szajdek A.*: Wpływ warunków obróbki cieplnej brokułów na zmiany polifenoli i zdolność zmiatania rodnika DPPH. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2005; 2: 125-131. – 12. *Kmieciak W., Budnik A.*: Wpływ dwóch sposobów gotowania brokuła na poziom wybranych wskaźników fizykochemicznych. *Brom. Chem. Toksykol.*, 1997; 4: 303-309. – 13. *Holden J.M., Eldridge A.L., Beecher G.R., Buzzard I.M., Bhagwat S., Davis C.S.*: Carotenoids content of U.S. food: An update of the database. *J. Food Comp. An.*, 1999; 12: 169-196. – 14. *Gębczyński P., Lisiewska Z.*: Comparison of the level of selected antioxidative compounds in frozen broccoli produced using traditional and modified methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2006; 7: 239-245. – 15. *Kurilich A.C., Tsau G.J., Brown A., Howard L., Klein B.P., Jeffery E.H.*: Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47: 1576-1581. – 16. *Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C.*: Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *J. Sci. Food Agric.*, 2002; 82: 1293-1297. – 17. *Zhang P., Omaye S. T.*: Antioxidant and prooxidant roles for beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid in human lung cells. *Toxicol. In Vitro*, 2001; 15: 13-24. – 18. *Czarniecka E., Kowalska K., Zalewski S.*: Effect of cooking methods on vitamin C, nitrates contents and sensory quality in Brussels sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1993; 2: 85-92. – 19. *Kaur C., Kapoor H.C.*: Antioxidants in fruits and vegetables – The millennium's Health. *Int. Jour. Food Sci. Tech*, 2001; 36: 703-725. – 20. *Pannala A.S., Chan T.S., O'Brien P., Rice-Evans C.A.*: Flavonoid B – Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001; 282: 1161-1168.

21. *Lin Ch.-H., Chang Ch.-Y.*: Textural change and antioxidant properties of broccoli under different cooking treatments. *Food Chem.*, 2005; 90: 9-15.

Adres: 02-767 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.