

Karolina Jakubczyk, Jagoda Łukasiak, Katarzyna Watychowicz, Aleksandra Kozińska, Agnieszka Łukomska, Jolanta Wolska, Katarzyna Janda

Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Praca nagrodzona podczas I Sympozjum Naukowo-Szkoleniowego kół naukowych ze Szczecina: INACZEJ WIDZIMY-INACZEJ PATRZYMY, czyli młody naukowiec we współczesnym świecie.

Właściwości antyoksydacyjne naparów kwiatów nasturcji większej

Antioxidant properties of infusion from Nasturtium flowers

Słowa kluczowe: nasturcja, *Tropaeolum majus*, polifenole, potencjał antyoksydacyjny, kwiaty
Key word: nasturtium, *Tropaeolum majus*, polyphenols, antioxidant status, flower

Streszczenie

Nasturcja większa (*Tropaeolum majus* L.) jest rośliną występującą w Europie, również w Polsce. Jej kwiaty charakteryzują się wysoką zawartością witamin, minerałów oraz związków bioaktywnych. Surowiec ten wykazuje właściwości przeciwskurczowe, antyseptyczne, wykrztuśne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne oraz antyoksydacyjne. Zawartość związków biologicznie czynnych, warunkujących właściwości prozdrowotne roślin, zależy od wielu czynników. Celem niniejszych badań było sprawdzenie wpływu temperatury przygotowywania naparów z kwiatów jadalnych na zawartość w nich polifenoli oraz ich potencjał antyoksydacyjny. Materiał badawczy stanowiły kwiaty nasturcji większej. Ze zliofilizowanego materiału roślinnego sporządzono napary w temperaturach: 25°C, 70°C, 80°C, 90°C. Zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjną naparów oznaczono metodą spektrofotometryczną. Wykazano, że zawartość polifenoli, jak i procent inhibicji DPPH był najwyższy w temperaturze 90°C. Ze względu na zawartość składników należących do grupy polifenoli oraz potencjał antyoksydacyjny naparów, kwiaty tej rośliny mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu oraz profilaktyce wielu chorób o podłożu wolnorodnikowym.

Abstract

Tropaeolum majus L. is a plant growing in Europe, including Poland. Nasturtium flowers are characterized by a high content of vitamins, minerals and bioactive compounds. The plant has antispasmodic, antiseptic, antibacterial, antifungal and antioxidant properties. The content of biologically active compounds and health benefits depend on many factors. The aim of the study was to examine the influence of the temperature of Nasturtium flowers'

infusions on the content of polyphenols and antioxidant properties. The research material consisted of nasturtium flowers. From the freeze-dried material of nasturtium, infusions were made at different temperatures (25°C, 70°C, 80°C, 90°C). The content of polyphenols and the antioxidant activity were labeled by spectrophotometric methods. The research showed that the polyphenol content and the percentage of inhibition of DPPH was the highest at 90°C. The content of polyphenols and antioxidant potential of infusions suggest that these flowers can be used in the treatment and prevention of many diseases.

Wstęp

Wolne rodniki tlenowe (ROS) syntetyzowane są w wyniku naturalnie zachodzących procesów w organizmie. Uczestniczą m.in. w oddychaniu tkankowym, skurczach mięśni, wydzielaniu hormonów, regulacji napięcia naczyniowego oraz w funkcjonowaniu układu obronnego [1,2,3]. Warunkują również aktywność bakteriobójczą i bakteriostatyczną oraz oddziałują na komórki sygnalizujące lub cząsteczki przekaźnikowe [1,2,3]. Pełnią więc istotne role w organizmie ludzkim, zapewniając mu prawidłowe funkcjonowanie.

Wiele czynników egzogennych powoduje nadmierną syntezę wolnych rodników tlenowych, co zwiększa ich ilość w komórkach. Do czynników zewnętrznych możemy zaliczyć: używki - palenie papierosów czy spożywanie alkoholu, nieprawidłową dietę, nadmierny wysiłek fizyczny, stres i brak odpoczynku, promieniowanie jonizujące oraz zanieczyszczenia środowiskowe [1]. W warunkach prawidłowych istnieje równowaga pomiędzy powstawaniem wolnych rodników a ich usuwaniem, jednak nadmierny wzrost wytwarzania wolnych rodników, zmniejszenie ilości antyoksydantów egzogennych oraz zmniejszenie aktywności systemów enzymatycznych odpowiedzialnych za ich usuwanie mogą prowadzić do zachwiania równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, wywołując tym samym stres oksydacyjny. Narządami szczególnie narażonymi na stres oksydacyjny są: układ oddechowy, układ krążenia, mózg i narząd wzroku. Następstwem stresu oksydacyjnego, przy braku sprawnie działających mechanizmów obronnych, jest uszkodzenie DNA prowadzące do powstawania mutacji, utlenianie błon komórkowych, zmiana struktury oraz modyfikacji funkcji białek, stany zapalne czy obumieranie komórek. Stres oksydacyjny leży u podłoża wielu chorób m.in. układu sercowo-naczyniowego, cukrzycy, chorób neurodegeneracyjnych np. choroby Parkinsona czy Alzheimera oraz procesów nowotworowych. ROS w istotny sposób przyczyniają się do przyspieszenia procesów starzenia oraz kumulacji produktów oksydacyjnych uszkodzeń [4,5].

W ustroju działanie wolnych rodników tlenowych jest równoważone przez antyoksydanty (przeciwutleniacze). To substancje, które już w niewielkich stężeniach hamują stopień oksydacji cząsteczek i powodują przekształcenie się rodników w nieaktywne pochodne. Do przeciwutleniaczy możemy zaliczyć

antyoksydanty endogenne oraz egzogenne. Do drugiej grupy tych związków należą przede wszystkim witaminy (A,C,E), związki polifenolowe czy karotenoidy, obecne w surowcach pochodzenia roślinnego [1]. Powstawanie stresu oksydacyjnego jest również odpowiedzią roślin na różne czynniki stresowe, dlatego też posiadają one systemy obronne w postaci naturalnych przeciwutleniaczy. Do największej grupy związków roślinnych mający działanie antyoksydacyjne należą polifenole. Związki polifenolowe, które występują w wielu surowcach roślinnych, w tym także w kwiatkach, to organiczne związki chemiczne. Wywierają korzystny wpływ na funkcjonowanie organizmu ludzkiego, wykazując m.in. działanie hipotensyjne, przeciwzapalne, antykarcenogenne czy neuroprotektoryjne, a przede wszystkim działanie antyoksydacyjne. Do związków polifenolowych możemy m.in. zaliczyć: pochodne kwasu benzoowego (np. kwas galusowy, waniliny), pochodne kwasu cynamonowego (np. kumarowy, kawowy) oraz flawonoidy (flawony i flawonole, np. kwercetynę, kemferol i mirycetynyrutynę; antocyjany, cyjaninę i malwinę; flawanony, np. hesperydynę i narynginę; flawany: katechiny, leuko – i proantocyjanidyny oraz izoflawony) [6,7,8].

Wykorzystywanie surowców roślinnych jako funkcjonalnych składników żywności, napojów i kosmetyków zyskuje coraz większe zainteresowanie zarówno wśród naukowców, konsumentów oraz producentów, a kwiaty jadalne stanowią cenne źródło substancji o działaniu prozdrowotnym.

Nasturcja większa (*Tropaeolum majus* L.) jest rośliną jednoroczną lub wieloletnią z rodziny nasturcjowatych (*Tropaeolaceae*) [9,10]. Rośnie dziko jako bylina w Ameryce Południowej, najczęściej w Ekwadorze i Peru [9,10]. Postać zdziczałą można również spotkać w cieplejszych krajach Europy [9]. W wielu krajach naszej szerokości geograficznej, również w Polsce występuje jako roślina jednoroczna, powszechnie uprawiana ze względu na walory dekoracyjne kwiatów [9,10,11,13]. Istnieje wiele form i odmian różniących się budową, wielkością oraz barwą kwiatów, np. odmiany krótkopędowe, długopędowe, pnące, częściowo płozące, rozłożyste i karłowate [9,12]. Nasturcja dobrze rośnie zarówno na stanowisku nasłonecznionym, jak i w lekkim cieniu [12]. Wymaga gleby lekkiej, średnio żyznej oraz średnio wilgotnej [9].

Kwiaty nasturcji większej to bogate źródło substancji bioaktywnych. Surowiec ten charakteryzuje się wysoką zawartością witaminy C, związków polifenolowych, karotenoidów, luteiny, kwasów organicznych oraz związków mineralnych (potasu, magnezu, fosforu oraz wapnia) [6,7,14-25]. Dzięki tym składnikom wykazuje właściwości przeciwskurczowe, antyseptyczne, wykrztuśne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne oraz antyoksydacyjne [17, 26-29]. Właściwości te znalazły zastosowanie w kosmetyce i w medycynie ludowej przy wspomaganiu leczenia chorób układu krążenia, pokarmowego, moczowego, skóry oraz włosów [17,26-29]. Surowcami, które można wykorzystywać są świeże liście i zamknięte pączki

kwiatowe oraz niedojrzałe, zielone nasiona, jak również ziele i kwiaty [10,13]. Z nasturcji, zarówno z suszu, jak i ze świeżych roślin, przygotowuje się wodne i etanolowe ekstrakty, syropy na bazie naparów i maceratów, spirytusy nasturcjowe i inne [17]. Stosuje się je w medycynie, w kosmetyce, jak również w kuchni [9,10,13].

Zawartość związków biologicznie czynnych warunkujących właściwości prozdrowotne surowca może zależeć od sposobu ich przygotowania. Dlatego też celem niniejszych badań było sprawdzenie wpływu temperatury przygotowywania naparów z kwiatów jadalnych na zawartość w nich polifenoli oraz potencjał antyoksydacyjny.

Materiał i metody

1.1 Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły płatki kwiatów jadalnych nasturcji większej, odmian o barwie żółtej, pomarańczowej oraz czerwonej, zebrane w pełni kwitnienia na terenach zielonych miasta Szczecin (ogrody działkowe, ogródki przydomowe). Oczyszczony surowiec roślinny został zamrożony w temperaturze -20°C , a następnie zliofilizowany w aparacie Alpha 1-2 LD plus (ciśnienie 0,735 mmHg, temperatura -20°C). Wysuszony materiał zhomogenizowano (homogenizator do analizy żywności Bakmixer MINI, MIXCC) i użyto do przygotowania naparów.

1.2 Przygotowanie naparów

Do kolby o pojemności 250ml naważono 0,5g suszonych kwiatów i zalewano 100ml destylowanej wody o temperaturze 25°C , 70°C , 80°C i 90°C . Zamkniętą korkiem kolbę wytrząsano (10 min., 180 rpm) w temperaturze pokojowej, po czym napar przesączano. Gotowy przesącz użyto do oznaczeń. Wykonano po 3 napary w każdej temperaturze. Przed przystąpieniem do analiz spektrofotometrycznych napary schładzano do temperatury około 25°C .

1.3 Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej naparów metodą spektrofotometryczną z rodnikiem DPPH

Do fiolki wprowadzano kolejno 2,9ml 96% etanolu, 1ml 0,3 M etanolowego roztworu DPPH oraz 0,1ml próby badanej (naparu). Sporządzony roztwór po wymieszaniu inkubowano przez 30 minut w ciemnym miejscu. W tym czasie sporządzono tak zwany roztwór A_0 mieszając 3ml 96% etanolu z 1ml 0,3 M roztworem DPPH. Przed przystąpieniem do pomiaru badanych próbek

skalibrowano spektrofotometr poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 518 nm referencyjnym roztworem 96% etanolu, a następnie wykonano pomiar wobec próby z roztworem A_0 . Przed pomiarem zawartość fiolki dokładnie mieszano, przelewano do kuwet i niezwłocznie dokonywano pomiaru widma absorbancji. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Oznaczenia aktywności przeciwutleniającej badanych naparów dokonano przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Agilent 8453.

Obliczanie wyników oznaczenia

Potencjał antyoksydacyjny (aktywność przeciwutleniająca, inhibicję) badanych roztworów wyrażono przez procent inhibicji DPPH. W tym celu z pomiarów uzyskanych z analiz spektrofotometrycznych wyznaczano średnią arytmetyczną, a następnie podstawiano wartości do wzoru:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{V_0 - V_{\text{sample}}}{V_0} 100$$

gdzie:

V_0 - pomiar absorbancji dla 518nm, mieszaniny kontrolnej,

V_{sample} - pomiar absorbancji dla 518nm, mieszaniny badanej.

Uzyskany wynik świadczy o zdolności badanych substancji do zmiatania wolnych rodników.

1.4 Oznaczenie całkowitej zawartości związków

polifenolowych w naparach metodą spektrofotometryczną

Do fiolki wprowadzano kolejno 5ml roztworu Folin – Ciocalteu oraz 1ml próby badanej (naparu). Próbę wytrząsano przez 5 min. a następnie dodano 4ml 7,5% Na_2CO_3 . Sporządzony roztwór po wymieszaniu inkubowano przez 60 minut w temperaturze pokojowej. Przed przystąpieniem do pomiaru badanych próbek skalibrowano spektrofotometr poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 765nm referencyjnym roztworem zawierającym 1ml wody destylowanej, 5ml roztworu Folin – Ciocalteu oraz 4ml 7,5% Na_2CO_3 , a następnie wykonano pomiar wobec próby z referencyjnej. Przed pomiarem zawartość fiolki dokładnie mieszano, przelewano do kuwet i niezwłocznie dokonywano pomiaru widma absorbancji. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Zawartość polifenoli podana jest w przeliczeniu na kwas galusowy. Oznaczenia aktywności przeciwutleniającej badanych naparów dokonano przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Agilent 8453.

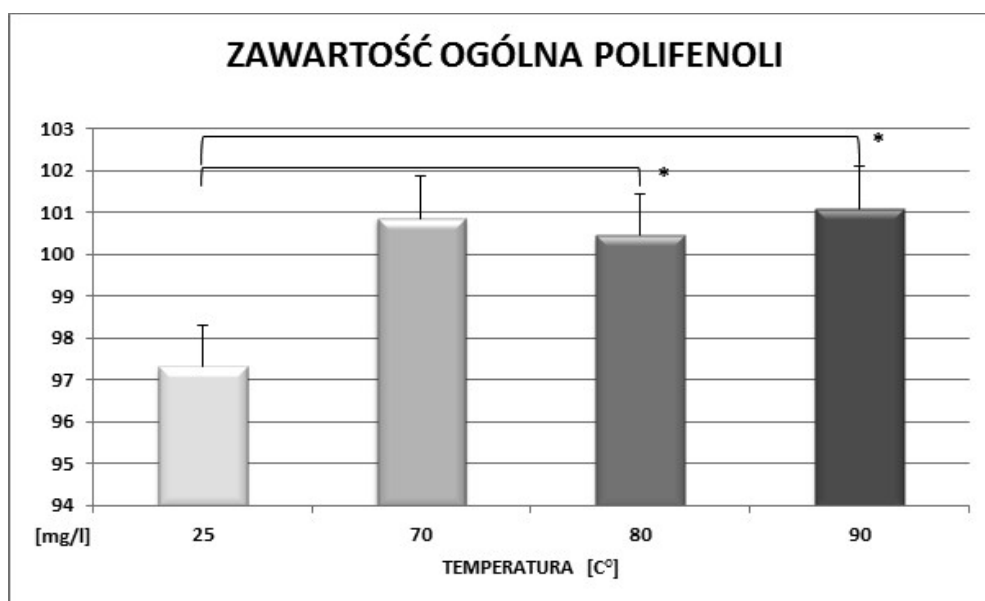
1.5 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 12,5 oraz Microsoft Excel 2007. Średnie arytmetyczne (AMS) i odchylenia standardowe AM (SDS) obliczono dla każdej badanej temperatury. Rozkład wyników zbadano testem Shapiro-Wilka. Ponieważ rozkład odbiegał od normy rozkładu Gaussa, dlatego do dalszych analiz wykorzystano testy nieparametryczne. Aby ocenić różnice pomiędzy badanymi parametrami w obrębie jednej grupy zastosowano test nieparametryczny Wilcoxon. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p \leq 0.05$.

Wyniki i dyskusja

Ogólna zawartość polifenoli

Najwyższą zawartość związków polifenolowych (101,1mg/l) wykazano w naparze o temperaturze 90°C, najniższą zaś (97,3mg/l) w naparach sporządzonych w temperaturze 25°C. Różnice między temperaturami były istotne statystycznie (Ryc. 1).



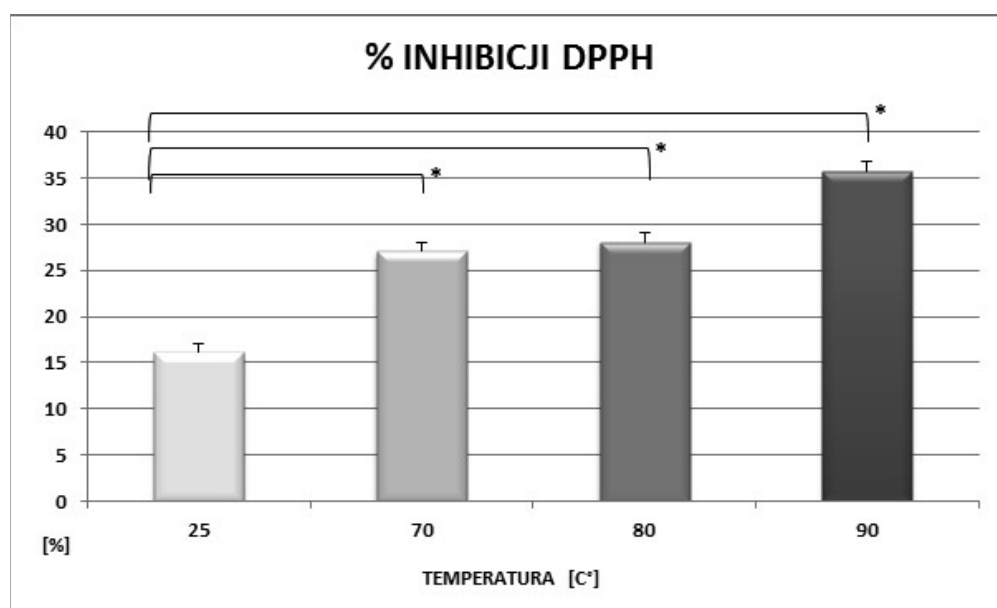
Ryc. 1. Ogólna zawartość polifenoli w naparach z kwiatów nasturcji większej * p value < 0,05

W dostępnych publikacjach naukowych wykazano, że zawartość antocyjanów (ACN), należących do polifenoli w zliofilizowanych płatkach kwiatów nasturcji wynosiła 72mg/100g. Zawartość antocyjanów oraz ich skład uzależniony jest od barwy kwiatów. Największą zawartość (114,5mg) oznaczono w płatkach o barwie czerwonej, pomarańczowej (58,2mg), najmniej (31,9mg) w żółtej [15]. W kwiatach o barwie czerwonej wykazano zawartość pochodnych mirycetyny

na poziomie 315,1mg ekwiwalentów mirycetyny/100g świeżej masy, natomiast w kwiatach pomarańczowych 1,21mg ekwiwalentów mirycetyny/100g świeżej masy, kemferolu 40,9mg w kwiatach czerwonych i 167mg w kwiatach pomarańczowych oraz kwercetyny odpowiednio 16,1mg oraz 9,7mg [15]. Najwyższą zawartość związków polifenolowych (flawonoidów) spośród trzech badanych kolorów kwiatów (czerwonych, pomarańczowych i żółtych) oznaczono w kwiatach czerwonych [15]. Związki polifenolowe zidentyfikowane w płatkach nasturcji to flawonoidy (flawonole i antocyjany): kwercetyna, mirycetyna, kemferol, pelargonidyna [6], delfinidyna, cyjanidyna [7], pochodne kwasu hydroksycynamonowego [6]. Całkowitą zawartość fenoli określoną metodą Folin-Ciocalteu oznaczono na poziomie 406mg/100g [7,15]. Wyniki badań własnych odbiegają od danych literaturowych. Różnice te mogą być uwarunkowane wieloma czynnikami. Ogólna ilość tych związków uzależniona jest od barwy płatków oraz metod przetworzenia surowca, jak również temperatury wody wykorzystanej do sporządzenia naparów. Czynniki te mają istotny wpływ na właściwości naparu z kwiatów, dlatego należałoby je uwzględnić przy wykorzystaniu tego surowca.

Aktywności przeciwutleniająca naparów

Najwyższą zdolność do zmiatania rodnika DPPH (36%) wykazał napar sporządzony w najwyższej temperaturze 90°C, podczas gdy pozostałe napary wykazały niższą zdolność do neutralizowania wolnych rodników (poniżej 30%). Różnice między temperaturami były istotne statystycznie, co przedstawiono na rycinie nr 2.



Ryc. 2. Właściwości antyoksydacyjne naparów z nasturcji większej * p value < 0,05

Właściwości antyoksydacyjne kwiatów nasturcji większej są związane ze zdolnością redukcji rodników, prawdopodobnie w reakcji przeniesienia wolnego elektronu [7, 30]. Roślina ta zawiera również wiele substancji biologicznych o właściwościach przeciwutleniających. Do substancji tych należą polifenole (m.in.: antocyjany, flawonoidy, flawonole), karotenoidy oraz witaminy np. witamina C [7,16]. Jednakże w przypadku większości surowców roślinnych mechanizm jest bardziej złożony i niejednoznaczny. Barwa kwiatów ma również istotny wpływ na ich właściwości antyoksydacyjne. Najwyższą zdolność do wymiatania wolnych rodników (ORAC) oznaczono w kwiatach czerwonych [15]. Związane jest to prawdopodobnie z największą zawartością w nich barwników o właściwościach antyoksydacyjnych [15].

W badaniach Garzóna wykazano, że aktywność zmiatania rodnika ABTS (458 μ m/g) przez kwiaty była około 5-krotnie wyższa, niż aktywność zmiatania rodnika DPPH (91,9 μ m/g) [15]. W kolejnym badaniu określono właściwości antyoksydacyjne metodą ORAC, która sprawdza zdolność do pochłaniania rodników tlenkowych. Udowodniono, że w kwiatach nasturcji wartość tak osiągnęła poziom 47,84 μ mol ekwiwaleńtrolox/g [6]. Zaobserwowane różnice wynikają z zastosowania różnych metod, zróżnicowanej obróbki surowca oraz koloru kwiatów.

W niniejszym badaniu wykazano, że temperatura ma istotny wpływ na właściwości przeciwutleniające naparów z kwiatów nasturcji. Może być to związane z lepszym uwalnianiem substancji biologicznie czynnych zawartych w płatkach kwiatów oraz ich łatwiejszym przechodzeniem do naparu przy wyższej temperaturze. Metoda DPPH jest powszechnie stosowana do oceny właściwości przeciwutleniających produktów naturalnych. Niemniej kontynuując tego rodzaju prace badawcze należałoby również rozważyć zastosowanie innych metod określania aktywności przeciwutleniającej w celu ujednoczenia wyników z dostępną literaturą.

Podsumowanie

Związki fenolowe są traktowane jako główne grupy związków, które przyczyniają się do aktywności antyoksydacyjnej warzyw, owoców, ziół i innych surowców pochodzenia roślinnego. Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszym badaniu wykazano, że właściwości antyoksydacyjne naparów z nasturcji zależą od temperatury naparów, dlatego też podczas ich sporządzania należałoby stosować temperaturę 90°C, gdyż w takich warunkach napary wykazywały najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne. Wyniki przeprowadzonych badań własnych sugerują także, że napary z kwiatów nasturcji większej są potencjalnym fitoterapeutykami, który może być dodatkowym, jednak nie jedynym źródłem przeciwutleniaczy w diecie. Ze względu na zawartość składników należących do grupy

polifenoli oraz potencjał antyoksydacyjny naparów, kwiaty tej rośliny mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu oraz profilaktyce wielu chorób, szczególnie o podłożu wolnorodnikowym.

Bibliografia:

1. Czajka A.: Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Now Lek.* 2006;75, 6: 582–586.
2. Pawliczak R.: Rola wolnych rodników tlenowych w zapaleniu. *Pol. Merk. Lek.* 2003;14: 493–6.
3. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu.* PWN, Warszawa 2003.
4. Augustyniak A., Skrzydlewska E.: Zdolności antyoksydacyjne w starzejącym się organizmie. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2004;58: 194–201.
5. Zabłocka A, Janusz M: Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postepy Hig Med Dosw.* 2008; 62: 118-124.
6. Navarro-González I., González-Barrio R., García-Valverde V., Bautista-Ortín A. B., Periago M. J.: Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterisation of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ. *Int J Mol Sci.* 2015; 16: 805-822.
7. Garzón G.A., Wrolstad R.E.: Major anthocyanins and antioxidant activity of *Nasturtium* flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chem.* 2009; 114:44-49.
8. Gheribi E.: Związki polifenolowe w owocach i warzywach. *Med Rodz.* 2011;4: 111-115.
9. Aszkiewicz E., Cis. J, Dawid-Pać R., Kozłowski J.A., Kuczyński S., Nowak G., Wielgosz T., Woźniak L.: *Zioła z apteki natury.* Publicat, Poznań 2007.
10. Lewkowicz-Mosiej T.: *Leksykon roślin leczniczych.* Świat Książki, Warszawa 2003.
11. Anioł-Kwiatkowski J., Berdowski W., Kwiatkowski S.: *Rośliny lecznicze atlas.* Wydawnictwo „Arkady”, Warszawa 1993.
12. Bremness L.: *Wielka księga ziół.* Wiedza i Życie, Warszawa 1991.
13. Ożarowski A., Rumińska A.: *Leksykon roślin leczniczych.* Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1990.
14. Rop O., Mlcek J., Jurikova T., Neugebauerova J., Vabkova J.: Edible Flowers-A New Promising Source of Mineral Elements in Human Nutrition. *Molecules* 2012; 17: 6672-6683.
15. Garzón G.A., Manns D.C., Riedl K., Schwartz S.J., Padilla-Zakour O.: Identification of phenolic compounds in petals of nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*) by high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry and determination of oxygen radical absorbance capacity (ORAC). *J Agric Food Chem.* 2015; 63(6): 1803-1811.
16. Niizu P.Y., Rodriguez-Amaya D.B.: Flowers and leaves of *Tropaeolum majus* L. as Rich Sources of Lutein. *J. Food Sci.* 2005; 70 (9): 605-609.
17. Parus A., Gryś A.: Roślina przyszłości- Nasturcja większa (*Tropaeolum majus* L.). *Post Fitoter.* 2012; 3: 184-187.
18. Medeiros J.M.R., Macedo M. , Contancia J.P. , Nguyen C. , Cunningham G. , Miles D. H.: Antithrombin activity of medicinal plants of the Azores. *J. Ethnopharmacol.* 2000; 72: 157-165.
19. Griffiths D. W., Deighton N., Birch A. N. E., Patrian B., Baur R., Städler E.: Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. *Phytochemistry* 2001; 57: 693-700.
20. Butnariu M., Bostan C.: Antimicrobial and anti-inflammatory activity of the volatile oil compounds from *Tropaeolum majus* L. (*Nasturtium*). *Afr. J. Biotechnol.* 2011; 10 (31): 5900-5909.
21. Radwan S.S.: Localization of lipids containing (Z)-11-eicosenoic acid and (Z)-13-docosenoic acid in *Tropaeolum majus*. *Phytochemistry* 1976; 15 (11): 1727-1729.

22. Carlson K.D., Kleiman R.: Chemical Survey and Erucic Acid Content of Commercial Varieties of *Nasturtium*, *Tropaeolum majus* L. *JAACS* 1993; 70 (11): 1145-1148.
23. Hoth A., Blaschek W., Franz G.: Xyloglucan (amyloid) formation in the cotyledons of *Tropaeolum majus* L. seeds. *Plant Cell Rep.* 1986; 5(1): 9-12.
24. Breme K., Tournayre P., Fernandez X., Meierhenrich U. J., Brevard H., Joulain D., Berdagué J.L.: Characterization of Volatile Compounds of Indian Cress Absolute by GC-Olfactometry/VIDEO-Sniff and Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *J Agric Food Chem.* 2010; 58 (1): 473-480.
25. Breme K., Guillamon N., Fernandez X., Tournayre P., Brevard H., Joulain D., Berdagué J. L., Meierhenrich U.J.: First Identification of O,S-Diethyl Thiocarbonate in Indian Cress Absolute and Odor Evaluation of Its Synthesized Homologues by GC-Sniffing. *J Agric Food Chem.* 2009; 57(6): 2503-2507.
26. Morski J. Adrenoleukodystrofia sprzężona z chromosomem X. Objawy, diagnostyka i leczenie oraz opis przypadku. *Neurol Dziec.* 2013; 44: 47-54.
27. Sharma Y., Hedge R.V., Venugopal C.K. Health and nutrition from ornamentals. *IJRAP* 2011; 2:375-382.
28. Różański H. *Tropaeolum majus* - nasturcja jako przyprawa i lek. *Medycyna dawna i współczesna* 2008.
29. Grzeszczuk M., Kawecka A., Jadczak D., Kwiaty jadalne *Nasturcja większa Tropaeolum majus* L. *Panacea* 2010; 2: 20-21.
30. Dejian, H., Boxin, O., Prior, R. L.: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 2005;53: 1841-1856.