

## Contenido de sulforafano (*1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano*) en vegetales crucíferos

*Olga N. Campas-Baypoli, Carolina Bueno-Solano, Diana M. Martínez-Ibarra, Francisco Camacho-Gil, Alma G. Villa-Lerma, Jesús R. Rodríguez-Núñez, Jaime López-Cervantes, Dalia I. Sánchez-Machado*

Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México

**RESUMEN.** El sulforafano es un isotiocianato con propiedades antimicrobianas y anticarcinogénicas, se encuentra en una amplia variedad de vegetales del género *Brassica oleracea*, considerándose las más importantes el brócoli y repollo. El objetivo de esta investigación fue cuantificar sulforafano en las partes comestibles de brócoli y en hojas de repollo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La preparación de la muestra para la cuantificación del sulforafano incluye la conversión de glucorafanina a sulforafano ( $45 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 2,5 h), extracción con diclorometano, purificación del extracto en columnas de extracción de fase sólida, y detección por HPLC-UV. En brócoli la concentración de sulforafano está en el rango de  $214 \mu\text{g/g}$  bs (tallos) a  $499 \mu\text{g/g}$  bs (inflorescencias). El repollo morado ( $101,99 \mu\text{g/g}$  bs) presentó valores mayores de sulforafano que el repollo verde ( $7,58 \mu\text{g/g}$  bs). Las inflorescencias de brócoli y las hojas de repollo morado son ricos en sulforafano.  
**Palabras clave:** Sulforafano, glucorafanina, brócoli, repollo, HPLC.

**SUMMARY.** Sulforaphane (*1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)-butane*) content in cruciferous vegetables. Sulforaphane is an isothiocyanate which has antimicrobial and anticarcinogenic properties, this compound is found in a wide variety of plants from genus *Brassica oleracea*, being the most important broccoli and cabbage. The objective of this research was to quantify sulforaphane in the edible parts of broccoli and cabbage leaves by high-performance liquid chromatography (HPLC). Sample preparation for the quantification of sulforaphane include the conversion of glucoraphanin to sulforaphane ( $45 \pm 2^\circ\text{C}$  for 2.5 h), extracted with dichloromethane, purification of the extract in columns of solid phase extraction and detection by HPLC-UV. Sulforaphane concentration in broccoli is in the range of  $214 \mu\text{g/g}$  DW (stems) to  $499 \mu\text{g/g}$  DW (inflorescences). The purple cabbage ( $101.99 \mu\text{g/g}$  DW) has values greater than the green cabbage ( $7.58 \mu\text{g/g}$  DW). The inflorescences of broccoli and red cabbage leaves are rich in sulforaphane.  
**Key words:** Sulforaphane, glucoraphanin, broccoli, cabbage, HPLC.

### INTRODUCCION

Las plantas del orden *Brassicales* y de la familia *Cruciferae* o *Brassicaceae* comprenden alrededor de 350 géneros y más de 2000 especies, entre ellas se incluyen algunas plantas de interés comercial como la col (repollo), coliflor, coles de Bruselas y brócoli (1). Otros cultivos de esta familia son los rábanos, mostaza silvestre y numerosas hierbas de jardín (2), los cuales se utilizan para preparar condimentos o guarniciones, pero su aportación de nutrientes a la dieta es mínima. En cambio las crucíferas que se consumen como verduras son una fuente concentrada de nutrientes como vitaminas, minerales, fibra dietética, además de sustancias quimioprotectoras como los glucosinolatos y flavonoides (3,4).

Una característica de las plantas crucíferas es la síntesis de compuestos ricos en azufre, como los glucosinolatos (5).

Estos vegetales y algunas plantas comestibles del orden *Caparrales* son la fuente de todos los glucosinolatos de la dieta humana. Se han identificado más de 100 compuestos diferentes, los cuales se encuentran distribuidos en toda la planta, aunque su concentración depende del tipo de tejido (6). Los glucosinolatos se clasifican como S-glucósidos, ya que son el resultado del enlace de un azúcar reductor y el azufre de una molécula que no tiene carácter de hidrato de carbono (conocida como aglucona), estos compuestos son no volátiles y carecen de fragancia (7). Los glucosinolatos se sintetizan y almacenan en las plantas como precursores relativamente estables de los isotiocianatos. Los glucosinolatos son solubles en agua debido a que la molécula de glucosa imparte características hidrofílicas a diferencia de los isotiocianatos que presentan propiedades hidrofóbicas (8).

Los glucosinolatos se hidrolizan cuando el tejido del vegetal se rompe a consecuencia de un daño mecánico, entonces la enzima tioglucosidasa (E.C. 3.2.3.1.) o mirosinasa se pone en contacto con el sustrato y libera moléculas de glucosa, de bisulfato y de la correspondiente aglucona; posteriormente, esta última experimenta un acomodo

---

Esta investigación forma parte del proyecto no. 66073 financiado con Fondos Mixtos del Gobierno del Estado de Sonora y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (FOMIX-CONACYT) en colaboración con el Sr. Antonio Gándara Astiazarán.

intramolecular que genera isotiocianatos, nitrilos, metilisotiocianatos, metilnitrilos y tiocianatos (todos de bajo peso molecular), los cuales son responsables del aroma y olor típico de estos productos (9,10). Los glucosinolatos intactos tienen actividad biológica limitada, pero aumentan su actividad cuando son hidrolizados a isotiocianatos (5).

El brócoli es la principal fuente natural del isotiocianato sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano), su precursor glucorafanina constituye más del 80 % de los glucosinolatos totales presentes en este vegetal (11). Las prácticas de cultivo, condiciones de almacenamiento y la preparación del alimento tienen un impacto potencial en el contenido de glucosinolatos. Por ello, estos factores pueden cambiar la proporción de formación del sulforafano en brócoli. También se ha reportado que el pH durante la hidrólisis tiene influencia en la actividad de la mirosinasa y en la cantidad de sulforafano nitrilo formado durante el rompimiento del tejido del brócoli (12). El sulforafano se considera un potente inductor de la detoxificación de sustancias potencialmente carcinogénicas (13,14), debido a que aumentan su solubilidad lo cual facilita su excreción (15). Este compuesto ha comprobado ser una poderosa estrategia en contra del proceso de carcinogénesis, mutagénesis y otras formas reactivas del oxígeno (16).

Actualmente los métodos cromatográficos son utilizados para la cuantificación de sulforafano, entre los cuales destacan la cromatografía de gases (CG) y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). La utilización de HPLC presenta ventajas en cuanto a su sensibilidad, su fácil adaptación, su capacidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles (17,18). El sulforafano se ha cuantificado por HPLC en germinados de semillas de brócoli (19), en extractos de semillas de brócoli (20), en brócoli y repollo frescos (21), los métodos publicados presentan variaciones importantes en la conversión de glucorafanina a sulforafano, además utilizan altos volúmenes de solventes para la extracción del analito. En el presente trabajo se realizó la cuantificación de sulforafano por HPLC en brócoli y repollo frescos recolectados en el comercio local. También se comparó el contenido de sulforafano en las diversas partes del brócoli, y en repollos verdes y morados.

## MATERIALES Y METODOS

### Estándar y reactivos

El estándar de sulforafano y acetonitrilo grado HPLC fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). El diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) y metanol grado HPLC fueron de EMD Chemicals Inc. (Darmstadt, Germany). El acetato de etilo y las columnas de 3 ml Bakerbond SPE silica gel (SiOH) se adquirieron en J.T. Baker S.A. (Xalostoc, México). El ácido clorhídrico fue de Productos Químicos Monterrey (Monterrey, Nuevo León México). El pH del agua ácida se ajustó utilizando

una solución de ácido clorhídrico 0.1 N

### Material vegetal

Se utilizaron muestras frescas de brócoli (*Brassica oleracea L. var. italica*) y repollos verdes y morados (*Brassica oleracea L. var. capitata*) procedentes del mercado de abasto de Cd. Obregón, Sonora, México. Todas las muestras se lavaron con agua corriente para eliminar las partículas de tierra, se eliminó el exceso de humedad y se procedió a su preparación. De las cabezas de brócoli se separaron las inflorescencias, hojas y tallos, y de los repollos fueron separadas hojas externas e internas. Todas las muestras se trituraron y homogenizaron utilizando una batidora de inmersión (Oster, modelo 2616, Sunbeam Mexicana) y después se maceraron en un mortero, finalmente se realizó la extracción del sulforafano.

### Determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó por secado en estufa de convección a 70 °C hasta peso constante (22). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado en las muestras trituradas.

### Preparación de las muestras

**Conversión de glucorafanina a sulforafano.** Se pesaron las muestras (1 g de brócoli ó 4 g de hojas de repollo) en vasos de precipitados de 50 ml, se adicionaron 4 ml de agua ácida, y se incubaron a  $45 \pm 2^\circ\text{C}$  en baño de agua durante 2,5 horas. Al final de la incubación debe asegurarse la eliminación del agua (se evaporó hasta aproximadamente el 70% del peso inicial de la muestra-agua ácida).

**Extracción de sulforafano con diclorometano.** El sulforafano fue extraído del residuo utilizando 20 ml de diclorometano por sonicación durante 1 minuto; después se reposó 1 hora a 25 °C. El extracto se filtró en papel Whatman No.41, realizando 2 lavados con 3 ml de diclorometano.

**Purificación en columna SPE.** El extracto orgánico obtenido en la etapa anterior se purificó en un cartucho de 3 ml SPE (SiOH) de acuerdo al método de Bertelli et al (23). El cartucho se activó pasando 3 ml de diclorometano, luego se pasó todo el extracto orgánico. A continuación se enjuagó el cartucho con 3 ml de acetato de etilo para eliminar las impurezas. Para eluir el sulforafano se pasaron 3 ml de metanol. La solución colectada se secó en estufa de vacío a 45 °C (se requirieron en aproximadamente 2 horas). El residuo se disolvió con 2 ml de acetonitrilo por sonicación durante 30 segundos, y el extracto se filtró a través de una membrana de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$ . Finalmente, se inyectaron 20  $\mu\text{l}$  en la columna del HPLC.

### Equipo y condiciones cromatográficas

Se utilizó un sistema HPLC (GBC, Dandenog, Australia) equipado con autoinyector LC1650, desgasificador de solventes en línea LC1460, software para el análisis de los datos WinChrom, bomba LC1150, termostato para columna LC1150, detector de arreglo de diodos LC5100 y una columna analítica (250 mm X4,6 mm d.i.) SS-Exil ODS C18 con un tamaño de partícula de 5 µm (SGE, Dandenong, Victoria, Australia). Las condiciones HPLC fueron las siguientes: fase móvil acetronitrilo:agua en proporción 30:70 (v/v). La velocidad del flujo fue constante a 0.6 ml/min y la temperatura de la columna fue de 36°C. La detección se realizó por ultravioleta a 202 nm. Se utilizó un gradiente isocrático, el tiempo total entre inyecciones fue de 20 min.

### Análisis estadístico

Los datos se expresaron como la media ± DS (desviación estándar). Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 11.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL).

## RESULTADOS

### Identificación y cuantificación de sulforafano

La identificación del sulforafano se realizó comparando los tiempos de retención del pico del estándar de sulforafano y con el de la muestra, así como a su espectro UV obtenido de un barrido de longitudes de onda ( $\lambda$ ) de 190 a 300 nm, considerándose la  $\lambda$  de 202 nm como la óptima para registrar las áreas de los picos. La curva de calibración se generó a partir de seis concentraciones diferentes del estándar de sulforafano en el rango de 4 a 64 µg/ml. La ecuación obtenida al graficar la concentración y el área de los picos ( $y = 72443,2x - 9072,6$ ) presenta una adecuada relación entre las variables de la curva expresada como coeficiente de determinación ( $r^2 = 1$ ). Durante el análisis de las muestras simultáneamente se analizó un estándar de sulforafano.

### Contenido de humedad

En la Tabla 1 se presenta el contenido de humedad para las muestras de brócoli y repollo crudos. Estos vegetales presentaron elevado contenido de agua, con un rango de 85,42 a 91,44 g/100 g. En general, las inflorescencias presentaron los niveles más bajos de humedad.

### Contenido de sulforafano en brócoli

En la Tabla 2 se presenta el contenido de sulforafano en las muestras de inflorescencias, tallos, hojas y cabeza entera de brócoli, la cabeza entera fue una mezcla de las tres fracciones anteriores. Los valores promedio varían de 499 (inflorescencias) a 214 µg/g bs (tallos). La cabeza entera presentó un contenido promedio de 246,21 µg/g bs de sulforafano. En general el contenido de sulforafano es muy

variable entre las fracciones de brócoli analizadas aun cuando todas las muestras fueron compradas el mismo día en un sitio de venta seleccionado con la finalidad de asegurar, en lo posible, condiciones semejantes de manipulación y anaquel. Solo una cabeza de brócoli presentó contenido bajo de sulforafano en todas las fracciones con un rango entre 108,82 µg/g bs a 239,04 µg/g bs, lo cual se podría atribuir a que esta muestra mostró mayor madurez y ligeros signos de flacidez.

TABLA 1  
Contenido de humedad de brócoli y repollo

Muestra	Humedad (g /100 g)
Brócoli:	
Inflorescencia	85,42 ± 0,87
Tallo	91,44 ± 0,48
Hoja	88,35 ± 0,44
Integral	90,10 ± 1,00
Repollo:	
Morado	91,37 ± 0,62
Verde	91,40 ± 1,85

TABLA 2  
Contenido de sulforafano (µg/g peso seco) en brócoli

Cabeza	Inflorescencia	Tallo	Hoja	Cabeza entera
1	448,35	250,58	313,91	195,30
2	513,69	202,33	495,86	267,28
3	218,93	154,43	239,04	108,82
4	634,02	234,62	430,71	297,68
5	683,27	231,82	437,50	359,02
Promedio	499,65 ± 183	214,75 ± 38	383,40 ± 104	246,21 ± 97

### Contenido de sulforafano en repollo morado y verde

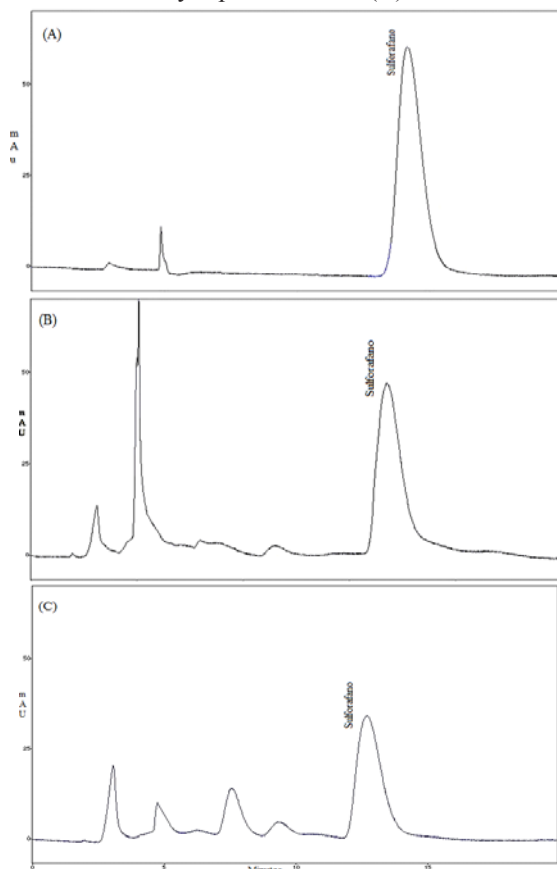
Para cuantificar sulforafano en estos vegetales se realizaron ensayos preliminares para optimizar el tamaño de muestra, además previamente al análisis las cabezas de repollo fueron clasificadas por su tamaño (muestra 1, diámetro menor y muestra 5, diámetro mayor). En la Tabla 3 se muestra el contenido de sulforafano en repollo verde y morado. Se puede observar que el repollo morado contiene en promedio aproximadamente 13 veces más sulforafano que el repollo verde. Además, la concentración varía entre las hojas internas y externas, para ambos tipos de repollo. En la muestra de mayor diámetro del repollo verde no se detectó sulforafano, lo cual podría estar relacionado con el grado de madurez del vegetal.

TABLA 3  
Contenido de sulforafano ( $\mu\text{g/g}$  peso seco) en repollo

Cabeza	Repollo morado		Repollo verde	
	Hojas Internas	Hojas externas	Hojas Internas	Hojas externas
1	65,17	71,17	9,90	18,45
2	99,30	139,28	7,11	2,57
3	170,51	97,67	8,27	5,92
4	60,39	97,08	5,82	2,94
5	114,62	119,62	No detectado	No detectado
Promedio	101,99 $\pm$ 44	104,96 $\pm$ 26	7,78 $\pm$ 1,7	7,47 $\pm$ 7,5

En la Figura 1 se presentan los cromatogramas obtenidos de la solución estándar de sulforafano, una muestra de inflorescencias de brócoli y una de repollo. Además, es importante mencionar que en el presente trabajo se realizaron ensayos para cuantificar sulforafano en coliflor (*Brassica oleracea L. var. botrytis*), sin embargo en las muestras analizadas no se logró detectar el compuesto.

FIGURA 1  
Cromatogramas HPLC de la solución estándar de sulforafano (A), inflorescencias de brócoli (B) y repollo morado (C)



## DISCUSION

Los resultados de humedad obtenidos para todas las fracciones analizadas (brócoli y repollo) son similares a los reportados en la base de datos de la USDA (24). Por su alto contenido de humedad el brócoli y repollo son alimentos perecederos, característica que favorece el desarrollo de microorganismos, las reacciones de oxidación (enzimáticas y no enzimáticas) afectando la calidad nutricional y organoléptica en periodos cortos (3).

El brócoli es la principal fuente natural de sulforafano, su precursor glucorafanina constituye entre el 81-88 % de los glucosinolatos totales de este vegetal (11). Se ha reportado que entre las diferentes partes de la planta existen variaciones en el contenido de glucosinolatos (precursores de los isotiocianatos) dependiendo del tejido analizado (6,21), esto se observó en las fracciones de brócoli analizadas. Chiang et al (25) cuantificaron sulforafano por cromatografía de gases en diferentes variedades de brócoli encontrando un rango de 1885 a 3703  $\mu\text{g/g}$  base seca, estos resultados son de 4 a 7 veces más altos que los obtenidos en el presente estudio, lo cual puede atribuirse a variaciones intrínsecas de la muestra (brócoli recolectado en el campo) y del método utilizado para la determinación. Respecto a la cuantificación de sulforafano en brócoli fresco por HPLC los resultados obtenidos en el presente estudio son mayores (comparación en peso fresco) a los reportados por Bertelli et al (23) y Liang et al (21). Asimismo, Nakawaga et al (19) reportaron resultados similares a los obtenidos en el presente estudio en brócoli maduro (inflorescencias, 691  $\mu\text{g/g}$  base seca). En general, las diferencias obtenidas en la concentración de sulforafano en este estudio respecto a los valores reportados por otros autores, se pueden deber principalmente a factores como la variedad, condiciones de cultivo, clima, prácticas agronómicas, condiciones de manejo y almacenamiento postcosecha los cuales son determinantes en la concentración de glucosinolatos/isotiocianatos en los vegetales (11,26,27).

Es importante mencionar que existen diferencias en el perfil de glucosinolatos entre las plantas de la familia de las crucíferas, incluso entre las que pertenecen a la misma variedad. Oerlemans et al (28) reportaron en repollo morado al precursor de sulforafano (glucorafanina) como el glucosinolato predominante en este vegetal, a esto se pueden atribuir las concentraciones más altas encontradas en repollo morado en este estudio. En el caso del repollo blanco Fuller et al (29) encontró que la sinigrina (precursor del alilisotiocianato) es el glucosinolato más abundante y en el menor nivel la glucorafanina (precursor del sulforafano). Además Liang et al (21) estudiaron el contenido de sulforafano en diferentes variedades de repollo encontrando valores de 0.7 a 5.3  $\mu\text{g/g}$  base húmeda, estos valores son mayores que los obtenidos en este estudio en repollo verde y menores a los

valores de repollo morado. Las variaciones encontradas en el contenido de sulforafano en repollo respecto a los reportados en otras investigaciones pueden deberse a variabilidad en las muestras, así como del método experimental utilizado.

### CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio demuestran que el contenido de sulforafano en los vegetales de la familia de las crucíferas, tales como el brócoli y repollo frescos, es variable con relación a la parte de la planta analizada, la madurez y las características intrínsecas del vegetal. Las inflorescencias son la principal fuente de sulforafano en brócoli, mientras que el repollo morado presentó niveles significativos de sulforafano considerando que este vegetal generalmente se consume sin cocción. Por lo anterior, se recomienda el consumo de las partes comestibles del brócoli y repollo morado en su forma fresca, con la finalidad de aprovechar las propiedades quimioprotectoras del fitoquímico sulforafano.

### AGRADECIMIENTOS

Esta investigación forma parte del proyecto no. 66073 financiado con Fondos Mixtos del Gobierno del Estado de Sonora y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (FOMIX-CONACYT) en colaboración con el Sr. Antonio Gándara Astiazarán.

### REFERENCIAS

- Ornoz M, Roaro D, Rodríguez I. Tratado elemental de Botánica. 15ta ed. México DF: Ed. ECLALSA; 1983. p. 663-664.
- Rost T, Barbour M, Thornton R, Weier T, Stocking C. Botánica, introducción a la biología vegetal. 2da ed. México DF: LIMUSA; 1985. p. 385.
- Delaquis P, Mazza G. Productos funcionales en las verduras. En: Mazza, G. Alimentos funcionales aspectos bioquímicos y de procesado. 2nd ed. Zaragoza, España: Acirbia SA; 2000. p. 200-204
- Arala LH, Clavijo RC, Herrera C. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. ALAN 2006; 56(4): 361-365
- Nafisi M, Sonderby IE, Hansen BG, Geu-Flores F, Nour-Eldin HH, Norholm MHH, Jensen NB, Li J, Halkier BA. Cytochromes P450 in the biosynthesis of glucosinolates and indole alkaloids. Phytochem Rev 2006; 5(2-3): 331-346.
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. Antioxidantes de los alimentos, aplicaciones prácticas. 1ra ed. Zaragoza España: Acirbia SA; 2001. p. 111-112.
- Lampe JW. Spicing up a vegetarian diet: chemopreventive effects of phytochemicals. Am J Clin Nutr 2003; 78 (Suppl): 579S-583S.
- Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94 (19): 10367-10372.
- Valdés MSE. Hidratos de Carbono. En: Badui SD. Química de los Alimentos. 4ta ed. México D.F: Pearson Educación; 2006. p. 41-46.
- Liang H, Yuan QP, Xiao Q. Purification of sulforaphane from Brassica oleracea seed meal using low-pressure column chromatography. J Chromatogr B 2005; 828 (1-2), 91-96.
- Van Eylen D, Bellostas N, Strobel BW, Oey I, Hendrickx M, Van Loey A, Sørensen H, Sørensen JC. Influence of pressure/temperature treatments on glucosinolate conversion in broccoli (Brassica oleracea L. cv Italica) heads. Food Chem 2009; 112(3): 646-653.
- Matusheski NV, Jeffery HE. Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane Nitrile. J Agric Food Chem 2001; 49(12):5743-5749
- Zhang Y, Talalay P, Cho Ch, Posner, GH. A major inducer of carcinogenic protective enzymes from broccoli: Isolation and elucidation of structure. Med Sci 1992; 89(6): 2399-2403.
- Zhang Y, Callaway EC. High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. Biochem J 2002; 364(Pt 1): 301-307.
- Mckee T, Mckee JR. Biochemistry: the molecular basis of life. 3rd. ed. Boston: Mc Graw-Hill companies; 2003. p. 559-566.
- Talalay P, Fahey JW. Phytochemicals from cruciferous plants protect against Cancer by modulating carcinogen metabolism. American Institute for Cancer Research 11th Annual Research Conference on Diet, Nutrition and Cancer. American Society for Nutritional Sciences. 2001.
- Skoog D, Holler FJ, Nieman TA. Principios de análisis instrumental. 5ta ed. España: Mc Graw-Hill; 2001. p. 731-786.
- Miller D. Química de alimentos, manual de laboratorio. México, D.F: Limusa Wiley; 2006. p. 157-164
- Nakagawa K, Umeda T, Higuchi O, Tsuzuki T, Suzuki T, Miyazawa T. 2006. Evaporative Light-Scattering analysis of sulforaphane in broccoli samples: quality of broccoli products regarding sulforaphane contents. J Agric Food Chem 2006; 54(7):2479-2483.
- Liang H, Li C, Yuan Q, Vriesekoop F. Separation and purification of sulforaphane from broccoli seeds by solid phase extraction and preparative high-performance liquid chromatography. J Agric Food Chem 2007; 55(20): 8047-8053.
- Liang H, Yuan QP, Dong HR, Liu YM. Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. J Food Compos Anal 2006; 19(5): 473-476.
- AOAC. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists 16th ed. Arlington Virginia, USA; 1995.
- Bertelli D, Plessi M, Braghiroli D, Monzani A. Separation by solid phase extraction and quantification by phase reverse HPLC of sulforaphane in broccoli. Food chem 1998; 63(3): 417- 421.
- USDA. United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference. Agricultural research Service. 2008.

25. Chiang WCK, Pusateri DJ, Leitz REA. Gas Chromatography/Mass Spectrometry method for the determination of sulforaphane and sulforaphane Nitrile in broccoli. *J Agric Food Chem* 1998; 46(3):1018-1021.
26. Rangkadilok N, Tomkins B, Nicolas ME, Premier RR, Bennett RN, Eagling DR, Taylor P.W. The effect of post-harvest and packaging treatments on glucoraphanin concentration in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *J Agric Food Chem* 2002; 50(25): 7383-7391.
27. Vallejo F, Tomás-Barberán F, García-Viguera C. Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. *J Agric Food Chem* 2003; 51(10): 3029-3034.
28. Oerlemans K, Barrett MD, Suades CB, Verkerk R, Dekker M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chem* 2006; 95(1):19-29.
29. Fuller Z, Louis P, Mihajlovski A, Rungapamestry V, Ratcliffe B, Duncan AJ. Influence of cabbage processing methods and prebiotic manipulation of colonic microflora on glucosinolate breakdown in man. *Brit J Nutr* 2007; 98(2): 364-372.

Recibido: 04-11-2008

Aceptado: 03-12-2008