

# APARATURA

## BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

### **Składniki bioaktywne i właściwości przeciwrodnikowe wybranych owoców egzotycznych**

*BEATA DRUŻYŃSKA, JOANNA SZYMAŃSKA, MARTA CIECIERSKA, DOROTA DEREWIAKA,  
JOLANTA KOWALSKA, EWA MAJEWSKA*

**SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE, WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSCI,  
KATEDRA BIOTECHNOLOGII, MIKROBIOLOGII I OCENY JAKOŚCI ŻYWNOSCI**

**Słowa kluczowe:** składniki bioaktywne, przeciwutleniacze, owoce tropikalne

#### **STRESZCZENIE**

Celem pracy było oznaczenie zawartości wybranych związków bioaktywnych i określenie właściwości przeciwrodnikowych ekstraktów z owoców tropikalnych: mango, liczi, rambutanu, kumkwatu i mango-stanu. W ekstraktach z owoców oznaczono zawartość polifenoli ogółem, karotenoidów ogółem i witaminy C. Zbadano także zdolność związków bioaktywnych w ekstraktach do dezaktywacji stabilnych rodników DPPH, kationorodników ABTS i zdolność do chelatowania jonów żelaza (II). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane związki bioaktywne występują w owocach w różnicowanej ilości. Wszystkie ekstrakty charakteryzowały się natomiast wysoką zdolnością do chelatowania jonów żelaza (II) i dezaktywacji stabilnych rodników DPPH. Wykazywały również zdolność do dezaktywacji kationorodników ABTS, choć była ona różnicowana. Przeprowadzone badania udowodniły, że owoce tropikalne mogą być cennym składnikiem diety.

#### **Bioactive components and antiradical properties of selected exotic fruits**

**Keywords:** bioactive components, antioxidants, tropical fruits

#### **ABSTRACT**

The aim of this study was to analyze the content of some bioactive compounds and determine anti-radical properties of extracts from tropical fruits: mango, lychee, rambutan, kumquat and mangosteen. Total polyphenols, total carotenoids and vitamin C content were analyzed. The antiradical properties was examined by the methods using the stable DPPH and ABTS radicals. Also their ability to chelate iron ions (II) was determined too. Based on the research it was found that the bioactive compounds found in fruits in varying quantities. All extracts were characterized the high ability to chelate iron ions (II) and deactivation of stable radical DPPH. Also have the ability to inactivate ABTS radicals, although it was different. Research has shown that tropical fruits could be a valuable part of the diet.

## 1. WSTĘP

Owoce i warzywa są bogatym źródłem przeciwutleniaczy, które pomagają w zwalczaniu wielu chorób, m.in. chorób nowotworowych, miażdżycy, chorób neurodegeneracyjnych. Wpływają one także na zmniejszenie skutków dysfunkcji mózgu spowodowanych procesami starzenia [1]. Przeciwutleniacze chronią molekuly czynne biologicznie – białka, lipidy, kwasy nukleinowe – przed atakiem reaktywnych form tlenu, takich jak rodniki hydroksylowe czy nadtlenkowe. Dezaktywują one rodniki poprzez przerywanie reakcji łańcuchowych, redukowanie wolnych rodników i wygaszanie tlenu singletowego. Mają także zdolność do chelatowania jonów metali przejściowych; głównie dotyczy to jonów miedzi i żelaza, które katalizują reakcję Fentona [2].

Przeciwutleniacze syntetyczne stosowane są także powszechnie przy produkcji żywności. Niektóre z nich wykazują toksyczność, kiedy spożywane są w nadmiarze. To powoduje, że wciąż poszukuje się źródeł przeciwutleniaczy naturalnych, które byłyby równie skuteczne, ale całkowicie bezpieczne dla człowieka [3].

Owoce są źródłem wielu naturalnych przeciwutleniaczy, takich jak polifenole, witaminy, karotenoidy i minerały. Aktywność antyrodnikowa tych związków została udowodniona w wielu badaniach [2-4, 19]. Dotyczy to przede wszystkim polifenoli. Dotychczas poznano około 8000 tych związków i podzielono je na grupy (kwasy fenolowe, flawonoidy, stilbeny, taniny i lignany) w zależności od budowy i właściwości chemicznych. Wszystkie te związki wykazują jednak silne właściwości przeciwrodnikowe i przeciwutleniające. Również witamina C należy do silnych antyoksydantów naturalnych. Jest podstawowym naturalnym związkiem przeciwrodnikowym występującym w naszej diecie. Wspomaga również działanie innych przeciwutleniaczy – redukuje rodnik tokoferylowy i tym samym przywraca aktywność antyoksydacyjną tokoferolu [4, 5].

Oprócz tych właściwości, przeciwutleniacze wzmacniają system immunologiczny organizmu, wpływają na elastyczność stawów, redukują alergię i chronią przed nowotworami. Wiadomo także, że korzystnie oddziałują na psychikę [6].

W niniejszej pracy oznaczono wybrane związki czynne biologicznie oraz zbadano aktywność przeciwrodnikową ekstraktów uzyskanych z owoców tropikalnych: mango, liczi, rambutanu, mangostanu i kumkwatu.

## 2. MATERIAŁ I METODY

### 2.1 Materiał

Materiałem doświadczalnym były jadalne części surowych owoców: liczi, mango, rambutanu (owoce obrano i oddzielono pestkę od miąższu), kumkwatu (badaniu poddano część jadalną wraz z pestkami z wyłączeniem skórki) i mangostanu (owoc obrano i oddzielono miąższ).

#### 2.1.1 Przygotowanie preparatów

Do oznaczenia zawartości polifenoli ogółem oraz właściwości przeciwrodnikowych wobec ABTS<sup>•+</sup>, DPPH<sup>•</sup> oraz określenia zdolności chelatowania jonów żelaza (II) stosowano ekstrakty acetonowe z badanych owoców tropikalnych. W kolbie stożkowej ze szlifem odważano po 20 g rozdrobnionych owoców i zalewano naważkę 200 cm<sup>3</sup> 70% acetonu (v/v) (aceton cz.d.a., POCh S.A. Gliwice). Po 30-minutowym wytrząsaniu próbek (wytrząsarka Biosan Multi-Shaker PSU 20) przesączo no uzyskane ekstrakty przez sączek karbowany do kolby stożkowej ze szlifem. Ekstrakty acetonowe przechowywano w warunkach chłodniczych przez maksymalnie trzy tygodnie. Przed wykonaniem oznaczenia ekstrakty ponownie przesącza no przez sączek karbowany [7].

W celu oznaczenia zawartości związków karotenoidowych w badanych produktach przygotowano ekstrakt heksanowy. Ekstrakt otrzymano przenosząc odważoną naważkę (2,5 g) rozdrobnionych owoców tropikalnych, w których uprzednio usunięto części niejadalne, do ceramicznego moździerza z 15 g bezwodnego siarczanu sodu Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Po dokładnym roztarciu i otrzymaniu jednolitej masy przeniesiono ilościowo zawartość moździerza do kolby ze szlifem o pojemności 100 ml. Do kolby dodano 25 cm<sup>3</sup> heksanu i wytrząsano na wytrząsarce Biosan Multi-Shaker PSU 20, po owinięciu szczelnie folią, przez 48 h [8].

### 2.2 Metody

Charakterystyka chemiczna obejmowała określenie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteua (wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy) [9, 10], karotenoidów [8] oraz witaminy C metodą spektrofotometryczną [11]. 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 (sto-

sunek 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 unieczynienia stabilnych, syntetycznych rodników DPPH. Metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do roztworu DPPH\*, który w formie rodnikowej wykazuje absorbancję przy 517 nm. Wartość tej absorbancji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego [12]. Z różnicy absorbancji roztworu rodników DPPH\* przed i po dodaniu potencjalnych przeciwutleniaczy oznacza się ich aktywność przeciwrodnikową [12, 13]. DPPH\* jest syntetycznym rodnikiem, który przyjmuje elektron bądź wodór tak, aby mógł być przekształcony w stabilną molekułę DPPH. Oznaczenie to jest często wykorzystywane do oceny właściwości przeciwutleniających związków ze względu na krótki czas jego trwania i stosunkowo wysoką czułość metody [14].

Przeciwrodnikowe właściwości ekstraktów oznaczano również badając ich zdolności do dezaktywacji kationorodników ABTS<sup>•+</sup> [15]. Zasada metody polega na bezpośrednim generowaniu ABTS<sup>•+</sup> w wyniku utleniania ABTS przez nadsiarczan potasu. Dodatek przeciwutleniacza powoduje redukcję ABTS<sup>•+</sup> do ABTS i spadek intensywności zabarwienia roztworu rodników. Stopień redukcji ABTS<sup>•+</sup> określany jest spektrofotometrycznie przy długości fali 734 nm.

Badanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) przez związki zawarte w ekstraktach prowadzono dodając do roztworów chlorek żelaza (II) i ferrozynę. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono po 10 min od dodania ferrozyny przy długości fali 562 nm [13].

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

### 3. OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Badane owoce tropikalne charakteryzują się zróżnicowaną zawartością polifenoli ogółem. Najniż-

szą zawartością polifenoli ogółem wśród badanych surowców charakteryzuje się rambutan – 63 g/100 mg. Liczy natomiast jest owocem o największej zawartości polifenoli ogółem w badanej próbie – 147 g/100 mg (Tab. 1).

Przeprowadzona analiza wariancji (ANOVA) dla doświadczenia jednoczynnikowego wykazała istnienie statystycznie istotnej różnicy pomiędzy średnimi otrzymanymi dla badanych owoców na poziomie istotności 95%. Przeprowadzony dodatkowo test Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha=0,05$  pozwala na pogrupowanie poszczególnych prób w grupy jednorodne, w których nie występują statystycznie istotne różnice.

Zawartość polifenoli uzyskaną w badaniach porównano z danymi literaturowymi. W badaniach prowadzonych przez Lim i Tee [1] w ekstraktach z owoców mangostanu stwierdzono zawartość polifenoli na poziomie ok. 54 mg/100 g ekstraktu. Zawartość polifenoli w mango oznaczana metodą Folina w innej publikacji wynosiła 2,4 mg/g liofilizatu w miąższu [3].

Zawartość polifenoli ogółem w wielu doniesieniach literaturowych znacznie różni się między sobą. Dotyczy to także pozostałych składników bioaktywnych oznaczanych w niniejszej pracy i wynika z zastosowania różnych metod analitycznych, a także innego przygotowania próbek – szczególnie ważna jest tu ekstrakcja. Metoda ekstrakcji, jej czas, zastosowany układ ekstrakcyjny i proporcje cieczy ekstrakcyjnej w stosunku do materiału ekstrahowanego (istotny jest także stopień jego rozdrobnienia) znacząco wpływają na wynik późniejszej analizy. Różnice w analizie ilościowej wynikają także z różnego stadium dojrzałości badanych owoców, warunków przed i pozbiorowych, a w szczególności przechowywania [17, 18].

Z analizowanej grupy owoców tropikalnych wyłącznie kumkwat i mango charakteryzowały się zawartością karotenoidów, którą można było wykryć zastosowaną metodą spektrofotometryczną. Zawartość karotenoidów ogółem w ekstrakcie z owoców mango wynosiła 2,08 mg/100 g, natomiast w kumkwacie 0,87 mg/100 g (Tab. 1).

Z danych literaturowych wynika, że miąższ owoców mango jest bogaty w związki karotenoidowe. Zawartość karotenoidów w dojrzałych owocach mango pochodzących z upraw brazylijskich wynosiła w zależności od odmiany od 4,1 do 5,5 mg/100 g miąższu [19]. Badania przeprowadzone przez Chuang i wsp. [20] określają zawartość

**Tabela 1** Zawartość polifenoli ogółem, witaminy C i karotenoidów ogółem w jadalnych częściach owoców

**Table 1** The content of total polyphenols, vitamin C and carotenoids in the edible parts of the fruit

Ekstrakt z owoców Fruit extract	Polifenole ogółem [mg/100 g] Total polyphenols [mg/100 g]	Witamina C [mg/100 g] Vitamin C [mg/100 g]	Karotenoidy ogółem [mg/100 g] Total carotenoids [mg/100 g]
mango	120 (±5,8) <sup>c</sup>	27,5 (±6,0) <sup>b</sup>	2,08 (±0,15) <sup>b</sup>
liczi lychee	147 (±4,9) <sup>d</sup>	41,3 (±4,2) <sup>d</sup>	nw (nd)
rambutan	63 (±6,6) <sup>a</sup>	50,2 (±5,1) <sup>e</sup>	nw (nd)
mangostan mango-steen	102 (±3,7) <sup>b</sup>	7,3 (±1,1) <sup>a</sup>	nw (nd)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie./

Mean values followed by the same letter in a column don't differ significantly.

nw – nie wykryto/nd – not detected

karotenoidów ogółem w kumkwacie pochodzącym z upraw na Tajwanie na poziomie 0,105 mg/g s.m. [21].

Wśród badanych owoców największą zawartością witaminy C charakteryzował się ekstrakt z owoców rambutanu (50,2 mg/100 g), natomiast najmniejszą zawartość stwierdzono w owocach mangostanu (7,3 mg/100 g) (Tab. 1).

Stosując analizę wariancji (ANOVA) ustalono, że średnie zawartości witaminy C w poszczególnych owocach różnią się między sobą statystycznie na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ . Nie stwierdzono w obrębie tej próby grup jednorodnych testem Tukeya – wszystkie średnie zawartości witaminy C różnią się między sobą statystycznie.

Według badań przeprowadzonych przez Guo i wsp. [22] zawartość witaminy C w owocu liczi wynosi średnio 41 mg/100 g świeżej substancji w zależności od miejsca pochodzenia, a jej zawartość w kumkwacie wynosi około 35 mg/100 g świeżej substancji, także w zależności od miejsca pochodzenia. W tej samej pracy oznaczono zawartość witaminy C w mango i wynosiła ona 23 mg%. W innych badaniach oznaczono witaminę C w mangostanie, mango i rambutanie metodą wy-

sokosprawnej chromatografii cieczowej i uzyskano wyniki odpowiednio: 4,1, 19,7 i 50,2 mg/100 g [23]. Znaczące różnice pomiędzy zawartością witaminy C w różnych badaniach można wytłumaczyć czynnikami podanymi przy różnicach w zawartości polifenoli. Największy wpływ w przypadku oznaczenia zawartości witaminy C na rozbieżność wyników ma zastosowana metoda analityczna, jak i różnice w sposobie ekstrakcji badanego związku.

Badane owoce wykazywały znaczącą aktywność przeciwrodnikową w stosunku do stabilnych, syntetycznych rodników DPPH. Najniższą wartością aktywności przeciwrodnikowej charakteryzował się kumkwat – 67,9%. Największą wartość aktywności wykazywały mangostan – 95% oraz liczi – 94% (Tab. 2).

Analiza statystyczna wykazała, że istnieje dodatnia zależność pomiędzy zawartością polifenoli ogółem w próbce a aktywnością przeciwrodnikową. W analizowanym przypadku współczynnik korelacji wynosi 0,92. Oznacza to, że korelacja pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a aktywnością przeciwrodnikową jest relatywnie silnym związkiem. Jest to korelacja dodatnia – wzrost cechy niezależnej (zawartości polifenoli ogółem) powoduje wzrost cechy zależnej (aktywności przeciwutleniającej). Podobną zależność stwierdzili również Leong i Shui [23] oraz Liu i wsp. [16].

**Tabela 2** Właściwości przeciwrodnikowe wobec DPPH\*, ABTS\*\* i zdolność do chelatowania jonów żelaza [%]

**Table 2** Antiradical activity against DPPH\*, ABTS\*\* and chelating iron ion ability [%]

Ekstrakt z owoców Extracts	Aktywność wobec DPPH* [%] Activity against DPPH* [%]	Aktywność wobec ABTS** [%] Activity against ABTS** [%]	Chelatowanie [%] Chelating activity [%]
mango mango	92,5 (±1,0)	63,7 (±1,7)	97,5 (±1,6)
liczi lychee	94,3 (±1,4)	32,0 (±1,2)	88,8 (±1,3)
rambutan	73,1 (±1,4)	14,5 (±1,4)	73,9 (±1,4)
mangostan mangosteen	95,0 (±1,5)	14,5 (±1,6)	60,9 (±1,5)
kumkwat kumquat	67,9 (±1,2)	19,7 (±1,6)	62,1 (±1,4)

W pracy Jayaprakasha i wsp. [17] stwierdzono aktywność przeciwrodnikową wobec DPPH\* na poziomie około 70%. Wynik ten jest zbliżony do uzyskanego w niniejszej pracy. Aktywność przeciwrodnikowa wyznaczona na podstawie zdolności ekstraktu do wygaszania stabilnych rodników DPPH jest zależna od wielu zmiennych doświadczenia, dlatego utrudnione jest porównywanie tak mierzonych aktywności przeciwrodnikowych wykonanych w różnych warunkach [24].

W pracy oznaczano również zdolność badanych ekstraktów z owoców do dezaktywacji kationorodników ABTS. Oznaczenie wykonano według zmodyfikowanej metody opisanej przez Re i wsp. [15]. Przewaga metody zmodyfikowanej nad tradycyjną polega na tym, że rodniki ABTS powstają w układzie bezpośrednio (bez udziału rodników pośrednich), a związek antyrodnikowy dodawany jest do roztworu po wytworzeniu kationorodników. Eliminowane jest w ten sposób ryzyko zafalszowania na skutek reakcji badanego związku z rodnikami pośrednimi.

Stwierdzono, że wszystkie przebadane ekstrakty wykazywały zdolność do wygaszania syntetycznych kationorodników ABTS (Tab. 2). Wśród badanych owoców najwyższą zdolność do dezaktywacji ABTS\*\* wykazywał ekstrakt z owoców mango (63,7%), natomiast najniższą ekstrakty z mangostanu i rambutanu (14,5%).

W celu zbadania, czy między badanymi cechami istnieje statystycznie istotna współzależność przeprowadzono analizę współzależności, która wykazała, że nie istnieje statystycznie istotna współzależność, pomiędzy zawartością polifenoli ogółem w próbce, a jej aktywnością przeciwrodnikową w stosunku do kationorodników ABTS. Różne badania wykazują, że istnieje zależność pomiędzy zawartością katechin a zdolnością badanych preparatów do dezaktywacji kationorodników ABTS\*. W wielu badaniach stwierdzono, że

najbardziej aktywne pod tym względem były galusany katechin, a zwłaszcza galusan epigalokatechiny i galusan epikatechiny [3, 25].

W pracy oznaczono również zdolność acetonowych ekstraktów do chelatowania jonów żelaza. Zdolność do chelatowania jonów żelaza (II) jest ważną cechą ze względu na to, że jony te wraz z jonami miedzi (II) biorą udział w reakcjach Fentona. Stwierdzono, że wszystkie analizowane ekstrakty wykazywały zdolność do chelatowania jonów żelaza (Tab. 2). Ekstrakty badanych owoców wiązały jony żelaza od 61 do 97,5%. Najskuteczniej działał ekstrakt mango (97,5%), a najslabiej ekstrakt mangostanu (60,9%). Według niektórych badań naukowych związkami mającymi zdolność do wiązania jonów metali przejściowych są przede wszystkim polifenole [16]. Po przeprowadzeniu analizy współzależności nie wykryto jednak statystycznie istotnej różnicy pomiędzy zawartością polifenoli ogółem w ekstrakcie a jego zdolnością do chelatowania jonów żelaza (II) w badanej próbce.

#### 4. WNIOSKI

- 1) Z przeprowadzonych w pracy badań wynika, że owoce tropikalne: mango, liczi, rambutan, mangostan i kumkwat wykazują wysoki potencjał antyoksydacyjny.
- 2) Polifenole są dominującą grupą związków wykazujących aktywność biologiczną wśród przebadanych ekstraktów owoców egzotycznych.
- 3) Zawartość polifenoli i witaminy C w analizowanych próbach kształtuje się na zróżnicowanym, jednak istotnym ilościowo poziomie.
- 4) Wszystkie przebadane ekstrakty wykazują zdolność zmiatania stabilnych rodników DPPH\* i kationorodników ABTS\*. Wszystkie ekstrakty wykazują również zdolność do chelatowania jonów żelaza (II).

#### LITERATURA

- [1] Lim Y. Y., Tee J. J., Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study, *Food Chem.*, 103, 2007, 1003-1008.
- [2] Vijaya Kumar Reddy C., Sreeramulu D., Raghunath M., Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India, *Food Res. Int.*, 43, 2010, 285-288.
- [3] Soong Y.-Y., Barlow P. J., Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, *Food Chem.*, 88, 2004, 411-417.

- [4] Almeida M. M. B., Machado de Sousa P. H., Campos Arriaga A. M., Matias do Prado G., de Carvalho Magalhaes C. E., Maia G. A., Gomes de Lemos T. L., Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil, *Food Res. Int.*, 44, 2011, 2155-2159.
- [5] Ross J. A., Kasum C. M., Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety, *Annu. Rev. Nutr.*, 22, 2002, 19-34.
- [6] Marcason W., What are the facts and myths about mangosteen?, *J. Am. Diet. Ass.*, 106, 6, 2006, 986.
- [7] Sidhuraju P., Becker K., Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2003, 2144-2155.
- [8] Korzeniowska A., Niemirowicz-Szczyt K., Stangret J., Ocena plonowania oraz zawartości suchej masy i związków karotenoidowych w nowych mieszańcach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.), *Folia Hort.*, 13, 2001, 37-43.
- [9] Singleton V. L., Rossi J. A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Emol. Vitic.*, 16, 1965, 144-158.
- [10] Slinkard K., Singleton V. L., Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods, *Am. J. Enol. Vitic.*, 28, 1977, 49-55.
- [11] AOAC, Official Method 984.26, 1990.
- [12] Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N., Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1999, 425-431.
- [13] Lai L. S., Chou S. T., Chao W. W., Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsoa leaf gum, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2001, 963-968.
- [14] Durmaz G., Alpaslan M., Antioxidant properties of roasted apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel, *Food Chem.*, 100, 2007, 1177-1181.
- [15] Re R., Proleggente A., Pellergrini N., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Rad. Biol. Med.*, 9-10, 1999, 1231-1237.
- [16] Liu S.-Ch., Lin J.-T., Wang Ch.-K., Chen H.-Y., Yang D.-J., Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers, *Food Chem.*, 114, 2009, 577-581.
- [17] Jayaprakasha G. K., Chidambara Murthy K. N., Etlinger M., Mantur S. M., Radical scavenging capacities and inhibition of human prostate (LNCaP) cell proliferation by *Fortunella margarita*, *Food Chem.*, 131, 2012, 184-191.
- [18] Dembitsky V. M., Gorinstein S., Leontowicz H., Leontowicz M., Poovarodom S., Trakhtenberg S., Vearasilp S., The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Res. Int.*, 44, 2011, 1671-1701.
- [19] Ajila C. M., Naidu K. A., Bhat S. G., Prasada Rao U. J. S., Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract, *Food Chem.*, 105, 2007, 982-988.
- [20] Chuang Y. C., Ku Y. H., Wang Y. C., Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan, *Food Chemistry*, 102, 2007, 1163-1171.
- [21] Katayama R., Kondo S., Uchino K., Antioxidant activity in meiwa kumquat as affected by environmental and growing factors, *Envir. Exp. Bot.*, 54, 2005, 60-68.
- [22] Guo Ch., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J., Jiang Y., Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay, *Nutr. Res.*, 23, 2003, 1719-1726.
- [23] Leong L. P., Shui G., An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets, *Food Chem.*, 76, 2002, 69-75.
- [24] Dawidowicz A. L., Olszowy M., Wianowska D., On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method, *Food Chem.*, 131, 2012, 1037-1043.
- [25] Pannala A. S., Chan T. S., O'Brien P., Rice-Evans C. A., Flavonoid B – ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics, *Bioch. Biophys. Res. Com.*, 282, 2001, 1161-1168.