



KURUTMA SICAKLIĞININ ÜZÜM ÇEKİRDEKLERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİĞİ VE ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

INFLUENCE OF DRYING TEMPERATURE ON TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF GRAPE SEEDS

Dilara KONUK^{1*}, Figen KOREL¹

¹Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
konukdilara@gmail.com, figenkorel@iyte.edu.tr

Geliş Tarihi/Received: 14.06.2015, Kabul Tarihi/Accepted: 28.09.2015
* Yazışılan yazar/Corresponding author

doi: 10.5505/pajes.2015.65785
Özel Sayı Makalesi/Special Issue Article

Öz

Üzüm çekirdeği, başta şarap olmak üzere meyve suyu ve pekmez ürünlerinin üretiminde açığa çıkan organik bir atık olup, biyoaktif bileşikler açısından oldukça zengin olması nedeniyle gıda formülasyonlarında fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışma, kurutma sıcaklığının üzüm çekirdeklerinde bulunan biyoaktif bileşikler üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır ve çalışmada kabın tipi kurutma sisteminde sıcak hava ile üç farklı ortam sıcaklığında (40, 50 ve 60°C) kurutulan üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Taze üzüm çekirdekleri kurutulmuş örneklerle karşılaştırıldığında, kurutma işleminin toplam fenolik madde miktarında azalmaya neden olduğu ve kurutma sıcaklığı arttıkça toplam fenolik madde miktarının azaldığı görülmüştür. ABTS radikal indirgeme kapasitesi yöntemiyle belirlenen Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasiteleri (TEAK) taze üzüm çekirdeklerinde daha yüksek değerlerde olup üç farklı sıcaklıkta kurutulan üzüm çekirdeklerinde ise birbirine yakın değerlerde bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda üzüm çekirdeklerinin güçlü bir antioksidan kaynağı olduğu ve kurutma işlemi sonrasında da antioksidan özelliğini koruduğu görülmüştür. Ancak, fenolik bileşen kayıplarını azaltmak için kurutma işleminin düşük sıcaklıklarda yapılmasının avantajlı olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Üzüm çekirdeği, Kurutma, Antioksidan aktivitesi, ABTS

Abstract

Grape seed, which is an organic waste arise from production of wine, juice and molasses, is considered as a functional food ingredient in food formulations because of its rich content of bioactive compounds. This study was performed in order to evaluate the effect of air-drying temperature on the bioactive compounds of grape seeds. In the study, total phenolic content and antioxidant activity of grape seeds that are dehydrated at different drying temperatures (40, 50 and 60°C) were determined. When comparing the fresh grape seeds with the corresponding dehydrated samples, it was shown that the drying operation led to reduction of total phenolic contents and the total phenolic contents decreased with an increase of the drying temperature. According to ABTS radical scavenging method, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) was found to be highest for fresh grape seeds and presented lower values for grape seeds dried at three different temperatures. As a result of the study, it was demonstrated that grape seed is a powerful antioxidant source and it has still high antioxidant activity after drying process. However, drying at low temperatures was put forward to be advantageous in order to reduce the losses of phenolic components.

Keywords: Grape seed, drying, Antioxidant activity, ABTS

1 Giriş

Ülkemiz üzümde yıllık 4 175356 ton tahmini üretimi ile dünyanın altıncı en büyük üreticisi konumundadır [1]. Ülkemizde üretilen üzümlerin yaklaşık %30'u sofralık, %40'ı kurutmalık, %28'i pekmez, pestil, sucuk vb. yerel ürünlerin üretiminde ve %2'si de şaraplık olarak değerlendirilmektedir [2]. Türkiye'de yıllık üzüm çekirdeği üretim kapasitesi yaklaşık 30000 ton olarak tahmin edilmektedir. Şarap üretiminden elde edilen üzüm çekirdekleri genel olarak yağ üreticilerine satılmakla birlikte gıda, kozmetik ve ilaç sektöründe de hammadde olarak kullanılmaktadırlar [3].

Üzüm çekirdeği; meyve suyu, şarap ve pekmez üretiminde açığa çıkan bir atık olup, üzümün meyvesinden sonra fenolik bileşikler ve antioksidan özelliği açısından besin değeri en zengin kısımdır. Üzüm çekirdeğinin bileşiminde; kateşin, epikateşin, galkateşin, epigalokateşin, gallik asit, monomerik flavan-3-ol, prosiyanidin dimerler, trimerler ve daha yüksek polimerize prosiyanidinler bulunmaktadır. Türkiye'de yetiştirilen farklı çeşitlerdeki kırmızı ve beyaz

üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde miktarının 4778.6 mg/100 g ile 13000 mg/100 g Gallik Asit Eşdeğeri (GAE) arasında değiştiği belirlenmiştir [4]. Üzüm çekirdeğinde bulunan fenolik bileşikler üzümde bulunan toplam polifenollerin %60-70'ini kapsamaktadır. Üzüm çekirdeği, kabuğuna kıyasla çok daha fazla oranda flavanol içermekte olup, miktarı üzümün yetiştirildiği bölgeye ve iklime göre değişmektedir [5]. Bu nedenle bu yan ürün insan sağlığı açısından oldukça değerli olup gıda takviyesi ve doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılmaktadır [6].

Üzüm çekirdeği ekstraktı vücudu Alzheimer ve kanser gibi hastalıklara karşı koruyan güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir. Yapılan çalışmalar üzüm çekirdeklerinin içerdiği proantosiyandinlerin, E vitamininden 20 kat, C vitamininden ise 50 kat daha güçlü bir antioksidan olduğunu göstermektedir [7],[8]. Antioksidanların özellikle yağ içeriği yüksek gıdalarda kullanımı lipid oksidasyonunu önlemek ve raf ömrünü artırmak için iyi bir yöntemdir. Son yıllarda tüketicilerin Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) ve Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) gibi sentetik antioksidanlar yerine

bitkisel doğal antioksidanların kullanımına talebi giderek artmaktadır [9]. Birçok çalışmada bitkisel yağlar [10], bisküviler [11], çeşitli kırmızı ve beyaz et ürünleri [12],[13] gibi gıdalarda üzüm çekirdeğinin doğal antioksidan olarak kullanımı araştırılmıştır.

Taze üzüm çekirdekleri ucuz bir antioksidan kaynağı olmakla birlikte çabuk bozulabilen bir yan üründür. Bu nedenle kurutma işlemi çekirdeklerin raf ömrünü artırmak ve kullanılabilirliğini sağlamak amacıyla uygulanmaktadır. Bununla birlikte, soğuk mekanik pres yöntemi ile yağı elde edilecek üzüm çekirdeklerinin nem içeriğinin 0.10 g/g kuru madde değerinde olması gerekmektedir. Yapılan bir çalışmada Riesling ve Cabernet cinsi üzümlerinin kullanıldığı kırmızı şarap üretiminden elde edilen taze üzüm çekirdeklerinin 40, 50 ve 60°C'de 1.5 m/s sabit hava hızında kurutularak kurutma kinetikleri araştırılmıştır ve üzüm çekirdeklerinin yağ üretimine uygun tohumlar haline gelebilmesi amacıyla nem içerikleri %0.1 ve altındaki değerlere düşürülmüştür [14]. Selçuk ve diğ. [15] tarafından yapılan bir çalışmada pekmez üretiminden elde edilen üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi açısından şarap üretiminden elde edilenlere göre daha zengin olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, üzüm çekirdeklerinin kabin tipi kurutma sisteminde durgun sıcak hava ile farklı ortam sıcaklıklarında (40, 50 ve 60°C) kurutulmasının çekirdeklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

2 Materyal ve Yöntem

2.1 Materyal

Çalışmada kullanılan üzüm çekirdekleri İzmir Karaburun yarımadasında yetiştirilen *Vitis vinifera* L. türü Alfons üzümlerinden (kırmızı üzüm) elde edilmiştir. Üzüm çekirdekleri elle tanelerden ayrılarak kullanılmıştır. Taze üzüm çekirdeklerinde nem miktarı (%), toplam fenolik madde miktarı ve ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite analizleri hemen yapılmıştır.

Denemelerde kullanılan metanol, potasyum persülfat ve sodyum karbonat Merck (Darmstadt, Germany); Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid) ve Folin-Ciocalteu reagent Fluka (Switzerland); gallik asit ve 2,2-azinobis (3-ethyl Benzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) Sigma-AldrichCo. (St. Louis, MO, USA) ve sodyum fosfat Riedel-de Haen (Germany) firmalarından temin edilmiştir.

2.2 Yöntem

2.2.1 Kurutma İşlemi

Taze üzüm çekirdekleri tane halinde kabin tipi kurutucularda (Membert ULM 500, Schwabach, Almanya) durgun sıcak kuru hava ile 40, 50 ve 60 °C olmak üzere üç farklı ortam sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma denemelerinde kullanılan 3 ayrı sıcaklığın her biri için 10 g üzüm çekirdeği tanesi ayrılmıştır. Kurutma sırasında 1'er saat zaman aralıkları ile ağırlık kaybı takip edilmiştir. Kurutma işlemi, üzüm çekirdeklerinin nem oranı yaklaşık %3'e ulaşınca tamamlanmıştır.

2.2.2 Nem Miktarı Tayini ve Ekstraksiyon

Üzüm çekirdeklerinin nem miktarı, The Association Of Analytical Communities (AOAC) tarafından belirlenen

gravimetrik nem tayini yöntemine göre belirlenmiştir [16]. Üzüm çekirdekleri örneklerinden ekstraksiyon için Selçuk ve diğ. [15] tarafından yapılan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi için üzüm çekirdekleri homojenizatör (IKA ULTRA TURRAX T25, Staufen, Almanya) yardımıyla parçalanarak 1:10 (w/v) oranında %80'lik metanol çözeltisi eklenerek homojen hale getirilmiştir ve homojen karışım 45 dk. boyunca oda sıcaklığında sonikatörde bekletilerek ultrasonik dalgalarla fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen çözelti 4°C'de ve 5000 rpm'de 10 dk. süreyle santrifüj edilerek ayrılan faz alınmış ve kalıntı kısmında ekstraksiyon işlemi iki defa daha gerçekleştirilmiştir. Örnekler ekstrakte edilir edilmez analizler gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler 3 paralel yapılmıştır.

2.2.3 Toplam Fenolik Madde Tayini

Elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı Bucic'-Kojic' ve diğ. [17] tarafından yapılan yöntemle göre belirlenmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktlarından 0.2 ml alınarak üzerine 1.8 ml saf su ve 10 ml %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiştir. 8dk beklendikten sonra %7.5'luk sodyum karbonat çözeltisinden 8ml ilave edilerek 10s boyunca vortexle karıştırılmış ve karışım 45°C'deki su banyosunda 15 dk. inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda çözeltilerinin absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Standart çözelti için 100-1000 mg/L arasında hazırlanan gallik asit çözeltileri kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenol miktarı standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği ($R^2=0.99$) yardımıyla hesaplanarak sonuçlar mg gallik asit/100 g olarak verilmiştir.

2.2.4 Antioksidan Aktivitesi Tayini

Üzüm çekirdeğinde Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAK) Re ve diğ. [18] tarafından yapılan yöntemle göre yapılmıştır. Bu yöntemde, ortamda bulunan ABTS⁺ radikalinin 734 nm dalga boyunda absorbansı sabitlendikten sonra, ortama ilave edilen örnekteki antioksidanların etkisiyle, absorbansta meydana gelen düşüş kolorimetrik olarak tayin edilmektedir. Üzüm çekirdeğinde ABTS⁺ radikal giderme aktivitesi tayini için Thaipong ve diğ. [19] tarafından yapılan çalışmadan yararlanılmıştır. 7.4 mM ABTS çözeltisi ile 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi eşit miktarlarda karıştırılarak 16 saat karanlıkta bekletilmesi sonucu 734 nm'de maksimum absorbans gösteren ABTS⁺ radikali oluşturulmuştur. ABTS⁺ radikal katyonu çözeltisi metanol ile 734 nm dalga boyunda absorbansı 0.70±0.02 olana kadar seyreltilmiştir. 0.15 ml örnek üzerine 2.85 ml ABTS⁺ radikal katyonu çözeltisi eklenmiş ve karanlıkta 2saat bekletildikten sonra 734 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. ABTS⁺ radikal katyonu indirgeme kapasiteleri % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Örneklerin antioksidan kapasitesi Troloks standardından elde edilen kalibrasyon grafiği ($R^2=0.98$) yardımıyla hesaplanarak sonuçlar µmol troloks eşdeğeri/L olarak verilmiştir. Sonuçlar Minitab17 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir.

3 Bulgular ve Tartışma

Üzüm çekirdeklerinin başlangıçta %22.4 olan nem miktarı kurutma işlemi sonunda ortalama %3.2 nem içeriğine ulaşmıştır. Yapılan analiz sonucunda taze üzüm çekirdeğinde toplam fenolik madde miktarının 12028 mg/ 100g GAE olduğu ve kurutma sıcaklığına bağlı olarak kurutulmuş üzüm çekirdeğinde toplam fenolik madde miktarının 6728 mg/100 g

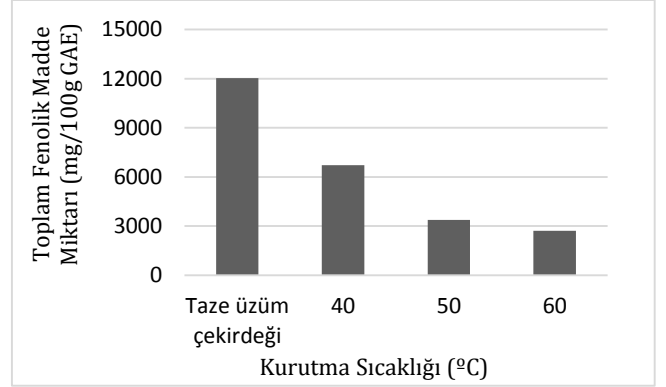
GAE ile 2708 mg/100 g GAE arasında değiştiği belirlenmiştir. Bakkalbaşı ve diğ. [4] tarafından yapılan bir çalışmada üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde miktarının 4778.6 mg/100 g ile 13000 mg/100 g GAE arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Emir, Gök ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden elde edilen üzüm çekirdeklerinde toplam fenolik madde miktarı 71192.96 ile 87031.32 mg GAE/kg arasında olduğu tespit edilmiştir [3]. Araştırmada elde edilen sonuçların çalışmalarda bulunun değerlere paralel olduğu görülmüştür. İstatistik analiz sonucunda ANOVA testine göre kurutma sıcaklığı ve toplam fenolik madde miktarı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($P<0.05$).

Kurutulmuş üzüm çekirdeklerinin farklı kurutma sıcaklıklarına göre toplam fenolik madde miktarları ABTS+ radikal indirgeme kapasiteleri (% inhibisyon) ve antioksidan aktiviteleri Tablo 1'de görülmektedir. 40, 50 ve 60°C'de kurutulan üzüm çekirdeklerinin antioksidan aktivite analizleri sonucunda sırasıyla ABTS+ radikali indirgeme kapasiteleri %96.40-%96.22-%96.04 TEAK değeri ise 367.3-365.2-363.1 μmol Troloks/L olarak hesaplanmıştır. Taze üzüm çekirdeklerinin ABTS+ radikali indirgeme kapasiteleri %98.9 olup TEAK değeri ise 400 μmol Troloks/L olarak belirlenmiştir. ANOVA testine göre kurutma sıcaklığı ve antioksidan aktivitesi arasında anlamlı fark bulunmuştur ($P<0.05$).

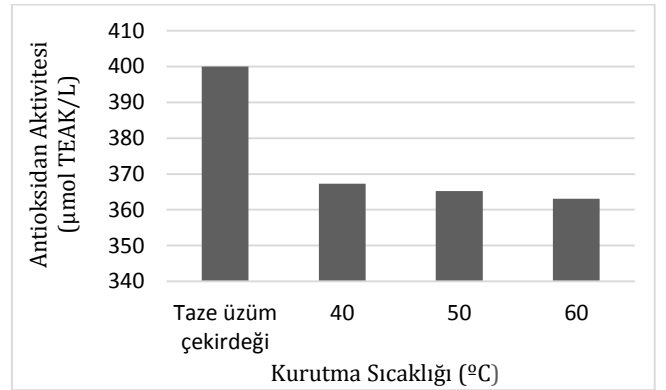
Araştırma sonuçlarına göre kurutma sıcaklığının 40°C'den 60°C'ye artırılması sonucu üzüm çekirdekleri antioksidan aktivitesini korurken toplam fenolik madde miktarının azaldığı ve minimum azalmanın %44.1 oranında 40°C'de olduğu görülmüştür, bu nedenle üzüm çekirdeklerinin kurutulmasında fenolik bileşiklerin kaybını önlemek amacıyla sıcaklığın 40°C'nin daha altında tutulması gerektiği ortaya konulmuştur (Şekil 1). Kurutma sıcaklığı üzüm çekirdeklerinde bulunan fenolik bileşikleri önemli derecede etkilemekle birlikte antioksidan aktivitesi üzerine de önemli etkisi olmuştur ($P<0.05$). Yapılan çalışma sonucunda kurutma sıcaklığının üzüm çekirdeklerinin antioksidan içeriği üzerine etkisinin daha düşük olduğu ve kurutulmuş üzüm çekirdeklerinin de taze üzüm çekirdekleri kadar yüksek miktarda antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 2).

Tablo 1: Üzüm çekirdeklerinin farklı kurutma sıcaklıklarına göre toplam fenolik madde miktarları, ABTS+ radikal indirgeme kapasiteleri (% inhibisyon) ve antioksidan aktiviteleri.

Kurutma Sıcaklığı (°C)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg/100g GAE)	ABTS + Radikali İndirgeme Kapasiteleri (%)	Antioksidan Aktivitesi (μmol TEAK/L)
Taze üzüm çekirdeği	12028	98.90	400
40	6728	96.40	367.3
50	3388	96.22	365.2
60	2708	96.04	363.1



Şekil 1: Üzüm çekirdeklerinin farklı kurutma sıcaklıklarına göre toplam fenolik madde miktarları (mg/100 g GAE).



Şekil 2: Üzüm çekirdeklerinin farklı kurutma sıcaklıklarına göre antioksidan aktiviteleri (μmol TEAK/L).

4 Sonuç

Sonuç olarak, Alfons cinsi kırmızı üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde miktarının ve ABTS+ radikal süpürücü aktivitelerinin oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda kurutma sıcaklığının üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde miktarları üzerine önemli etkisi olduğu ve düşük sıcaklıkta kurutulan örneklerde toplam fenolik madde miktarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak üzüm çekirdeklerinin güçlü bir antioksidan kaynağı olduğu ve kurutma işleminden sonra da antioksidan özelliğini koruduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle üzüm çekirdekleri gıda, ilaç ve kozmetik sektöründe doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir, çeşitli gıdalarda oksidasyonu önlemek veya gıdaya fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmektedir. Ancak, üzüm çekirdeklerinin zengin fenolik bileşimini koruyabilmek için kurutma işleminin düşük sıcaklıklarda yapılmasının avantajlı olduğu görülmüştür.

5 Kaynaklar

- [1] Türkiye İstatistik Kurumu. "Meyvelerin Üretim Miktarları". <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> (04.03.2015).
- [2] Uzun İH, Bayır A. "Distribution of Wild and Cultivated Grapes in Turkey". *Notulae Scientia Biologicae*, 2(4), 83-87, 2010.

- [3] Akın A, Altındışli A. "Emir, Gök Üzüm ve Kara Dimrit Üzüm Çeşitlerinin Çekirdek Yağlarının Yağ Asidi Kompozisyonu ve Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi". *Akademik Gıda*, 8(6), 19-23, 2010.
- [4] Bakkalbaşı E, Yemiş O, Artık N. "Major Flavan-3-ol Composition and Antioxidant Activity of Seeds from Different Grape Cultivars Grown in Turkey". *European Food Research Technology*, 221(6), 792-797, 2005.
- [5] Yılmaz İ. "Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres". *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2), 143-153, 2010.
- [6] Marques JL, Porta GD, Reverchon E, Renuncio JAR, Mainar AM. "Supercritical Antisolvent Extraction of Antioxidants from Grape Seeds After Vinification". *The Journal of Supercritical Fluids*, 82, 238-243, 2013.
- [7] Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. "Polyphenolics in Grape Seeds-Biochemistry and Functionality". *Journal of Medicinal Foods*, 6(4), 291-299, 2003.
- [8] Ho L, Yemul S, Wang J, Pasinetti GM. "Grape Seed Polyphenolic Extract as a Potential Novel Therapeutic Agent in Tauopathies". *Journal of Alzheimer's Disease*, 16(2), 433-439, 2009.
- [9] Shi C, Cui J, Yin X, Luo Y, Zhou Z. "Grape Seed and Clove Bud Extracts as Natural Antioxidants in Silvercarp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Fillets During Chilled Storage: Effect on Lipid and Protein Oxidation". *Food Control*, 40, 134-139, 2014.
- [10] Bandonien D, Pukalskas A, Venskutonis PR, Gruzdien D. "Preliminary Screening of Antioxidant Activity of Some Plant Extracts in Rapeseed Oil". *Food Research International*, 33 (9), 785-791, 2000.
- [11] Reddy V, Urooj A, Kumar A. "Evaluation of Antioxidant Activity of Some Plant Extracts and Their Application in Biscuits". *Food Chemistry*, 90(1-2), 317-321, 2005.
- [12] Martinez J, Nieto G, Castillo J, Ros G. "Influence of in Vitro Gastrointestinal Digestion and/or Grape Seed Extract Addition on Antioxidant Capacity of Meat Emulsions". *Food Science and Technology*, 59(2), 834-840, 2014.
- [13] Barretto ACS, Ida EI, Silva RSF, Tores EAFS, Shimokornaki M. "Empirical Models for Describing Poultry Meat Lipid Oxidation Inhibition by Natural Antioxidants". *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(5), 587-594, 2003.
- [14] Roberts JS, Kidd DR, Padilla-Zakour O. "Drying Kinetics of Grape Seeds". *Journal of Food Engineering*, 89(4), 460-465, 2008.
- [15] Selcuk AR, Demiray E, Yılmaz Y. "Antioxidant Activity of Grape Seeds Obtained from Molasses (Pekmez) and Winery Production". *Akademik Gıda*, 9(5), 39-43, 2011.
- [16] Kenneth Helrich. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Virginia, USA, Association of Official Analytical Chemists Inc., 1990.
- [17] Bucic'-Kojic' A, Sovova H, Planinic' M, Tomas S. "Temperature-Dependent Kinetics of Grape Seed Phenolic Compounds Extraction: Experiment and Model". *Food Chemistry*, 136(3-4), 1136-1140, 2013.
- [18] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. "Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay". *Free Radical Biology&Medicine*, 26(9-10), 1231-1237, 1999.
- [19] Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts". *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675, 2006.