

## KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG PHENOLIC TỔNG VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA CỦA DẦU HẠT CITRUS

### INVESTIGATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENT AND THEIR ANTI- OXIDANT ACTIVITIES OF SELECTED CITRUS SEED OILS

Lê Thị Minh Thu<sup>1</sup>, Hoàng Trần Huyền Trân<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Lan Phi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại Học Bách Khoa TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại Học Quốc Tế TP. Hồ Chí Minh

Ngày tòa soạn nhận bài 30/12/2014, ngày phản biện đánh giá 16/01/2015, ngày chấp nhận đăng 02/2/2015

#### TÓM TẮT

*Phương pháp trích ly ảnh hưởng đến hàm lượng phenolic tổng, thành phần hợp chất tự nhiên như flavonoid, limonoid và hoạt tính chống oxi hóa của dầu hạt citrus (bưởi Da Xanh, bưởi Đường Hồng, cam Sành, chanh Núi). Hàm lượng phenolic tổng của dầu hạt citrus bằng phương pháp ép cơ học cao hơn so với dầu hạt bằng phương pháp trích ly dung môi. Thành phần phân cực của dầu hạt được nhận danh và bán định lượng bởi phương pháp LC-MS. Có 7 hợp chất được nhận danh trong dầu hạt, trong đó có 3 flavonoid bao gồm: 5,6,7,8,3',4'- hexamethoxyflavone (nobiletin); 3,3',4',5,6,7,8- heptamethoxyflavone; tangeretin và 4 limonoid bao gồm: deacetylnomilin; limonin; nomilin; obacunone. Hoạt tính chống oxi hóa (phương pháp DPPH) của dịch chiết dầu hạt bằng phương pháp ép cơ học cao hơn phương pháp trích ly dung môi. Kết quả cho thấy, dầu hạt cam Sành ở nồng độ 100 mg/mL dung dịch methanol 70% có phần trăm ức chế gốc tự do DPPH là 31.9%, tương đương với 42.8 µg BHT/mL.*

**Từ khóa:** Dầu hạt citrus, flavonoid, limonoid, hàm lượng phenolic, hoạt tính chống oxi hóa.

#### ABSTRACT

*The extraction methods influence significantly total phenolic content, bioactive compositions such as flavonoids, limonoids and antioxidant capacity of citrus seed oils (Da Xanh pomelo, Duong Hong pomelo, Sanh orange, Num lime). Total phenolic content of seed oils obtained by mechanical pressing is higher than that of oils obtained by solvent extraction method. The constituent of polar extracts of the oils was identified and semi-quantitated by LC-MS. There were 7 compounds tentatively identified in citrus seed oils, including 3 flavonoids (5,6,7,8,3',4'- hexamethoxyflavone (nobiletin); 3,3',4',5,6,7,8-heptamethoxyflavone; tangeretin) and 4 limonoids (deacetylnomilin; limonin; nomilin; obacunone). Citrus seed oils obtained by mechanical pressing also show higher DPPH free radical scavenging activity than oils obtained by solvent extraction do. The data of Sanh orange seed oil reveals that antioxidant activity with % DPPH scavenging of 31.9% at concentration of 100mg Sanh seed oil/mL solution of 70% methanol in water (v/v), equivalent to capacity of 42.8µg BHT/mL.*

#### I. GIỚI THIỆU

Chi *Citrus* là những loài cây phân bố rất rộng, gần như ở hầu hết các lục địa, thuộc họ Rutaceae, có nguồn gốc và phát triển rộng rãi ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới Đông Nam Á. Việt Nam có sản lượng trái cây nhiệt đới tương đối cao, đặc biệt là cây có múi (citrus). Việt Nam đứng vị trí thứ 29, chiếm khoảng

0.4% tổng sản lượng của thế giới, sản lượng cây có múi của nước ta vào năm 2012 là 548.346 tấn.

*Citrus* được sử dụng dưới dạng ăn tươi hoặc chế biến nước ép. Trong quá trình sản xuất nước ép ở qui mô công nghiệp, phần bỏ đi từ quá trình này bao gồm vỏ, hạt, thịt

quả, (chiếm khoảng 45 đến 58% nguyên liệu) là một sự lãng phí và tăng ô nhiễm môi trường[1]. Hạt citrus giàu acid béo không bão hòa và limonoid, có hoạt tính sinh học cải thiện sức khỏe con người như chống oxy hóa, kháng ung thư[2], giảm cholesterol, kháng vi rút[3]. Hạt cũng chứa một số hợp chất phenolic đáng kể, bao gồm phenolic acid và flavonoid. Flavonoid có mặt trong quả citrus: polymethoxylated flavone và glycosylated flavanone, có những hoạt tính sinh học kháng ung thư, kháng vi rút, kháng tiểu huyết cầu, kháng khuẩn và kháng nấm...[2].

Hạt citrus chứa khoảng 36% dầu, có thể thu hồi từ hạt bằng phương pháp ép cơ học hoặc trích ly dung môi. Dầu hạt có thể được sử dụng để nấu sau khi tinh luyện và có thể sử dụng trong công nghệ dược và mỹ phẩm[4].

Nghiên cứu này chúng tôi tiến hành so sánh hàm lượng phenolic tổng, thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của các loại dầu hạt (bưởi Đường Hồng, bưởi Da Xanh, cam Sành, chanh Núi) trên hai phương pháp ép cơ học và phương pháp Soxhlet truyền thống.

## II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Nguyên liệu

Hạt của 4 loại quả citrus, bưởi Đường Hồng (Đồng Nai), bưởi Da Xanh (Đồng Nai), cam Sành (Trà Vinh), chanh Núi (Đà Lạt) được làm khô dưới điều kiện nhiệt độ phòng cho đến khi độ ẩm của chúng đạt từ 7 đến 10%.

Dầu hạt thu được từ bằng cách ép hạt bởi máy ép cơ học Piteba Expeller Oil press (Hà Lan) và phương pháp trích ly dung môi bằng máy Soxhlet (sử dụng dung môi hexane, 3 giờ), được bảo quản ở 4°C trước khi sử dụng.

### 2. Hóa chất

- Methanol, acetonitrile, ethanol, acid formic, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Merck)
- Thuốc thử Folin-Ciocalteu, acid gallic, 2,2 Diphenyl-1-picryl-hydrazil radical (DPPH) (Sigma), butylated hydroxy-toluene (BHT) (Sigma).

### 3. Quá trình trích ly

Cân chính xác khoảng 1 gram dầu hạt vào ống li tâm 15 mL. Thêm 5 ml dung dịch methanol/nước 70/30 (v/v), trộn bằng vortex trong 1 phút trước khi siêu âm trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, mẫu được li tâm ở 5000 rpm trong 25 phút. Pha phân cực methanol được lọc qua màng lọc 0.45µm trước khi tiêm vào hệ LC-MS.

### 4. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Xác định hàm lượng phenolic tổng bằng phương pháp so màu sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu. Lấy 1 ml các dung dịch mẫu tác dụng với 5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10%, thêm 4ml dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1M, trộn đều hỗn hợp. Sau 1 giờ, đo độ hấp thụ ở bước sóng 750 nm. Hàm lượng phenolic tổng tương đương với số mg acid gallic trên kg chất khô (mg GAE/kg chất khô) dựa vào đường chuẩn của acid gallic. Đường chuẩn với các nồng độ xác định 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL (R<sup>2</sup>=1). Thí nghiệm được thực hiện 3 lần đối với tất cả các mẫu.

### 5. Phân tích LC-MS

Những hợp chất được tách và phân tích bởi hệ thống sắc kí lỏng ghép khối phổ đầu dò 3 tứ cực (Agilent 6410 Triple quad LC/MS/MS) bao gồm hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao LC1200, cột Apollo (C8, 4.6×150mm, 5µm) và đầu dò khối phổ ba tứ cực với kiểu ESI. Máy khối phổ hoạt động ở kiểu dương, với nhiệt độ khí 350°C, tốc độ khí 9 (l/phút), nebulizer 40 psi, capillary voltage 4000 V, khoảng khối phổ 160-800 m/z. Nhiệt độ cột 40°C. Pha động bao gồm dung dịch nước với 0.1% acid formic (dung môi A) và acetonitrile (dung môi B), sử dụng chương trình dung môi đẳng dòng với 60% A và 40% B, tốc độ dòng là 0.4 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu 1µL.

### 6. Hoạt tính chống oxy hóa

Phương pháp DPPH

Phương pháp ức chế gốc tự do DPPH dựa vào phản ứng khử của DPPH khi trộn với chất chống oxy hóa như polyphenol, mất màu tím của chúng và làm giảm độ hấp thụ của chúng ở 517 nm. Phần trăm của sự ức chế gốc tự do

DPPH được tính toán dựa vào phương trình sau đây:

$$\text{Phần trăm ức chế DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Trong đó  $A_1$  và  $A_0$  là độ hấp thụ ở cuối phản ứng trong dung dịch DPPH với có hoặc không có dịch chiết hạt [5]. Giá trị phần trăm ức chế DPPH tương đương với mg trolox(BHT)/ml. Mỗi mẫu được đo ở vài nồng độ và giá trị  $IC_{50}$  (mg/ml) được tính toán dựa vào phần trăm

ức chế tương ứng [6]. Cả phần trăm ức chế DPPH và giá trị  $IC_{50}$  tương quan âm với nồng độ cơ chất, mức độ chống oxi hóa càng cao thì phần trăm ức chế DPPH càng cao và giá trị  $IC_{50}$  càng thấp.

### III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 1. Hàm lượng phenolic tổng

Bảng 1: Phenolic tổng của các loại dầu hạt bằng phương pháp ép cơ học và phương pháp trích ly sử dụng dung môi

Hàm lượng phenolic tổng của các giống citrus (mg GAE/kg dầu)	Ép cơ học	Trích ly sử dụng dung môi
Bưởi Da Xanh	41.11	34.84
Bưởi Đường Hồng	51.03	39.27
Cam Sành	88.21	45.57
Chanh Núm	87.01	35.25

Hàm lượng phenolic tổng của các loại dầu hạt sử dụng phương pháp ép cơ học cao hơn hẳn so với phương pháp trích ly dung môi. Bởi vì, phương pháp ép cơ học sử dụng lực cơ học để ép lấy dầu mà không tác dụng nhiệt hoặc có thể trong quá trình ép, sự ma sát giữa nguyên liệu và máy làm cho nguyên liệu nóng lên, cũng có thể gây ra mất mát một số hợp chất tự nhiên. Đối với phương pháp trích ly dung môi bằng hệ Soxhlet, có gia nhiệt, dung môi sử dụng là hexane (có nhiệt độ sôi  $68^{\circ}\text{C}$ ), thời gian trích ly 3 giờ, như vậy quá trình trích ly này vừa tốn thời gian lâu, vừa bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ cao (khoảng  $68^{\circ}\text{C}$ ) nên những hợp chất tự nhiên trong dầu thu được ít hơn hẳn so với phương pháp ép cơ học.

#### 2. Phân tích thành phần dầu hạt bằng phương pháp LC-MS

Có 7 hợp chất được nhận danh trong dầu hạt bằng phương pháp LC-MS với thiết bị sử dụng là Agilent 6410 Triple quad LC/MS/MS, trong đó có 3 flavonoid bao gồm: 5,6,7,8,3',4' - hexamethoxyflavone (nobiletin) ; 3,3',4',5,6,7,8 -heptamethoxyflavone;

tangeretin và 4 limonoid bao gồm: deacetyl-nomilin; limonin; nomilin; obacunone được liệt kê trong bảng 2. Từ kết quả phân tích trong bảng 3 cho thấy, flavonoid có mặt trong dầu hạt cam Sành và chanh Núm. Các loại dầu hạt bưởi Da Xanh và Đường Hồng phát hiện thấy lượng flavonoid ở dạng vết.

So sánh dầu hạt giữa 2 phương pháp, lượng flavonoid trong dầu hạt cam Sành bằng phương pháp cơ học nhiều hơn so với dầu hạt cam Sành bằng phương pháp trích ly dung môi (cụ thể 5,6,7,8,3',4' -hexamethoxyflavone (nobiletin); 3,3',4',5,6,7,8 -heptamethoxyflavone; tangeretin trong dầu hạt bằng phương pháp ép cơ học lần lượt với phần trăm diện tích peak là 2.48%, 5.05%, 2.04%, trong khi đó dầu hạt cam sành bằng phương pháp trích ly dung môi chỉ chứa 3,3',4',5,6,7,8-heptamethoxyflavone với phần trăm diện tích tổng các peak là 3.84%). Phù hợp với kết quả hàm lượng phenolic tổng ở trên, với dầu hạt cam Sành bằng phương pháp ép cơ học (88.21 mg GAE/kg dầu) và dầu hạt cam Sành bằng phương pháp

trích ly dung môi (45.57 mg GAE/kg dầu). Dầu hạt chanh Núi bằg phương pháp ép cơ học chứa 5,6,7,8,3',4'-hexamethoxy flavone (nobiletin) chiếm 1.42% tổng diện tích các peak, trong khi đó dầu hạt chanh Núi bằg phương pháp trích ly dung môi không phát hiện thấy các flavonoid.

Từ kết quả phân tích cho thấy dầu hạt cit-

rus chứa lượng limonoid tương đối cao, ngoài ra còn chứa một lượng nhỏ flavonoid, trong đó cam Sành và chanh Núi chứa lượng flavonoid nhiều hơn các giống khác. Sử dụng phương pháp ép cơ học, thân thiện với môi trường, không sử dụng nhiệt và dung môi, thời gian nhanh và giữ lại được cả limonoid và flavonoid trong dầu hạt.

Bảng 2: Các hợp chất được nhận danh trong dầu hạt citrus

Hợp chất	Thời gian lưu (phút)	[M+H] <sup>+</sup>	m/z
Deacetylnomilin	16.45	472.8	454.8[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 436.8[M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 426.8[M+H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 412.8[M+H-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 369[M+H-CO <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> COOH] <sup>+</sup>
Limonin	20.25	470.8	453[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 435[M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 425[M+H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 410[M+H-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 367[M+H-CH <sub>3</sub> COOH-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
5,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone (nobiletin)	24.36	402.8	388[M+H-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 373[M+H-OCH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 355[M+H-H <sub>2</sub> O-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 327[M+H-CH <sub>4</sub> -2OCH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 211[ <sup>1,3</sup> A <sub>0</sub> +H] <sup>+</sup> , 165[ <sup>0,2</sup> B <sub>0</sub> ] <sup>+</sup>
Nomilin	26.29	514.8	496.8[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 469[M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 411[M+H-CH <sub>3</sub> COOH-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 393[M+H-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> COOH-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> ,
3,3',4',5,6,7,8-heptamethoxyflavone	27.45	432.8	403[M+H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 385[M+H+2CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 211[ <sup>1,3</sup> A <sub>0</sub> +H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 183[ <sup>0,2</sup> B <sub>0</sub> +H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 165[ <sup>0,2</sup> B <sub>0</sub> ] <sup>+</sup>
Tangeretin	33.12	372.8	343[M+H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 328[M+H-3CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 300[M+H-3CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup> , 211[ <sup>1,3</sup> A-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 135[ <sup>0,2</sup> B <sub>0</sub> ] <sup>+</sup>
Obacunone	35.16	454.8	437[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 419[M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409[M+H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 391[M+H-CO-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 331[M+H-CO-2H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> COOH] <sup>+</sup> , 315[M+H-CO <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> COOH] <sup>+</sup>

STT	Hợp chất	Thời gian lưu (phút)	Phương pháp ép cơ học				Phương pháp trích ly dung môi			
			Bưởi Da Xanh	Bưởi Đường Hồng	Cam Sành	Chanh Núi	Bưởi Da Xanh	Bưởi Đường Hồng	Cam Sành	Chanh Núi
1	Deacetylominilin	16.45	1.06	1.03	2.54	1.48	0.46	-	5	2.01
2	Limonin	20.25	19.21	23.19	19.28	22.01	11.9	11.46	18.24	4.94
3	5,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone (nobiletin)	24.36	-	-	2.48	1.42	-	-	-	-
4	Nomilin	26.29	67.29	62.83	32.66	45.09	80.39	73.56	49.66	48.26
5	3,3',4',5,6,7,8-heptamethoxyflavone	27.45	-	-	5.05	-	-	-	3.84	-
6	Tangeretin	33.12	-	-	2.04	-	-	-	-	-
7	Obacunone	35.16	11.77	9.43	13.92	21.23	5.45	8.95	6.68	14.32

Bảng 3: Thành phần của dầu hạt citrus bằng phương pháp ép cơ học và trích ly dung môi (tính theo phần trăm diện tích peak).

**3. Hoạt tính chống oxi hóa của dầu hạt**

dầu hạt phương pháp ép cơ học và phương pháp dung môi.

Bảng 4: Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết

Giống <i>Citrus</i>	Nồng độ (mg dầu/mL)	Ép cơ học			Trích ly bằng dung môi		
		% Ức chế	µg BHT/mL	IC <sub>50</sub>	% Ức chế	µg BHT/mL	IC <sub>50</sub>
Bưởi Đường Hồng	100	21.4	30.4	>400 mg/mL	16.2	24.2	>400 mg/mL
	200	33.4	44.5		27.8	37.9	
	400	42.8	55.6		33.9	45.1	
Bưởi Da Xanh	100	25.3	35.0	>400 mg/mL	18.8	27.3	>400 mg/mL
	200	34.8	46.2		28.6	38.9	
	400	37.8	49.7		30.3	40.9	
Cam Sành	100	31.9	42.8	189.5 mg/mL	26.2	36.0	301.9 mg/mL
	200	52.1	66.6		45.3	58.6	
	400	62.8	79.3		51.5	65.9	
Chanh Núi	100	29.9	40.4	216 mg/mL	28.2	38.4	>400 mg/mL
	200	49.0	63.0		44.3	57.4	
	400	60.7	76.8		46.8	60.4	

Hợp chất phenolic có vai trò quan trọng đối với hoạt tính chống oxi hóa của dầu hạt, thành phần acid béo không bão hòa và thành phần tocopherol cũng góp phần đáng kể vào hoạt tính chống oxi hóa của dầu hạt[7].

Theo bảng 1, hàm lượng phenolic của dầu hạt bằng phương pháp ép cơ học cao hơn so với phương pháp trích ly dung môi. Kết quả ở bảng 4, phần trăm ức chế gốc DPPH của dịch chiết dầu hạt bằng phương pháp ép cơ học cũng cao hơn phương pháp trích ly dung môi.

Dầu hạt cam Sành và chanh Núi có khả năng kháng oxi hóa cao hơn các giống bưởi Da Xanh và Đường Hồng bởi vì hàm lượng phenolic và thành phần flavonoid (phân tích bằng LC-MS) của cam Sành và chanh Núi cao hơn so với dầu hạt bưởi Da Xanh và bưởi Đường Hồng.

Giá trị IC<sub>50</sub> của BHT là 64.3 µg/mL, sử

dụng làm chất đối chứng dương để so sánh với giá trị IC<sub>50</sub> của các loại dầu khác nhau. Dựa vào kết quả ở bảng 4, dầu hạt cam Sành và chanh Núi (bằng phương pháp ép cơ học) có giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 189.5 mg/mL, 216 mg/mL, dầu hạt cam Sành và chanh Núi bằng phương pháp trích ly dung môi lần lượt là 301.9 mg/mL và lớn hơn 400 mg/mL. Dầu hạt các giống bưởi Da Xanh và bưởi Đường Hồng của cả 2 phương pháp ép cơ học và trích ly dung môi đều có IC<sub>50</sub>>400mg/mL.

**4. Kết luận**

Thành phần hợp chất tự nhiên của dầu hạt citrus bị ảnh hưởng bởi phương pháp trích ly. Hàm lượng phenolic tổng, limonoid, flavonoid và hoạt tính chống oxi hóa của dầu hạt citrus từ phương pháp ép cơ học cao hơn so với phương pháp trích ly dung môi. Bên cạnh đó, hàm lượng các hợp chất flavonoid được

phát hiện trong dầu hạt cam Sành và chanh Núi nhiều hơn so với hạt giống bưởi Đường Hồng và Da Xanh.

Hiện nay hầu như chưa có nghiên cứu được công bố về thành phần hợp chất tự nhiên trích ly từ dầu hạt quả citrus ở Việt Nam. Vì thế,

nghiên cứu này góp phần cung cấp các thông tin về thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của dầu hạt, nhằm mục đích tận dụng phế thải và nâng cao giá trị của nó. Dầu hạt citrus trở thành một sản phẩm có giá trị kinh tế, có thể sử dụng làm nguyên liệu trong công nghệ dược phẩm và mỹ phẩm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anwar, F., et al., *Physico-Chemical Characteristics of Citrus Seeds and Seed Oils from Pakistan*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008. **85**(4): p. 321-330.
2. Bocco, A., et al., *Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998. **46**(6): p. 2123-2129.
3. Manners, G.D., *Citrus Limonoids: Analysis, Bioactivity, and Biomedical Prospects*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(21): p. 8285-8294.
4. Zhong, F.S.a.Y., *Citrus oils and Essences*, in *Kirk-Othmer Chemical Technology of Cosmetics*, I. John Wiley & Sons, Editor 2013, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. p. 409-425.
5. Benariba, N., et al., *Phytochemical screening and free radical scavenging activity of Citrullus colocynthis seeds extracts*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2013. **3**(1): p. 35-40.
6. Jothy, S.L., Z. Zuraini, and S. Sasidharan, *Phytochemicals screening, DPPH free radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activities of Cassia fistula seeds extract*. J Med Plants Res, 2011. **5**: p. 1941-1947.
7. Tuberoso, C.I.G., et al., *Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use*. Food Chemistry, 2007. **103**(4): p. 1494-1501.