

Skład i właściwości antyoksydacyjne barwnych frakcji wyodrębnionych z pszczelego pyłku kwiatowego

Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Iwona Wawer

COMPOSITION AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF COLOUR FRACTION ISOLATED FROM THE BEE POLLEN

SUMMARY

Bee-gathered pollen is one of the most completely nourishing foods as it contains nearly all nutrients required by humans. Pollens are rich in proteins, free amino acids, carbohydrates, fatty acids, vitamins, including C, B-complex and folic acid, also flavonoids, phenolic acids, carotenoids and minerals. These active components, mainly antioxidants, are responsible for anti-inflammatory effect, help strengthen blood vessels and act to normalize cholesterol levels in the blood. Bee pollen is a mixture of granules of different color. The aim of this study was to assess the composition and antioxidant activity of fractions of the bee pollen separated by color. Five fractions and whole pollen were extracted with water solutions of ethanol (65%) and acetone (55%, 60%). The content of total phenolic compounds, flavonoids, carotenoids, and also antioxidant activity by the DPPH free radical scavenging method were determined. All obtained results appeared to be closely related with color of pollen, and also with kind of solvent used for extraction. Highest values of the total contents of phenolic compounds and total flavonoids were obtained for black-violet (I) and yellow (III) fractions: polyphenols (65% EtOH): $29,68 \pm 0,11$ and $23,87 \pm 0,53$ mg of GAE/g respectively, flavonoids (60% Ac): $6,25 (\pm 0,42)$, $6,65 (\pm 0,31)$ mg of catechin/g respectively. For these two fractions also highest radical scavenging activities were observed. Otherwise, for fraction II (orange) with the smallest antioxidant activity, the highest amount of carotenoids were found.

KEY WORDS: BEE POLLEN – ANTIOXIDANTS –
FLAVONOIDS – POLYPHENOLS – CAROTENOIDS
– CARBOHYDRATES – EPR – DPPH

Wstęp

Produkty pszczele, takie jak miód, mleczko pszczele, propolis, pyłek pszczeli, od wielu lat stosowane są zarówno w celach profilaktycznych, jak i terapeutycznych. Właściwości lecznicze tych produktów były znane już w starożytności. Egipcjanie stosowali propolis do balsamowania zwłok, a Hipokrates uważał miód za cudowny lek. Stosowany był on do leczenia trudno gojących się ran oraz chorób wątroby.

Pszczeli pyłek kwiatowy (obnoże pszczele) jest cennym produktem pochodzenia pszczelego. Często

nazywany jest cudowną odżywką, gdyż zawiera wiele ważnych dla życia i zdrowia człowieka substancji odżywczych. Podstawowymi składnikami pyłku są węglowodany, błonnik, białko oraz lipidy występujące w różnych proporcjach. Procentowa zawartość tych związków zależy głównie od pochodzenia gatunkowego, ale także od pochodzenia geograficznego, warunków klimatycznych oraz rodzaju gleby, a więc pyłek kwiatowy może znacznie różnić się pod względem wartości odżywczych. Według danych piśmiennictwa węglowodany występują w ilości około 13-55%, błonnik 0,3-20%, białko 10-40%, a lipidy w ilości 1-10%. W mniejszych ilościach występują takie składniki, jak: witaminy, biopierwiastki, karotenoidy oraz związki fenolowe, sterole i terpeny (1). Zawartość węglowodanów, największej grupy składników w pyłku pszczelim, może znacznie wahać się w zależności od gatunku rośliny, a także od warunków geograficznych i miejsca pochodzenia. Są to głównie cukry redukujące: fruktoza – ok. 25%, glukoza – 15%, maltoza ok. 2%; oraz dodatkowo cukry nieredukujące – sacharoza ok. 4% (2, 3).

Aminokwasy endogenne organizm ludzki jest w stanie sam wytworzyć, natomiast aminokwasy egzogenne muszą być dostarczone do organizmu wraz z pożywieniem. Pyłek jest bogaty zarówno w aminokwasy endogenne, jak i egzogenne (4). Dlatego może być wykorzystywany do terapii wspomagających leczenie chorób wycieńczających organizm, jak anoreksja, czy nowotwory.

W pyłku kwiatowym obecne są również kwasy tłuszczowe, zarówno nasycone, jak i nienasycone. Wśród nasyconych kwasów tłuszczowych w największych ilościach występują kwasy: kaprynowy, palmitynowy, laurynowy oraz arachidowy. Z kwasów nienasyconych można wyróżnić: linolowy (5-25%), α -linolenowy (25-55%) i kwas oleinowy. Kwasy te tworzą łatwo rozpuszczalne kompleksy z cholesterolem i w związku z tym przyczyniają się do obniżenia jego stężenia we krwi, zapobiegając tym samym powstawaniu miażdżycy (1).

W omawianym produkcie dominują witaminy z grupy B, witamina C (do 300 mg w 100 g pyłku), witamina A (do 200 mg w 100 g pyłku) i witamina E (40-320 mg w 100 g pyłku) (5).

Pyłek kwiatowy bogaty jest w związki polifenolowe, głównie flawonoidy i kwasy fenolowe (6-8). Zawartość flawonoidów waha się w granicach 0,2-2,5%. Wartości te mogą znacznie różnić się w zależności od pochodzenia pyłku. Związki te występują głównie w połączeniu z cząsteczkami cukrów, w formie glikozydowej. Najczęściej występującymi związkami z tej grupy są pochodne kemferolu, apigeniny, luteoliny oraz kwercetyny. W postaci aglikonów występują: kwercetyna, luteolina i kemferol. W pyłku występują również w niewielkiej ilości (< 1%): leukoantocyjandyny, pochodne katechiny oraz kwasy fenolowe (kwas ferulowy, p-kumarowy oraz chlorogenowy) (9).

Dzięki zawartości flawonoidów, pyłek pszczele wykazuje działanie uszczelniające i wzmacniające naczynia krwionośne, poprawia krążenie krwi i pracę serca. Ponadto związki polifenolowe cechują się silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi, przez co pyłek zdolny jest do wymiatania wolnych rodników i chroni organizm przed niekorzystnym wpływem reaktywnych form tlenu (10). Dzięki temu znalazł zastosowanie w profilaktyce choroby miażdżycowej (11, 12). Pyłek pszczele wykazuje także właściwości przeciwzapalne (8) oraz przeciwobrzękowe (13), działa ochronnie na wątrobę (14). Stosowany jest również w kosmologii do pielęgnacji skóry w różnych rodzajach kremów, tonikach czy balsamach. Wykazuje on właściwości odnawiające, odżywcze oraz opóźnia starzenie się organizmu (anti-age). Stosowany jest w szamponach i odżywkach do włosów. Dzięki zawartości cysteiny – aminokwasu siarkowego, pobudza wzrost włosów, a także wzmacnia ich strukturę (1).

Właściwości odżywcze i terapeutyczne pyłku są obiektem badań naukowych na całym świecie. Bardzo ważne jest zbadanie poszczególnych frakcji pszczelego pyłku kwiatowego, ponieważ różnią się one między

sobą zawartością substancji aktywnych i w dużej mierze odpowiadają one za różnego rodzaju oddziaływanie na organizm człowieka. Niestety brak jest jakichkolwiek doniesień piśmiennictwa na ten temat.

Cel pracy

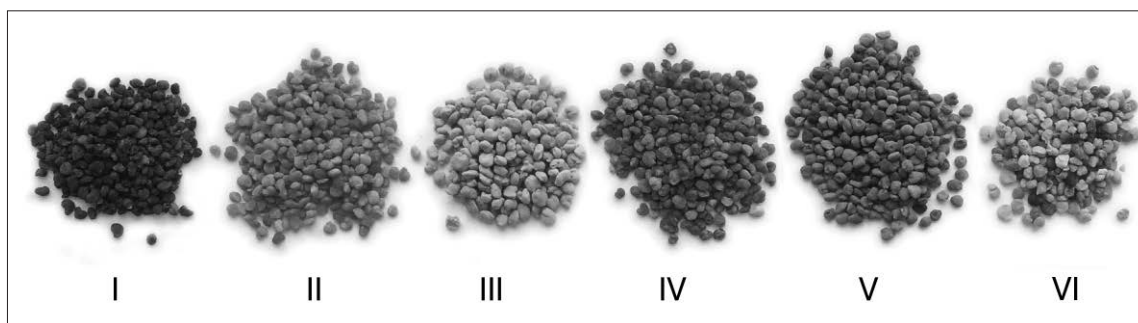
Celem badań było określenie składu (polifenoli, flawonoidów i karotenoidów) oraz właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów poszczególnych barwnych frakcji wyodrębnionych z pszczelego pyłku kwiatowego w porównaniu z produktem wyjściowym, także w zależności od rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji.

Materiały i metody

Surowcem, który został użyty w badaniu był pszczele pyłek kwiatowy, zwany dalej pyłkiem kwiatowym, firmy Apipol z Krakowa. Materiał został podzielony przez firmę pod względem barwy na 5 próbek (ryc. 1). Zostały one ponumerowane od I do V (tab. 1). Próbkę VI stanowił pyłek kwiatowy będący mieszaniną wszystkich kolorów (produkt wyjściowy). Tę samą numerację próbek zastosowano przy opisie badanych ekstraktów. Procentową zawartość poszczególnych frakcji w pyłku kwiatowym wyznaczono wagowo.

Tabela 1. Podział pyłku kwiatowego na próbki o określonej barwie oraz procentowa zawartość poszczególnych próbek w produkcie wyjściowym.

Numer próbki	Barwa	Zawartość (%)
I	fioletowoczarna	5,4
II	pomarańczowa	6,3
III	żółta	31,4
IV	brązowa	47,4
V	zielona	9,5
VI	produkt wyjściowy	100



Ryc. 1. Podział próbek pod względem koloru.

Ekstrakcję przeprowadzono za pomocą 55% i 60% acetonu oraz 65% etanolu, biorąc po 2,5 g pyłku na 50 ml rozpuszczalnika. Kryterium wyboru stężenia ekstrahenta była wysoka zawartość antyoksydantów w wyciągach, na co wskazywały wyniki wcześniejszych badań przeprowadzonych dla pyłku kwiatowego (15). Proces ekstrakcji przy użyciu etanolu przeprowadzono w temp. 45°C, a przy użyciu acetonu w temperaturze pokojowej. Próbkę pyłku wytrząsano z rozpuszczalnikiem przez 1 godz., a następnie po przesączeniu, pozostałość ponownie ekstrahowano. Oba ekstrakty połączone ze sobą i przechowywano w lodówce do dalszych analiz.

Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli metodą Folin-Ciocalteu

Badanie wykonano za pomocą metody Folin-Ciocalteu (16) przy użyciu spektrofotometru UV-VIS Thermo Scientific Evolution 60S, wyrażając wynik w przeliczeniu na kwas galusowy (mg kwasu galusowego/g otrzymanego ekstraktu). Do 20 μ l ekstraktu (lub wzorca) dodano 1,58 ml wody Millipore oraz 100 μ l odczynnika Folin-Ciocalteu, mieszano przez 2 min, a następnie dodano 300 μ l 20% roztworu węgla sodowego. Próbkę termostatowano w 40°C przez 20 min. Następnie zmierzono absorbancję próbki przy długości fali 765 nm wobec ślepej próby.

Oznaczanie całkowitej zawartości flawonoidów

Badanie wykonano za pomocą metody opracowanej przez Kim i wsp. (17) przy użyciu spektrofotometru UV-VIS Thermo Scientific Evolution 60S. Do 100 μ l ekstraktu (lub roztworu wzorcowego) dodano 1,4 ml wody Millipore, 60 μ l 5% azotanu sodu oraz 60 μ l 10% chlorku glinu. Mieszano przez 2 min, następnie termostatowano w 25°C przez 5 min. Po tym czasie do mieszaniny dodano 0,4 ml 1 mol roztworu wodorotlenku sodu. Zmierzono absorbancję próbki przy długości fali 510 nm wobec ślepej próby. Zawartość flawonoidów zmierzono na podstawie krzywej wzorcowej, stosując jako wzorzec katechinę.

Oznaczanie zawartości karotenoidów

Oznaczanie karotenoidów z wprowadzonymi modyfikacjami, wykonano według metody Ferreira i wsp. (18). Do 10 ml ekstraktów etanolowych i acetonowych dodano po 6 ml n-heksanu i wytrząsano w ciemności przez 90 min. Następnie próbki odstawiono na 15 min w celu rozdzielenia faz. Pobrano górną warstwę (heksanową) i zmierzono absorbancję przy długości fali 450 nm wobec ślepej próby (heksan). Wyniki zostały przedstawione jako zawartość karotenoidów (μ g) w gramie próbki, obliczoną ze średniego

współczynnika absorbancji karotenoidów (19). Pomiar wykonywano trzykrotnie dla każdej próbki. Karotenoidy oznaczono również bezpośrednio w pyłku kwiatowym przy użyciu mieszaniny acetonu i n-heksanu. Przygotowano po 1 g frakcji pyłku oraz produktu wyjściowego, roztartych w moździerzu, następnie dodano do nich po 10 ml mieszaniny acetonu i n-heksanu (zmieszanych w stosunku 6:4). Dalsza procedura i oznaczanie prowadzono jak wyżej.

Oznaczanie zdolności wymiatania wolnych rodników z wykorzystaniem testu DPPH

Pomiar właściwości przeciwrodnikowych ekstraktów wykonano z użyciem rodnika DPPH (1,1-difenyl-2-pikrylohydrazyl) za pomocą spektrometru EPR MiniScope MS200. Wynik przeliczono na ilość DPPH (mg) jaka została zneutralizowana przez 1 g pyłku kwiatowego

Wyniki i dyskusja

Zawartość związków polifenolowych

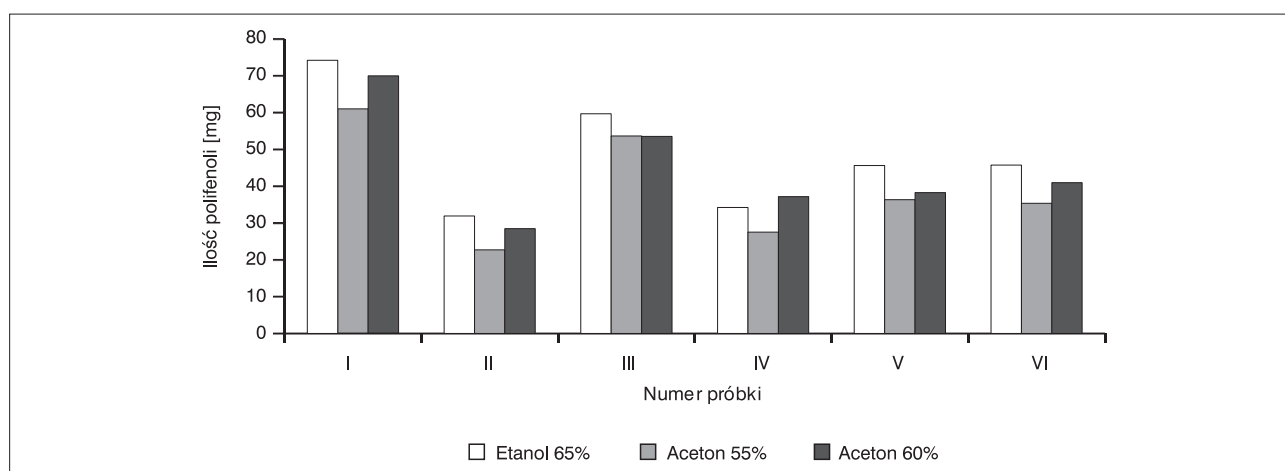
Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli w poszczególnych frakcjach pyłku pszczelego oraz w produkcie wyjściowym przeprowadzono dla wszystkich sześciu próbek w trzech grupach ekstraktów (tab. 2). Porównując zawartość polifenoli (ryc. 2) można zauważyć, że największą zawartość tych związków wykazuje próbka I pyłku kwiatowego o zabarwieniu fioletowoczarnym. Najprawdopodobniej próbka ta zawiera najwięcej leukoantocyjanidyn, które nadają barwę fioletowoczarną, fioletową, czy granatową owocom i kwiatom, z których te ziarna pyłku prawdopodobnie pochodzą.

Dużą zawartością polifenoli cechuje się również próbka III pyłku kwiatowego o barwie żółtej, natomiast próbka II o barwie pomarańczowej oraz próbka IV o zabarwieniu brązowym charakteryzowały się stosunkowo niską zawartością tych związków.

Rozpatrując dobór rozpuszczalnika, najlepsze wyniki, dotyczące całkowitej zawartości polifenoli, otrzymano dla próbek pyłku kwiatowego ekstrahowanych 65% etanolem. Ponadto wartości dla wszystkich sześciu próbek są zbliżone, do próbek pyłku kwiatowego ekstrahowanych 60% acetonem. Najmniejszą całkowitą zawartość polifenoli uzyskano dla próbek pyłku kwiatowego ekstrahowanych 55% acetonem. Prawdopodobnie świadczy to o lepszej rozpuszczalności polifenoli w etanolu. Z punktu widzenia zastosowania pyłku kwiatowego ma to ogromne znaczenie, ponieważ etanol stosowany jest często jako rozpuszczalnik w wielu dziedzinach przemysłu: między innymi w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym.

Tabela 2. Zawartość polifenoli w ekstraktach z pyłku kwiatowego.

Numer próbki	Zawartość polifenoli (mg)		
	Ekstrakty etanolowe 65%	Ekstrakty acetonowe 55%	Ekstrakty acetonowe 60%
I	29,68 (± 0,11)	24,40 (± 0,03)	27,98 (± 0,42)
II	12,76 (± 0,49)	9,07 (± 0,15)	11,38 (± 0,40)
III	23,87 (± 0,53)	21,46 (± 0,14)	21,40 (± 0,03)
IV	13,68 (± 0,15)	11,00 (± 0,03)	14,85 (± 0,05)
V	18,24 (± 0,048)	14,53 (± 0,33)	15,30 (± 0,06)
VI	18,29 (± 0,11)	14,14 (± 0,06)	16,38 (± 0,28)

**Ryc. 2.** Porównanie zawartości polifenoli w ekstraktach z pyłku kwiatowego.

Zawartość flawonoidów

Jedną z grup zaliczanych do związków fenolowych są flawonoidy. Oznaczenie ich zawartości (tab. 3) przeprowadzono dla wszystkich próbek uzyskanych w wyniku ekstrakcji trzema rozpuszczalnikami (podobnie jak w przypadku polifenoli).

Całkowita zawartość flawonoidów w próbkach pyłku kwiatowego mieściła się w granicach 2-7 mg/g próbki (tab. 3). Według Pascoala i wsp. (8) zawartość tych związków w pyłku kwiatowym waha się od 3,7 do 10,1 mg/g pyłku. Największą zawartość flawonoidów stwierdzono w próbce III pyłku kwiatowego o barwie żółtej (5,5-6,7 mg/g). Dla próbek I, III i IV lepszym ekstrahentem od 65% etanolu okazał się 60% aceton (ryc. 3). Procentowa zawartość flawonoidów w tym ekstrakcie wynosi 35-38%. Może to wskazywać na większą obecność w tych próbkach aglikonów flawonoidowych, które wykazują większą rozpuszczalność w acetonie niż w etanolu. Można jednak przypuszczać, że wyniki te są zaniżone, po-

nieważ stosując metodę oznaczenia z $AlCl_3$ możemy nie zaobserwować części flawonoidów w postaci glikozydowej, a taka forma jest bardzo powszechna w produktach naturalnych.

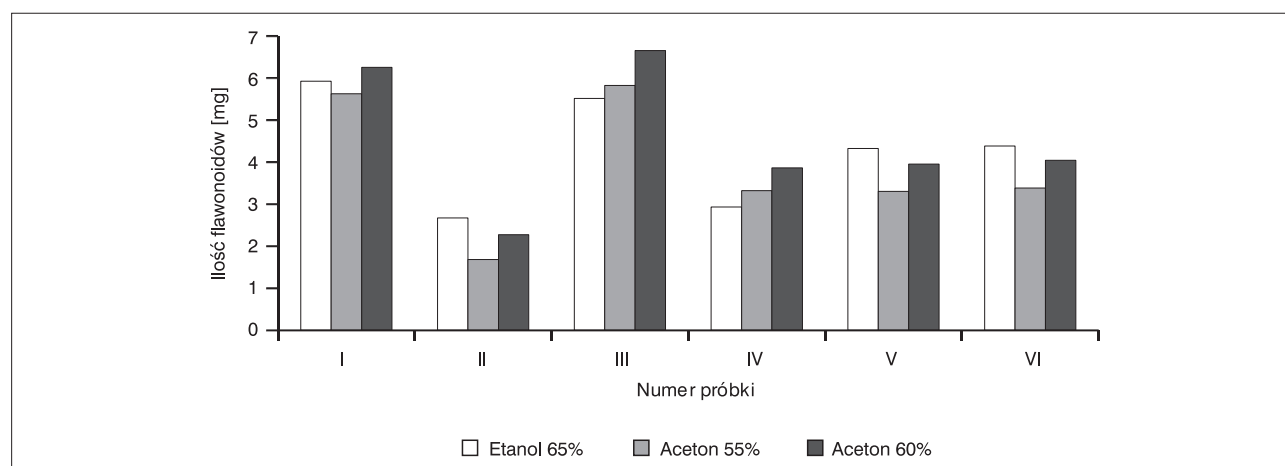
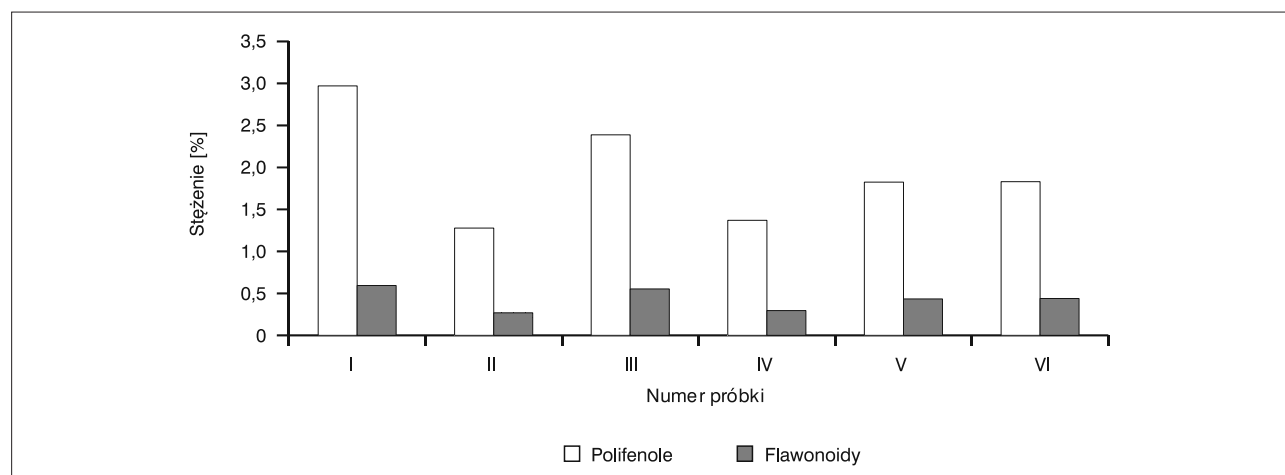
Należy dodać, że procentowa zawartość polifenoli w 1 g próbki oraz w produkcie wyjściowym waha się w granicach 1,3-3%, natomiast zawartość flawonoidów mieści się w granicach 0,3-0,6% (ryc. 4). Natomiast zawartość flawonoidów wśród puli polifenolowej mieści się w granicach 19-30%.

Zawartość karotenoidów

Stwierdzono, że najwyższą zawartością karotenoidów niezależnie od użytego ekstrahenta, odznacza się próbka II o zabarwieniu pomarańczowym, natomiast najniższą zawartość tych związków wykryto w próbce III o barwie żółtej. Ze względu na to, że uzyskane wartości były bardzo małe (w granicach błęd), oznaczenia powtórzono przeprowadzając ekstrakcję za pomocą mieszaniny heksan-aceton. Ponownie dużą zawartość karotenoidów oznaczono

Tabela 3. Zawartość flawonoidów w ekstraktach z pyłku kwiatowego.

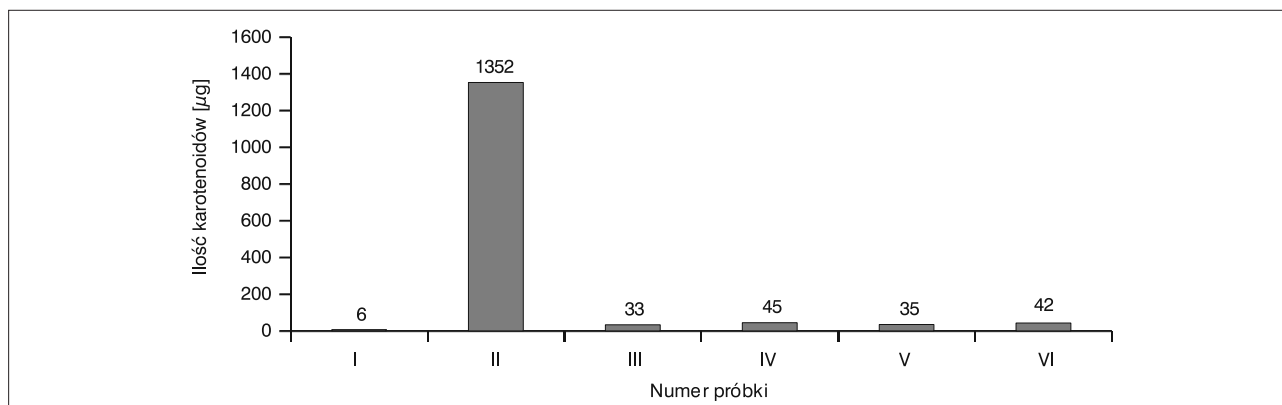
Numer próbki	Zawartość flawonoidów (mg)		
	Ekstrakty etanolowe 65%	Ekstrakty acetonowe 55%	Ekstrakty acetonowe 60%
I	5,92 (± 0,17)	5,62 (± 0,37)	6,25 (± 0,42)
II	2,67 (± 0,12)	1,68 (± 0,08)	2,27 (± 0,11)
III	5,51 (± 0,16)	5,82 (± 0,26)	6,65 (± 0,31)
IV	2,93 (± 0,14)	3,32 (± 0,10)	3,86 (± 0,24)
V	4,32 (± 0,17)	3,30 (± 0,16)	3,95 (± 0,13)
VI	4,38 (± 0,11)	3,38 (± 0,12)	4,04 (± 0,12)

**Ryc. 3.** Porównanie zawartości flawonoidów w ekstraktach z pyłku kwiatowego.**Ryc. 4.** Procentowa zawartość polifenoli i flawonoidów w ekstraktach z pyłku kwiatowego otrzymanych za pomocą 65% etanolu.

w próbce II (1352 μg) (ryc. 5). Natomiast w pozostałych próbkach zawartość karotenoidów wahała się w granicach 6,2-42,4 $\mu\text{g/g}$. Próbką II charakteryzuje się intensywnie pomarańczowym zabarwieniem, zatem istnieje duże prawdopodobieństwo, iż zawiera znaczne ilości β -karotenu.

Właściwości antyoksydacyjne

Właściwości antyoksydacyjne pyłku kwiatowego zbadano za pomocą elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR, oznaczając zdolność tego produktu do neutralizowania rodnika DPPH.



Ryc. 5. Zawartość karotenoidów w badanych próbkach pyłku kwiatowego.

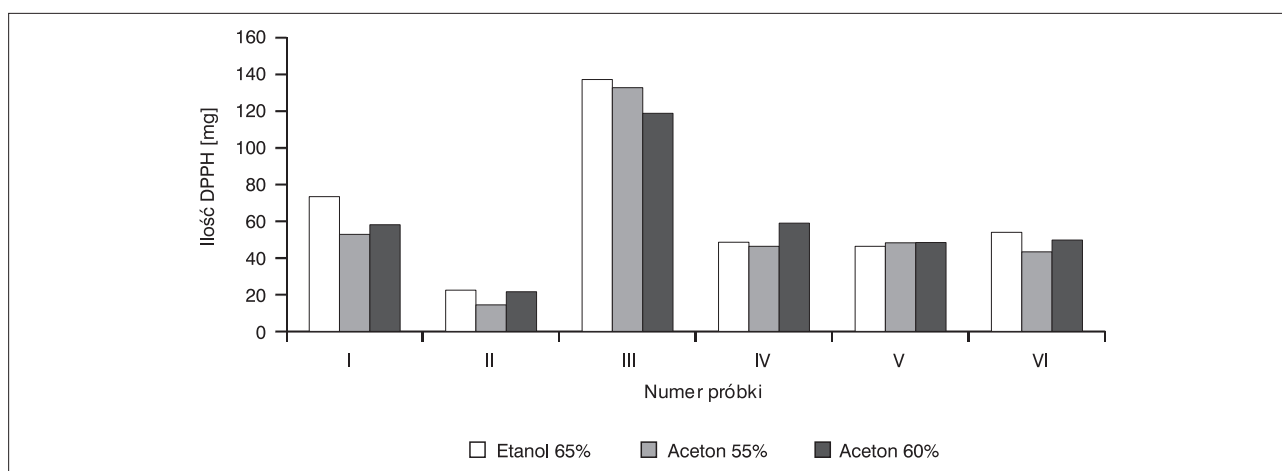
Badania wykazały, że różnice pomiędzy ekstraktami etanolowymi i acetonowymi uzyskanymi z pyłku kwiatowego były niewielkie (ryc. 6). Największą aktywnością antyoksydacyjną odznaczały się ekstrakty otrzymane z próbki III o zabarwieniu żółtym. Prawdopodobnie jest to wynik dużego stężenia substancji o silnych właściwościach antyoksydacyjnych, np. kwercetyny i jej glikozydów. Flawonoidy te charakteryzują się żółtym zabarwieniem.

Wnioski

1. Do oznaczania całkowitej zawartości polifenoli w próbkach pyłku kwiatowego najlepszym ekstraktem okazał się 65% etanol. Najwięcej polifenoli stwierdzono w pyłku kwiatowym o zabarwieniu fioletowoczarnym, co może wskazywać na obecność w nim dużej zawartości antocyjanów.
2. Zawartość flawonoidów w próbkach pyłku kwiatowego była zależna od zastosowanego ekstrahenta, a także od zabarwienia ziaren pyłku. Dla próbek

pyłku kwiatowego o barwie żółtej i brązowej najlepszym ekstraktem okazał się aceton 60%, co może wskazywać na dużą zawartość w tych próbkach flawonoidów w formie aglikonu, które łatwiej rozpuszczają się w acetonie niż w etanolu.

3. Największą zawartość karotenoidów stwierdzono w próbce pyłku kwiatowego o zabarwieniu pomarańczowym. Prawdopodobnie w próbce tej znajdują się znaczne ilości β -karotenu i jego analogów, które cechują się intensywnie pomarańczową barwą. Do ekstrakcji karotenoidów z pyłku kwiatowego najlepszym ekstraktem okazała się mieszanina heksanu i acetonu.
4. Największą aktywność przeciwutleniającą wykazywała próbka pyłku kwiatowego o zabarwieniu żółtym. Może to świadczyć o dużej roli związków flawonoidowych w tym procesie. Na tej podstawie przypuszczamy, że aktywność przeciwutleniająca jest związana także z obecnością innych substancji, które eliminują wolne rodniki.



Ryc. 6. Porównanie ilości DPPH (mg) zneutralizowanego przez 1 g ekstraktu otrzymanego z pyłku kwiatowego za pomocą różnych ekstrahentów.

Piśmiennictwo

1. Feás X, PilarVázquez-Tato M, Estevinho L i wsp. Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules* 2012; 17:8359-77. 2. Campos MGR, Bogdanov S, Bicudo de Almeida-Muradian L i wsp. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J Apicult Res* 2008; 47(2):156-63. 3. Iannuzzi J. Pollen: food for honey bee- and man? *Am Bee J* 1993; 133:557-63. 4. Szczęsna T, Rybak-Chmielewska H, Chmielewski W. Pyłek kwiatowy (obnóza) – naturalna odżywka i surowiec farmaceutyczny. Wyd Inst Sadown i Kwiac, Skierniewice 1999. 5. Szczęsna T. Projekt międzynarodowej normy pyłku pszczelego; *Pasieka* 2004; 4. 6. Kędzia B. Skład chemiczny i adaptogenne działanie pszczelego pyłku kwiatowego. Cz I. Skład chemiczny. *Post Fitoter* 2008; (1)47-58. 7. Gheribi E. Znaczenie związków polifenolowych z owoców i warzyw w dietoterapii miazdżycy. *Med Rodz* 2013; 4:149-53. 8. Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A i wsp. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food Chem Toxicol* 2014, 63:233-9. 9. Rzepecka-Stojko A, Stec M, Kurzeja E i wsp. The effect of storage of bee pollen extracts on polyphenol content. *Pol J Environ Stud* 2012; 21(4):1007-11. 10. LeBlanc BW, Davis OK, Boude S i wsp. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chem* 2009; 115:1299-305. 11. Majewska E, Trzanek J. Właściwości przeciwutleniające miodów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. *Bromatol Chem Toksykol* 2009; 52:1089-94. 12. Jędrzejko K, Malcher J. Pyłek kwiatowy – Cz III. *Panacea* 2008; 2(23):22-23. 13. Choi EM. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*P. densiflora*) pollen extract. *Phytother Res* 2007; 21(5):471-5. 14. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Antyhepatotoksyczne działanie pyłku kwiatowego. *Post Fitoter* 2011; 3:202-7. 15. Ambroziak E. Optymalizacja warunków ekstrakcji pyłków pszczelich pod kątem właściwości antyoksydacyjnych. Praca magisterska Zakł Chem Fiz WUM, Warszawa 2013. 16. Waterhouse AL. Determination of total phenolics. *Curr Protoc Food Analyt Chem* 2001; I.1.1.1-8. 17. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem* 2003; 81(3):321-6. 18. Ferreira I, Aires E, Barreira JCM i wsp. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chem* 2009; 114:1438-43. 19. Scott KJ. Handbook of food analytical chemistry. Pigments, colorants, flavors, texture and bioactive food components. John Wiley&Sons Inc; 2001; F2:71-91.

otrzymano/received: 03.04.2014

zaakceptowano/accepted: 15.05.2014

Adres/address:

*dr n. farm. Katarzyna Paradowska

Zakład Chemii Fizycznej

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

tel. +48 (22) 572-09-50

e-mail: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl