

土肉桂陰香分子及葉片精油鑑別之比較性研究

莊凱扉、李世傑

E-mail: 345439@mail.dyu.edu.tw

摘要

土肉桂 (*Cinnamomum osmophloeum* Kanehira) 為原產於台灣的極珍貴森林資源，近年來種苗業者將外來引進之陰香 (*Cinnamomum burmannii* (Nees) Bl.) 以土肉桂之名，魚目混珠的販售，因葉部形態非常近似不易辨別。傳統上以形態學或組織學之特徵鑑別植物之效果有限，尤其於幼苗期可判視之特徵極少，更是難以區分。本研究以土肉桂及陰香這兩種易混淆的植物為材料，比較探討利用化學與DNA分子標記(molecular marker)來對土肉桂與陰香加以鑑別技術優劣之比較。本試驗所使用土肉桂與陰香之樣株分別採自花蓮兆豐農場、嘉義社口林場與高雄岡山等地。本研究除開發可同時分析、定量14種土肉桂、陰香主要精油成分的氣相層析儀實驗條件，分析不同地區、季節採收之精油成分變化外，也對所萃取的精油進行抗氧化活性測試。試驗結果顯示土肉桂與陰香精油組成有明顯差異氣相層析儀圖譜指出土肉桂主要成分滯留時間30分至55分鐘，其含Linalool、Terpineol與Cinnamaldehyde；陰香要成分滯留時間15分至30分鐘，其含Pinene、Cymene、Limonen與Cineole。活性測試顯示，相較之下土肉桂具有極佳的DPPH抗氧化能力，陰香則抗氧化能力明顯較差。DNA分子標記試驗藉由分析核糖體DNA非編碼區之pITS2 (partial non-coding internal transcribed spacer 2, pITS2)序列以及葉綠體DNA (chloroplast DNA)之trnL-trnF序列，以探討土肉桂與陰香之基因歧異度(genetic diversity)與核?酸序列多型性(nucleotide polymorphism)。結果顯示，經多片段排比 (Multiple sequence alignments, 相較於trnL intron與trnL-trnF IGS, pITS2具有較高之核?酸序列多型性。系統發育樹 (phylogenetic trees) 之分析結果也指出，利用最大簡約法 (maximum parsimony, MP) 與鄰接法(neighbor-joining, NJ) 可成功地將土肉桂與陰香樣本正確鑑別分群。我們認為藉由pITS2之序列多型性可作為基因上的分類與建立DNA序列資料庫，便於未來基原 (gene resource) 鑑定之用。綜合上述，利用pITS2的DNA序列，可以成功作為土肉桂與陰香，甚至是樟屬種間物種之鑑別。分子鑑別的再現性較高，不像葉片的精油組成成分之化學鑑別技術，容易受到栽培技術、地點、季節、氣候等影響。

關鍵詞：土肉桂、陰香、氣相層析儀、精油、分子標誌

目錄

封面內頁	簽名頁	中文摘要	iii	英文摘要	v	誌謝	vii	目錄	ix	圖目錄	xii	表目錄	xv	1. 緒論	1	2. 文獻回顧	4	2.1 肉桂及土肉桂之簡介	4	2.1.1 肉桂簡介	4	2.1.2 土肉桂之介紹	5	2.1.3 肉桂在傳統中藥及臨床上之應用	5	2.1.4 土肉桂生物活性與應用研究	7	2.2 陰香之簡介	10	2.3 形態特徵與區別	15	2.4 精油之簡介	17	2.4.1 精油之萃取	18	2.4.2 類化合物介紹	19	2.4.3 精油成分分析	27	2.5 DNA分子標記技術	32	2.5.1 RAPD	32	2.5.2 SSR與ISSR	33	2.5.3 ITS	34	2.5.4 植物種屬鑑定	34	2.5.5 ITS分子生物技術與植物分類之相關研究	37	2.5.6 trnL-trnF IGS與trnL intron之相關研究	38	2.6 抗氧化力之研究	38	2.6.1 自由基定義	38	2.6.2 活性氧定義	39	2.6.3 自由基與活性氧產生途徑	39	2.6.4 精油組成成分與抗氧化活性之相關性	40	2.7 抗氧化劑	43	2.7.1 抗氧化劑之介紹	43	2.7.2 天然抗氧化劑之介紹	43	2.7.3 氧化活性測定原理	49	2.7.4 清除DPPH自由基能力測定	49	3. 材料與方法	52	3.1 植物材料	52	3.2 藥品與材料	52	3.3 儀器	53	3.4 研究方法	54	3.4.1 乾燥處理	54	3.4.2 精油製備	54	3.4.3 精油成分分析	55	3.4.4 植物基因體核酸之萃取	56	3.4.5 引子設計	59	3.4.6 聚合?鏈鎖反應	60	3.4.7 電泳分析	63	3.4.8 定序	63	3.4.9 土肉桂與陰香DNA資料庫之建立與序列分析	63	3.4.10 抗氧化能力測定	64	3.5 實驗架構	65	4. 結果與討論	66	4.1 土肉桂與陰香葉部精油分析	66	4.2 土肉桂與陰香葉部精油之抗氧化分析	75	4.2.1 土肉桂葉部精油群之清除 DPPH 自由基能力	76	4.2.2 陰香葉部精油群之清除 DPPH 自由基能力	78	4.2.3 土肉桂與陰香精油 DPPH 自由基之能力比較	78	4.3 土肉桂與陰香分子鑑定	80	4.3.1 聚合?鏈鎖反應與定序	80	4.3.2 土肉桂與陰香序列分析	84	4.3.3 土肉桂與陰香之核?酸序列多型性	88	4.3.4 親緣關係分析與基原鑑定	89	5. 結論	113	參考文獻	115	圖目錄	圖2.1 土肉桂精油主要化學成分結構	13	圖2.2 土肉桂精油主要化學成分結構圖	14	圖2.3 土肉桂與陰香枝葉及果實	16	圖2.4 非環狀單?類結構式分類	23	圖2.5 具單環構造單?類化合物結構式分類	24	圖2.6 雙環類三環單?化合物結構式分類	25	圖2.7 常見倍半?類結構式	26	圖2.8 細胞核基因組中核糖體DNA (ribosomal DNA; rDNA) 之 ITS及 IGS基因座 (locus) 與葉綠體基因組之trnL intron及trnL-trnF IGS等基因座的相關位置	圖36	圖2.9 類黃酮的結構式	48	圖2.10 -生育醇之化學式	49	圖2.11 抗氧化劑與DPPH 自由基反應之機制	51	圖3.1 低溫蒸餾設備示意圖	55	圖3.2 pITS2序列結構示意圖	59	圖3.3 trnL-trnF IGS與trnL intron序列結構示意圖	60	圖4.1 NEW和OLD 之氣相層析圖	67	圖4.2 不同時段NEW之氣相層析圖	68	圖4.3 不同時段OLD之氣相層析圖	68	圖4.4 桂皮醛隨時間變化之氣相層析圖	69	圖4.5 不同批次即時配置肉桂醛甲醇稀釋液之氣相層析圖	70	圖4.6 各地區採集之土肉桂葉片精油之氣相層析圖	71	圖4.7 各地區採集之陰香葉片精油之氣相層析圖	71	圖4.8 標準品混合溶液之氣相層析圖	73	圖4.9 社口地區土肉桂葉片精油在GC條件修正前後之氣相層析圖譜	74	圖4.10 岡山地區陰香葉片精油在GC在條件修正前後之氣相層析圖譜	75	圖4.11 土肉桂精油甲醇溶液清除DPPH之能力	77	圖4.12 陰香精油甲醇溶液清除DPPH之能力	79	圖4.13 岡山地區陰香	
------	-----	------	-----	------	---	----	-----	----	----	-----	-----	-----	----	-------	---	---------	---	---------------	---	------------	---	--------------	---	----------------------	---	--------------------	---	-----------	----	-------------	----	-----------	----	-------------	----	--------------	----	--------------	----	---------------	----	------------	----	----------------	----	-----------	----	--------------	----	---------------------------	----	--------------------------------------	----	-------------	----	-------------	----	-------------	----	-------------------	----	------------------------	----	----------	----	---------------	----	-----------------	----	----------------	----	---------------------	----	----------	----	----------	----	-----------	----	--------	----	----------	----	------------	----	------------	----	--------------	----	------------------	----	------------	----	---------------	----	------------	----	----------	----	----------------------------	----	----------------	----	----------	----	----------	----	------------------	----	----------------------	----	------------------------------	----	-----------------------------	----	------------------------------	----	----------------	----	------------------	----	------------------	----	-----------------------	----	-------------------	----	-------	-----	------	-----	-----	--------------------	----	---------------------	----	------------------	----	------------------	----	-----------------------	----	----------------------	----	----------------	----	---	-----	--------------	----	----------------	----	--------------------------	----	----------------	----	-------------------	----	---------------------------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	--------------------	----	---------------------	----	-----------------------------	----	--------------------------	----	-------------------------	----	--------------------	----	----------------------------------	----	-----------------------------------	----	--------------------------	----	-------------------------	----	--------------	--

樣本KS-B1~KS-B18以c / d為引子對進行PCR trnL intron後，1.6%瓊膠電泳分析結果81 圖4.14 兆豐地區陰香樣本JF-B1~JF-B15以c / d為引子對進行PCR trnL intron片段擴增後，1.6%瓊膠電泳分析結果81 圖4.15 岡山地區陰香樣本KS-B1~KS-B18以e / f為引子對進行PCR擴增trnL-trnF IGS片段後，1.6%瓊膠電泳分析結果82 圖4.16 兆豐地區陰香樣本JF-B1~JF-B15以e / f為引子對進行PCR擴增trnL-trnF IGS片段後，1.6%瓊膠電泳分析結果82 圖4.17 岡山地區陰香樣本KS-B1~KS-B18以BEL-1F/3R為引子對ITS2片段進行PCR擴增後，1.6%瓊膠電泳分析結果83 圖4.18 兆豐地區陰香樣本JF-B1~JF-B15以BEL-1F/3R為引子對ITS2片段進行PCR擴增後，1.6%瓊膠電泳分析結果83 圖4.19 土肉桂與陰香pITS2序列之多片段排比90 圖4.20 土肉桂與陰香trnL-trnF IGS序列之多片段排比94 圖4.21 土肉桂與陰香trnL intron序列之多片段排比101 圖4.22 肉桂屬肉桂與土肉桂與陰香之trnL-trnF IGS序列，利用鄰近法(NJ)所建立之親緣關係樹109 圖4.23 肉桂屬肉桂及土肉桂、陰香之trnL intronIGS序列，利用鄰近法(NJ)所建立之親緣關係樹110 圖4.24 肉桂屬肉桂及土肉桂與陰香之pITS2序列，利用最大簡約法(MP)所建立之親緣關係樹111 圖4.25 肉桂屬肉桂及土肉桂與陰香之pITS2序列，利用鄰近法(NJ)所建立之親緣關係樹112 表目錄 表2.1土肉桂化學品系分類標準9 表2.2陰香化學品系分類標準12 表2.3?類之分類20 表2.4自由基與活性氧之主要來源43 表2.5抗氧化劑依作用原理分類46 表3.1 CTAB法之萃取試劑配方58 表3.2 pITS2、trnL-trnF IGS、trnL intron PCR反應液配方61 表3.3 pITS2 PCR溫度循環參數62 表3.4 trnL-trnF IGS與trnL intron溫度循環參數62 表4.1 土肉桂與陰香pITS2序列相似度85 表4.2土肉桂與陰香trnL-trnF IGS序列相似度86 表4.3土肉桂與陰香trnL intron序列相似度87

參考文獻

- 1.王振瀾、尹華文。1991。栽培地區及生長季節對土肉桂葉子精油含量成分之影響。林業試驗所研究報告季刊 6: 313-328。
- 2.元勇。2002。引火歸元藥物應用考辨。中醫藥學刊 22(2):278。
- 3.尹華文、陳正豐、呂勝由。2007。土肉桂與陰香形態特徵及精油特性之研究。中華林學季刊 40(4):535 - 546。
- 4.朱紹洪。1993。天然實用香料。食品工業發展研究所。
- 5.李漢中、鄭森松、劉如芸、張上鎮。2003。不同地理品系土肉桂葉子精油之化學多態性。中華林學季刊 36(4): 411-422。
- 6.李俊億、謝幸媚、蔡麗琴。2009。DNA分析於刑事鑑識之應用。生物醫學 2 (2):106-120。
- 7.李雅婷。2009。魚針草基原鑑定、指標成分純化分析及系列化學成分生理活性綜論。朝陽科技大學生物科技研究所碩士論文。
- 8.余勇建。2002。葉綠體trnL intron與trnL-trnF IGS序列於刑事鑑識應用之研究。中央警察大學鑑識科學研究所碩士論文。
- 9.吳瑞鈺、劉祖惠、賴宗賢、鐘玉山、張嘉銘、陳博勳、錢瑤珍、何士慶。2005。生物技術在中草藥之研究應用。生物產業 16 (1):10-22。
- 10.林金和。2001。肉桂-高效價中藥。中醫藥研究論叢 4(1):183-185。
- 11.易光輝、王曉芬、李依蓓。2011。精油之化學基礎與實務應用。華杏出版。第58-66 頁。
- 12.柯季宏、張惠婷、蘇裕昌、鍾振德、郭幸榮、張上鎮。2006。台灣肖楠葉子精油之成分與化學多態性分析。中華林學季刊 39(2): 247-256。
- 13.高馥君、李敏雄。1998。食品保存與抗氧化劑。食品工業30(12):17-24。
- 14.胡大維、林耀堂、何政坤。1985。台灣土肉桂葉子精油化學成分之天然變異。台灣省林業試驗所試驗報告 No.78。
- 15.許盟宗。2008。台灣土肉桂抑菌性及抗氧化性之研究。亞洲大學生保健營養生技學系研究所碩士論文。
- 16.張上鎮、王升陽。1998。來自台灣森林之芳香維他命。台灣林業 24: 33-37。
- 17.張上鎮、陳品方。2000。精油之抗細菌與抗真菌活性。林產工業 19 (2): 275-284。
- 18.張杰。2002。肉桂及其偽品的鑑別。時珍國醫國藥 13(4):216。
- 19.邱淑嬌。2003。中藥材DNA鑑定資料庫應用。工研院生醫中心中藥材基原DNA鑑定技術推廣訓練班。P3-55。
- 20.黃思霖、曾美珍、黃介宏、呂車鳳。2007。以核內的內轉錄區間序列探討台灣馬兜鈴屬之親緣關係。特有生物研究9(2):19-27。
- 21.程必強、喻學儉、丁靖塏、孫漢董。1997。中國樟屬植物資源及其芳香成分。雲南科技出版社。第68-71 頁。
- 22.程必強、喻學儉、丁靖塏、孫漢董。1997。土肉桂與陰香形態特徵及精油特性之研究中中國樟屬植物資源及其芳香成分。雲南科技出版社。第 68-1 頁。
- 23.楊開聰。1992。肉桂類在食品上的利用。土肉桂專欄-林業叢刊第38號。第 85-90 頁。
- 24.楊政川、李世傑、何坤益、林敏宜。2010。臺灣森林特產物 - 土肉桂。科學發展月刊 2(446):p28-33。
- 25.歐秋明、游銅錫、林麗雲。2009。精油化學。華杏出版。第58-67 頁。
- 26.劉業經、呂福原、歐辰雄。1988。臺灣樹木誌。第136-137頁。
- 27.林讚標編。1992。土肉桂專論。台灣省林業試驗所林業叢刊第38 號。
- 28.劉業經、呂福原、歐辰雄。1988。臺灣樹木誌。第136-137 頁。
- 29.劉棠瑞、廖日京。1980。樹木學。台灣商務印書館。第 314 頁。
- 30.陳品方、張上鎮、吳懷慧。2002。土肉桂葉子精油及其成分之抗?活性。中華林學季刊 35(4): 397-403。
- 31.陳哲民。1996。植物油抑制植物病原真菌孢子發芽之效果。花蓮區農業改良場研究彙報。12:71-92。
- 32.陳師瑩、陳靜慧、王櫻娟、江靜欣、鍾玉玲、葉東柏。2003。海巴戟天之葉萃取物的抗氧化活性分析。嘉南學報。29: 87-96。
- 33.謝瑞忠。2006。肉桂類天然香料的成分與應用。林業研究專訊 13(4):14-16。
- 34.蔡麗琴。2007。植物DNA分析於鑑識科學應用之研究。國立師範大學生命科學研究所博士論文。
- 35.蔡麗琴。2007。植物DNA分析於鑑識科學應用之研究。國立師範大學生命科學研究所博士論文。
- 36.韓俊生。2004。肉桂"引火歸元"之我見。上海中醫藥雜誌 38(8):47-48。
- 37.薛士緯。2009。以ITS序列探討台灣土肉桂和其相似種之親緣關係。國立嘉義大學森林暨自然資源研究所碩士論文。
- 38.蘇正德、陳正雄。2001。新編實品化學。華格納企業。
- 39.Aeschbach, R., J. Lolliger, B.C. Scott, A. Murcia, J. Butler, B. Halli-well, O. I. Aruoma. 1994. Antioxidant action of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. Food Chem. Toxicol. 32: 31-36.
- 40.Adams, R. P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured, Illinois. 456pp.
- 41.Alvarez, I.; Wendel, J. F. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. Mol. Phylogenet. Evol. 2003, 29, 417-434.
- 42.Blatt, C.R., R. Ciola. 1991. Analysis of vetiver essential oil by supercritical fluid extraction and online capillary gas-chromatography. Hrc-journal of high resolution chromatography. 14:775-777.
- 43.Barrata, M.T., H.J.D. Dorman, S. G. Deans, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso, G. Ruberto. 1998. Antimicrobial and Antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour Frag J. 13: 235-244.
- 44.Baratta, M.T., H.J.D. Dorman, S.G. Deans, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso, G. Ruberto. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. Flavour

Fragr. J. 13: 235-244. 45.Chen, Q.Y., H. Shi, C.T. Ho. 1992. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. J. Amer. Oil Chem. Soc. 69 (10): 999-1002. 46.Chester, T.L., J.D. Pinkston, D.E. Raynie. 1996. Supercritical fluid chromatography and extraction. Anal. Chem. 68 (12):487-514. 47.Chiou, S. J.; Yen, J. H.; Fang, C. L.; Chen, H. L.; Lin, T. Y. 2007. Authentication of medicinal herbs using PCR amplified ITS2 with specific primers. Planta Med. 73, 1421-1426. 48.Cheng, S. S., J. Y. Liu, C. Y. Lin, Y. R. Hsui, M. C. Ju, W. J. Wu and S. T. Chang 2008a. Terminating red imported fire ants using *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil. Bioresour. Technol. 99(4): 889-893. 49.Cheng, S. S., J. Y. Liu, E. H. Chang and S. T. Chang. 2008b. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. Bioresour. Technol. 99(10): 5145-5149. 50.Cheng, S. S., J. Y. Liu, C. G. Huang, Y. R. Hsu, W. J. Chen and S. T. Chang. 2009. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. Bioresour. Technol. 100(1):457-464. 51.Chang, S.-T. and S.-S. Cheng. 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. J. Agric. Food Chem. 50(6):1389-1392. 52.Chang, S. T., P. F. Chen and S. C. Chang 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. J. Ethnopharmacol. 77:123-127. 53.Chang, S. T. and S. S. Cheng. 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophloeum*. J. Agric. Food Chem. 50:1389-1392. 54.Chang, C. W., W. L. Chang, S. T. Chang and S. S. Cheng. 2008. Antibacterial activities of plant essential oils against *Legionella pneumophila*. Water Research. 42(1):278-286. 55.Chao, L. K., K. F. Hua, H. Y. Hsu, S. S. Cheng, J. Y. Liu and S. T. Chang. 2005. Study on the anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. J. Agric. Food Chem. 53:7274-7278. 56.Chao, L. K., K. F. Hua, H. Y. Hsu, S. S. Cheng, I. F. Lin, R. Y. Tsai, S. T. Chen and S. T. Chang. 2008. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes / macrophages through suppression of intracellular signaling. Food Chem. Toxicol. 46(1):220-231. 57.Cheng, S. S., J. Y. Liu, K. H. Tsai, W. J. Chen and S. T. Chang. 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. J. Agric. Food Chem. 52: 4395-4400. 58.Cheng, S. S., J. Y. Liu, Y. R. Hsui and S. T. Chang. 2006. Chemical polymorphism of essential oils and their antifungal activities from different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves. Bioresour. Technol. 97: 306-312. 59.Choundhary, D. and Kale, R. K. 2002. Antioxidant and non-toxic properties of piper betle leaf extract: in vitro and in vivo studies. Phytother Res., 16(5): 461-466. 60.Deans, S. G. and Richie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. Int. J. Food Microbiol. 5: 165. 61.Deans, S.G., R.C. Noble, R. Hiltunen, W. Wuryani, L.G. Penzes. 1995. Antimicrobial and antioxidant properties of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry: Impact upon bacteria, fungi and fatty acid levels in ageing mice. Flavour Fragr. J. 10(5): 323-328. 62.Dziezak, J. D. 1986. Preservatives: antioxidant. Food Technol. 40: 94-102. 63.Deighton, N., S.M. Glidewell, S. G. Deans, B.A. Goodman. 1993. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major source of free radicals in the oxidation of plant essential oils. J. Sci. Food Agric. 63: 221-225. 64.Dey, P. M. and J. B. Harborne. 1991. Terpenoids. Methods in plant biochemistry Vol.7. (Charlwood, B.V. and D.V. Banthorpe Eds.). 17:1-185. Academic Press. New York 65.Fritsch, P. W., and Rieseberg, L. H. 1996. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In Smith T. and Wayne B. (eds.), Molecular Genetic Approaches in Conservation, pp. 54-73. Oxford Univ. Press, New York. 66.Fang, S. H., Y. K. Rao and Y. M. Tzeng. 2004. Cytotoxic Effect of trans-cinnamaldehyde from *Cinnamomum osmophloeum* leaves on human cancer cell lines. Int. J. Appl. Sci. Eng. 2(2):136-147. 67.Fukuda, T.; Yokoyama, J.; Ohashi, H. 2001. Phylogeny and biogeography of the genus *Lycium* (Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 19, 246 – 258. 68.Harborne, J.B. 1973. Phytochemical methods. Academic press. London. 89-105. 69.Halliwell, B., Murcia H. A., Chirico, S. and Aruoma O. I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. Crit Rev Food Sci Nutr., 35(1-2): 7-20. 70.Huang, T. C., H. Y. Fu, C. T. Ho, D. Tan, Y. T. Huang and M. H. Pan. 2007. Induction of apoptosis by cinnamaldehyde from indigenous cinnamon *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh through reactive oxygen species production, glutathione depletion, and caspase activation in human leukemia K562 cells. Food Chem. 103:434 – 443. 71.Hussain, R. A., J. Kim, T. W. Hu, J. M. Pezzuto, D. D. Soejarto and A. D. Kinghorn. 1986. Isolation of a highly sweet constituent from *Cinnaamomum osmophloeum* leaves. Planta Med. 52: 403-404. 72.Ivonne, M. C. M.R., Marelle, G. B., Laura, D. H., Bert, S., Hanem, M. A., Nicole, H. P. C., Jelmer, J. V. Z., Hester, V. D. W., Gerrit, M. A. and Jan, H. K. 2002. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidant vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. Environ. Toxicol. Pharmacol. 11: 321-33. 73.Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., D'Costa, M. A., Jackson, C. J. A., Vidgen, E., Singer, W., Silverman, J.A., Koumbridis, G., Honey, J., Rao, A. V., Flesher, N. and Klotz, L. 2003. Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. J. Urol., 169: 507 – 511. 74.Kim, H. K., J. R. Kim and Y. J. Ahn. 2004. Acaricidal activity of cinnamaldehyde and its congeners against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae). J. Stored Prod. Res. 40:55-63. 75.Kojoma, M.; Kurihara, K.; Yamada, K.; Sekita, S.; Satake, M.; Iida, O. 2002. Genetic identification of cinnamon (*Cinnamomum* spp.) based on the trnLtrnF chloroplast DNA. Planta Med. 68, 94 – 96. 76.Lee, S.M., N.A. Garas, A.C. Waiss. 1986. High-performance liquid chromatographic determination of sesquiterpenoid stress metabolites in *Verticillium dahlia* binfectd cotton stele. J. Agric. Food Chem. 34: 490-493. 77.Lau, D. T.; Shaw, P. C.; Wang, J.; But, P. P. 2001. Authentication of medicinal *Dendrobium* species by the internal transcribed spacer of ribosomal DNA. Planta Med. 67, 456-460. 78.Lee, H. C., S. S. Cheng and S. T. Chang. 2005. Antifungal property of the essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum* leaf against tree pathogenic fungi. J. Sci. Food Agric. 85 (12): 2047-2053. 79.Lee, C. C., Wa, S. J., Chang, C. H., and Ng, L. T. 2003. Antitermitic activity of *Cinnamomum cassia*. Phytotherapy Research 80.Liu, J., Chang, S. K. and Wiesenborn, D. 2005. Antioxidant properties of soybean isoflavone extract and tofu in vitro and in vivo. J. Agric. Food Chem., 53(6): 2333-2340. 81.Larson R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochem. 27(4): 969-978. 82.Mario, C.F., K.U. Ingold. 2003. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by α -Terpinene, are unusual

and potentially useful hydrocarbon antioxidant. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2758-2765. 83.Madsen, H.L., G. Bertelsen.1995. Species as antioxidants. *Food Sci & Tech.* 6(8): 271-277. 84.Mareshige Kojoma, Kogo Kurihara, Kazuya Yamada, Setsuko Sekita, Motoyoshi Satake, Osamu Iida. 2002. Genetic Identification of Cinnamon(*Cinnamomum* spp.) Based on the trnL-trnF Chloroplast DNA. 85.Niki, E. 1992. Active oxygens and free radicals in biology. *J. Jap. Oil Chem. Soc.* 41: 768-773. 86.Namiki, M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29: 213-300. 87.Ruberto, G., M.T. Baratta. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems.*Food Chem.* 69 (2): 167-174. 88.Rouseff, R. and Nagy, S. 1994. Health and nutritional benefits of citrus fruit component. *Article.*, 48:125-126. 89.Sung, H. K., Hyun, S. H., and Choung, S. Y. 2006. Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology.* 104:119 – 123. 90.Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139:457-462 91.Shu-Jiau Chiou, Jui-Hung Yen, Cheni-Li Fang, Hui-Ling Chen, and Tsai-YunLin. 2007. Authentication of Medicinal Herbs using PCR-Amplified ITS2 with Specific Primers. 92.Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara, and T. Nakamura. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 40: 945-948. 93.Saini, A.; Reddy, S. K.; Jawali, N. 2008. Intra-individual and intra-species heterogeneity in nuclear rDNA ITS region of *Vigna* species from subgenus *Ceratotropis*. *Genet Res (Camb).* 90, 299-316. 94.Simic, M.G. 1988. Mechanisms of inhibition of free radical processes in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res.* 202: 377-386. 95.Stashenko E.E., M.A. Puertas, M.Y. Combariza. 1996. Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation solvent extraction and supercritical fluid extraction. *J. Chromatogr.* 752: 223-232. 96.Tsai, L. C.; Yu, Y. C.; Hsieh, H. M.; Wang, J. C.; Linacre, A.; Lee, J. C. 2006. Species identification using sequences of the trnL intron and the trnL-trnF IGS of chloroplast genome among popular plants in Taiwan. *Forensic Sci Int.* 164, 193-200. 97.Ude, G., and Pillay, M., Nwakanma, D., and Tenkouano, A. 2002. Genetic diversity in *Musa acuminata* Colla and *Musa balbisiana* Colla and some of their natural hybrids using AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetic.* 104 (8) :1246-1252. 98.White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In “ PCR protocols: a guide to methods and applications. ” , p.315-322; Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T. J. eds.; Academic Press, New York, USA. 99.Wang, S. Y., P. F. Chen and S. T. Chang. 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresour. Technol.* 96:813-818. 100.Wang, S. Y., C. W. Yang, J. W. Liao, W. W. Zhen, F. H. Chu and S. T. Chang. 2008. Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomedicine* 15:940-945. 101.Williams, W. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acid research.* 18:6531-6535. 102.Zietkiewicz, E., Rafalski, A., and Labuda, D. 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR) -Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomic.* 20 (1994) :176-183 103.Yen, T. B. and S. T. Chang. 2008. Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresour. Technol.* 99:232-236. 104.Yi, T.; Miller, A. J.; Wen, J. 2004. Phylogenetic and biogeographic diversification of *Rhus* (Anacardiaceae) in the Northern Hemisphere. *Mol Phylogenet. Evol.* 33, 861 – 879. 105.Zhang, Z., Chang, Q., Zhu, M., Hung, Y., Ho, W. K. K. and Chen, Z. Y. 2001. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J. Nutr. Biochem.* 12: 144-152.