

# 八種藥用植物之抗氧化性研究

蘇苑菱、涂瑞澤；吳淑姿

E-mail: 9607698@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

近年來許多研究致力於尋找具高抗氧化性且安全無毒害之天然物質，以減低生物體內之氧化性傷害。本研究選定八種不同植物：夜交藤(*Polygonum multiflorum* Thunb)、檸檬香茅(*Cymbopogon citratus*)、康復力(*Symphytum officinale* L.)、刺?*(Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & Zucc)、羅勒(*Ocimum basilicum*)、楓香(*Liquidambar formosana*)、野薑(*Hedychium coronarium* Koenig)及大花咸豐草(*Bidens pilosa*)作為研究材料，這些植物自古即常應用於藥用或食用，為具有多用途之中藥材。本研究之目的為探討植物經水蒸氣蒸餾所得之精油或以50%乙醇為溶劑，進行熱迴流萃取之夜交藤、檸檬香茅、羅勒及康復力等四種地上全株植物萃取物與楓香、咸豐草、刺?及野薑等四種植物，不同部位分別萃取所得之萃取物的抗氧化能力。抗氧化成分與抗氧化活性試驗包括：總多酚類與類黃酮含量、對DPPH自由基的清除能力、亞鐵離子螯合能力、還原力、清除超氧陰離子能力、清除ABTS陽離子自由基能力及抑制微脂粒氧化作用能力等，並與BHA、EDTA、 $\alpha$ -生育醇及沒食子酸之抗氧化性做比較。實驗結果顯示，經水蒸氣蒸餾後可得精油，但其萃取率甚低，其中以楓香葉(0.06%)與野薑根(0.16%)較高。楓香葉與野薑根精油的總多酚含量分別為64.00與14.04 mg/g，其類黃酮含量分別為0.08與0.03 mg/g，在清除DPPH自由基試驗中，其清除率分別為15.06%與5.59%；亞鐵離子螯合力試驗，其螯合力分別為46.88%與16.38%。另外，以50%乙醇為溶劑進行熱迴流萃取，所得萃取物中以楓香葉之萃取率最高。在萃取物中，以夜交藤萃取物之總多酚含量(438.06 mg/g)為最高，其次為楓香莖，野薑根含量最低。類黃酮含量以野薑葉含量(16.42 mg/g)為最高。楓香葉對DPPH自由基之清除率(95.32%)為最佳；康復力之螯合亞鐵離子能力(99.46%)最佳。夜交藤、羅勒及咸豐草葉具有與 $\alpha$ -生育醇相近之還原力。夜交藤、康復力、羅勒及檸檬香茅等四種植物於濃度小於0.1 mg/mL時，均比沒食子酸的超氧陰離子清除能力為佳，又以檸檬香茅和刺?莖之超氧陰離子清除能力為最佳。夜交藤與羅勒於0.1 mg/mL時，與抗氧化劑BHA及 $\alpha$ -生育醇之總抗氧化能力相近；夜交藤、康復力及檸檬香茅於10 mg/mL時，與 $\alpha$ -生育醇之抑制微脂粒氧化作用能力相近，其抑制率為50%-60%。綜合研究結果顯示，八種植物之萃取物皆具有抗氧化性，又以夜交藤與楓香莖之總多酚類化合物含量較多，且具有高的DPPH自由基清除能力、還原力、總抗氧化能力及抑制微脂粒氧化作用能力，可進行更深入的研究，將有助於機能性食品之開發，與後續更深入研究之基礎。

關鍵詞：夜交藤；檸檬香茅；康復力；刺?；羅勒；楓香；野薑；咸豐草；精油；抗氧化

## 目錄

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	vi
誌謝.....	viii	目錄.....	ix	圖目錄.....	xiii
表目.....					
錄.....	xvi	1. 緒論.....	1	2. 文獻回顧.....	3
介.....	3	2.1.1 精油定義.....	3	2.1.2 精油種類.....	3
途.....	6	2.1.3 用.....	3	2.1.3 用.....	3
草.....	8	2.2 植物簡介.....	6	2.2.1 楓香.....	6
藤.....	15	2.2.2 咸豐草.....	8	2.2.2 咸豐草.....	8
茅.....	20	2.2.3 野薑.....	10	2.2.4 刺?.....	12
法.....	22	2.2.5 夜交藤.....	15	2.2.5 夜交藤.....	15
法.....	23	2.2.6 康復力.....	15	2.2.7 羅勒.....	18
取.....	24	2.2.7 羅勒.....	15	2.2.8 檸檬香茅.....	18
理.....	25	2.3 萃取方式.....	20	2.3.1 水蒸餾法.....	22
介.....	35	2.3.1 水蒸餾法.....	20	2.3.2 水蒸氣蒸餾法.....	22
類.....	41	2.3.2 水蒸氣蒸餾法.....	22	2.3.3 水蒸氣蒸餾溶劑抽取法.....	22
方法.....	50	2.3.3 水蒸氣蒸餾溶劑抽取法.....	22	2.3.4 有機溶劑抽取法.....	23
備.....	51	2.3.4 有機溶劑抽取法.....	23	2.3.5 冷吸法.....	23
取.....	52	2.3.5 冷吸法.....	23	2.3.6 壓榨法.....	23
試驗.....	56	2.3.6 壓榨法.....	23	2.3.7 超臨界流體萃取法.....	24
試驗.....	56	2.3.7 超臨界流體萃取法.....	24	2.3.8 熱迴流萃取.....	24
試驗.....	56	2.3.8 熱迴流萃取.....	24	2.4 醫學之應用.....	24
試驗.....	56	2.3.9 清除超氧陰離子之能力試驗.....	56	2.5 抗氧化劑.....	25
試驗.....	56	2.3.10 抑制微脂粒(Liposome)氧化作用之測定.....	57	2.5.1 抗氧化作用原理.....	25
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.5.2 天然抗氧化物.....	30
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.5.3 人工合成抗氧化劑.....	35
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.6 自由基簡介.....	35
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.6.1 自由基與活性氧.....	35
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.6.2 定義及反應形式.....	38
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.6.3 種類.....	38
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.6.4 自由基對生物體分子之氧化傷害.....	44
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	2.7 抗氧化作用原理.....	46
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3. 材料與方法.....	50
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.1 植物材料.....	50
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.2 試藥.....	50
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.3 實驗設備.....	51
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4 實驗方法.....	51
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.1 水蒸氣蒸餾.....	52
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.2 熱回流萃取.....	52
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.3 總多酚類化合物含量之測定.....	52
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.4 類黃酮含量之測定.....	55
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.5 清除-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基之測定.....	55
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.6 螯合亞鐵離子之測定.....	55
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.7 還原力試驗.....	55
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.8 清除超氧陰離子之能力試驗.....	56
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.9 清除ABTS陽離子自由基能力試驗.....	56
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.10 抑制微脂粒(Liposome)氧化作用之測定.....	57
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	3.4.11 抗氧化效力評估模式.....	57
試驗.....	56	2.3.11 抗氧化效力評估模式.....	57	4. 結果與討.....	57

論.....	59	4.1 植物精油與其萃取物之萃取率.....	59	4.2 總多酚化合物含量.....	59	4.3 類黃酮含量.....	61
4.4 清除 , -diphenyl- -picrylhydrazyl (DPPH) 自由基之效力.....	61	4.5 螯合亞鐵離子能力.....	71	4.6 還原力.....	78	4.7 清除超氧陰離子之能力.....	85
4.8 清除ABTS陽離子自由基能力.....	92	4.9 抑制微脂粒(liposome)氧化作用之效力.....	99	5. 結論.....	109	5.1 結論.....	109
5.2 未來展望.....	110	參考文獻.....	111				

## 參考文獻

- 1.吳榮燦。1988。何首烏抗老化作用的研究。中醫藥雜誌。2:83-84。
- 2.吳榮燦。2000。活血化瘀中草藥抗腫瘤作用的研究。行政院衛生署中醫藥年報。1:278-301。
- 3.沈立言、張永賢。2000。中草藥—九層塔精油—對於大白鼠初代肝細胞之生存力、解毒代謝能力、抗氧化系統、與黃麴毒素 B1誘發DNA損傷之影響。行政院衛生署中醫藥年報。1:317-346。
- 4.吳惠萍。2004。三種台灣產迷迭香精油成分及抗氧化力研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。
- 5.卓芷聿。2002。精油全書—芳香療法使用小百科。商周出版社。台北。
- 6.林豔秋。2002。百年芳香—精油療法DIY。時報文化。台北。
- 7.卓芷聿。2003。芳香療法全書。商周出版社。台北。
- 8.林文?。2003。松葉之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。
- 9.郁凱衡。1999。天然酚類抗氧化劑。食品工業。31:43-51。
- 10.林天送。1995。氧自由基:促使細胞老化與死亡。健康世界。11:19-14。
- 11.侯金日、楊雅斯、王淑敏。1999。咸豐草及大花咸豐草開花後不同天數之種子大小及發芽特性。中華民國雜草學會會刊。20:23-32。
- 12.拱玉郎。1997。天然抗氧化劑發展近況。食品工業月刊29:29-37。
- 13.施益民、呂鋒洲。1989。自由基與各種疾病。當代醫學。16:399-407。
- 14.姜淑繡。2001。省產蘿蔔之抗氧化性研究。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化。
- 15.陳淑茹。2003。石蓮萃取物之抗氧化活性及抗致突變性研究。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中。
- 16.陳品方。2000。台灣杉與土肉桂精油及其成分之生物活性。國立台灣大學森林學研究所碩士論文。台北。
- 17.徐曉玫。2003。大花咸豐草對鬼針草的競爭優勢及入侵性探討。國立台灣大學生態學與演化生物學研究所碩士論文。台北。
- 18.陳惠英、顏國欽。1998。自由基、抗氧化防禦與人體健康。中華民國營養學會雜誌。23:105-121。
- 19.高名義。2004。蜂膠奶粉中類黃酮物質之分析。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。
- 20.許哲夫。2003。薑花新品種高雄6號高雄7號簡介。農情半月刊。147:10-20。
- 21.張德慈。1998。新興蔬菜之開發及利用。行政院農委會農業試驗所特刊。72:22-24。
- 22.張瓊文。1997。一.植物活性成分研究1.羅勒2.台灣赤楠二.Naringinhesperidin之高效液相層析定量。中國醫藥學院藥物化學研究所博士論文。台北。
- 23.張隆仁。2003。禾本科香藥草植物--檸檬香茅。臺中區農業專訊。43:11-13。
- 24.張慧華。2005。六種香茅揮發性成分分析研究。國立屏東科技大學熱帶農業暨國際合作研究所碩士論文。屏東。
- 25.莊培挺。2005。明日葉抗氧化性質及降血脂之作用。國立嘉義大學食品科學系碩士論文。嘉義。
- 26.楊政哲。1986。台灣產民間藥咸豐草及筆仔草之生藥學研究高雄醫學院藥學研究所碩士論文。高雄。
- 27.新文豐編輯組。1982。新編中藥大辭典。新文豐出版社。台北。
- 28.楊文卿。1983。數種臺灣市售藥材誘導干擾素之研究。中國醫藥學院藥學研究所碩士論文。台中。
- 29.鄭武燦。2000。台灣植物圖鑑(上冊)。茂昌圖書。台北。
- 30.鄭銘仁。2004。台灣產植物-食茱萸、岩山椒、翼柄花椒、香楠及洪莖椒草化學與生物活性成分之研究。高雄醫學大學藥學研究所博士論文。高雄。
- 31.劉伯康。1997。數種傳統食用植物抗氧化性之研究。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中。
- 32.駱莉玲。2003。河川高灘地漫地流法之最適草種評選。國立成功大學環境工程學系博士論文。台南。
- 33.歐辰雄、何東輯。1997。台灣產芸香科植物介紹( )花椒屬2。自然保育季刊。17:17-18。
- 34.賴永沛。1999。本世紀末最後的營養素 - 多元酚。食品資訊。167: 48-53。
- 35.薛聰賢。2005。台灣原生景觀植物圖鑑3。台灣普綠出版。彰化。
- 36.謝衣鵬。2001。花青素簡介。食品工業月刊。33: 6-10。
- 37.顏幸達。1996。楓香之草本考察及其果實路路通之陣痛藥理研究。中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文。台中。
- 38.簡錦慈。2004。刺蔥之抗氧化性及安全性探討。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中。
- 39.嚴蔓。2004。不同季節及遮陰下迷迭香精油成分差異之研究。國立屏東科技大學熱帶農業暨國際合作研究所碩士論文。屏東。
- 40.蘇靜雁。2007。台灣柚子皮精油之抗氧化、抑菌及降血脂作用。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。
- 41.Amarow, R., Nacz, M. and Shahidi, F. 2000. Antioxidant activity of various fractions of non-tannin phenolics of canola hulls. J. Agric. Food Chem. 48:2755-2759.
- 42.Amarow, R., Nacz, M. and Shahidi, F. 2000. Antioxidant activity of condensed tannin of beach pea, canola hulls, evening primrose, and faba bean. J. Food Lipids. 7:195-205.
- 43.Ames, B. N. 1999. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. Free Radic. Res. 7:121-128.
- 44.Anderson, D. and Phillips, B. J. 1999. Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. Food Chem. Toxicol. 37:1015-1025.
- 45.Arnau, M. B., Cano, A. and Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chem. 73:239-244.
- 46.Angelo, A. J. S. 1996. Lipid oxidation in foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 36: 175-224.
- 47.Arouma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. J. Am Oil. Chem. Soc.75:119-213.
- 48.Arouma, O. I. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chem. Toxic. 32:671-683.
- 49.Arouma, O. I., Hallwell, B., Gajewski, E. and Dizdaroglu, M.1989. Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and free iron chelates. J. Biol. Chem. 264:20509-20512.
- 50.Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil. Chem.Soc. 52:59-63.
- 51.Burton, G. W. 1994. Vitamin E:molecular and biological function. Proc. Nutr. Soc. 53:251-262.
- 52.Cheng, K. C., Cahill, D. S., Kasai, H., Nishimura, S. and Loeb, L. A. 1992. 8-hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes GT and AC substitution. J. Biol. Chem. 267:166-172.
- 53.Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques, V., Thierry, D., Claude, B., Michel, L., Micheline, C., Jean-Cluade, C., Francois, B. and Francis, T. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. J. Ethnopharmacol. 72:35-42.
- 54.Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. 1992. Comparison of the antioxidant activity of some acid-phenols:Structure-activity relationship. Biosci. Biotech. Biochem. 56:324-325.
- 55.Davies, K. J. A. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. In general aspects. J. Biol. Chem. 262:9895-9901.
- 56.Del, R. L., Sandalio, L., Palma, L.,

Bueno, P. and Corpas, P. J. 1992. Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. *Free Radic. Biol. Med.* 13:557-580.

57. Dziezak, J. D. 1986. Preservative: Antioxidants. *Food Technol.* 40:94-102.

58. Esterbauer, H., and Cheeseman, K. 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 186:407-421.

59. Frankel, E. N. 1991. Recent advances in lipid oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 54:495-511.

60. Ferda, C., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., S?ken, A. and Akpulat, H. A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacology.* 87:215-220.

61. Gallardo, C., Jim?nez, L. and Garc?a-Conesa, M. T. 2006. Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. *Food Chem.* 99:455-463.

62. Gutteridge, J. M. C. and Halliwell, B. 1990. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem. Sci.* 15:129-135.

63. Halliwell, B., Murcia, M. 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.* 35:7-20.

64. Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr. Rev.* 52:253-265.

65. Imaida, K., Fukushima, S., Shivai, T., Ohtani, M., Nakanishi, K. and Ito, N. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-Stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of  $\gamma$ -glutamyl trans peptidase-positive foci development in the liver of rat. *Carcinogenesis.* 4:885-889.

66. Ito, N., Fukushima, S. and Tsuda, H. 1985. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 15:109-150.

67. Jacob, H. A. 1995. The integrated antioxidant system. *Nutr. Res.* 15:755-766.

68. Kehrer, J. P. 1993. Mechanisms and effect of lipid peroxidation. *Crit. Rev. Toxicol.* 23:21-48.

69. Lai, L. S., Chou, S. T. and Chao W. W. 2001. Studies on the antioxidative activity of Hsian-tso (mesona procumbens hemsl) leaf gum. *J. Agric. Food Chem.* 49:963-968.

70. Lander, H. M. 1997. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J.* 11:118-124.

71. Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 27:269-278.

72. Liao, K. L. and Yin, M. C. 2000. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient. *J. Agric. Food Chem.* 48:2266-2270.

73. Liebler, D. C. 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. *Ann. New York. Acad. Sci.* 691:20-31.

74. Liken, G. B. and Nickerson, S. T. 1996. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. *J. Chromatogr.* 21:1-5.

75. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Philosoph-Hadas, S. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Food Chem.* 43:1813-1819.

76. Miller, N. J. and Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem.* 60:331-337.

77. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J. and Parajo, J. C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 72:145-171.

78. Nagy, M. and Grancai, D. 1996. Colorimetric determination of flavanones in propolis. *Pharmazie.* 51:100-101.

79. Namiki, M. 1990. Antioxidants / Antimutagens in Foods. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 29:281-300.

80. Osawa, T., Sugiyama, Y., Inayoshi, M. and Kawakishi, S. 1995. Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59:1609-1612.

81. Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutri.* 44:307-314.

82. Ozgur, E., Tepe, B., Yimrutas, O., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A. 2007. The in vitro antioxidative properties of the essential oil and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch.) Boiss. And *Satureja cuneifolia* ten. *Food Chem.* 100:339-343.

83. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoid and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20:933-956.

84. Robak, J. and Gryglewski, I. R. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharma.* 37:837-841.

85. Saito, M., Hosoyama, H. and Yamaji, N. 1998. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1460-1464.

86. Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M. and Ochi, H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem.* 44:37-41.

87. Salah, N., Miller, N. J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G. P. and Rice-Evans, C. A. 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 322:339-346.

88. Saul, R. L. and Ames, B. N. 1986. Background levels of DNA damage in the population. *Basic Life Sci.* 38:529-535.

89. Shahidi, F. and Wanasundara, P. K. J. P. D. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 32:67-103.

90. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthane on the antioxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Food Chem.* 40:945.

91. Singketon, V. L. and Rossi, J. A. J. R. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *J. Enol. Vitic.* 16:144-153.

92. Stadler, R. H. and Fay, L. B. 1995. Antioxidative reactions of caffeine: Formation of 8-oxocaffeine (1,3,7-trimethylxanthine) in coffee subjected to oxidative stress. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1332-1338.

93. Stsdman, E. R. 1992. Protein oxidation and aging. *Sci.* 257:1220-1224.

94. Torel, J., Cillard, J. and Chillard, P. 1986. Antioxidant activity of flavonoides and reactivity with peroxy radicals. *Phytochem.* 25: 383-385.

95. Wada, S. and Fang, X. 1992. The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and alpha-tocopherol in sardine oil model system and crushed fish meat. *J. Food Proc. Preserv.* 16:263-274.

96. Wanasundara, P. K. J. P. D., Shahidi, F. and Shukla, V. K. S. S. 1997. Endogenous antioxidants from oilseeds and edible oils. *Food Rev. Int.* 13:225-292.

97. Wilcox, J. N. and Blumenthal, B. F. 1995. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis : is potential impact of soy protein. *J. Nutr.* 25:631-638.