

相思樹枝條抽出物抗氧化活性之初探

童鈺棠¹ 吳志鴻² 張上鎮³

(收件日期：民國 94 年 5 月 6 日、接受日期：民國 94 年 7 月 22 日)

【摘要】本研究針對相思樹枝條抽出物及其二氯甲烷可溶部、正丁醇可溶部、水可溶部等各分離部進行抗氧化活性評估。抗氧化活性試驗包括 DPPH 自由基清除效應、超氧自由基捕捉試驗、還原力測定、金屬螯合效果及脂質過氧化等；此外，並測定其總酚含量。試驗結果顯示，相思樹枝條抽出物之各分離部以正丁醇可溶部效果最佳，在抑制 DPPH 自由基及超氧自由基之 EC₅₀ 分別為 13.3 及 6.3 μg/mL。至於枝條之總酚含量，仍以正丁醇可溶部的含量最多 (706.9 mgGAE/g)，本試驗結果證實相思樹枝條之總酚含量與抑制超氧自由基成正相關。另外，正丁醇可溶部對金屬螯合及還原能力方面亦表現最佳，此可溶部螯合金屬的 EC₅₀ 約為 310 μg/mL，而 Quercetin 及 Catechin 皆大於 2500 μg/mL。至於抑制脂質過氧化之效果，仍以正丁醇可溶部效果最佳 (EC₅₀ 為 15.9 μg/mL)。綜合上述試驗結果確知相思樹枝條具有極佳的抗氧化能力，極具開發應用之潛力。

【關鍵詞】相思樹、抗氧化活性、抽出物、自由基、總酚含量、枝條

PRELIMINARY STUDIES ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS FROM THE TWIG OF *ACACIA CONFUSA* MERR.

Yu-Tang Tung¹ Jyh-Horng Wu² Shang-Tzen Chang³

(Received: May 6, 2005; Accepted: July 22, 2005)

【Abstract】 The objective of this study is to assess the antioxidant activity of ethanolic extract and its soluble fractions from the twig of *Acacia confusa* Merr. The antioxidant activities were carried out using various antioxidant assays, including DPPH free radical and superoxide radical scavenging assays, reducing power assay, and metal chelating ability assay. In addition, total phenolic contents of these extracts were also determined. Results revealed that, among the various fractions, the butanol soluble fraction which contains the highest percent-

¹ 國立台灣大學森林環境暨資源學系研究生。

Graduate Student, School of Forestry and Resource Conservation, National Taiwan University.

² 國立台灣大學化學系博士後研究。

Post-Doctor, Department of Chemistry, National Taiwan University.

³ 國立台灣大學森林環境暨資源學系教授，通訊作者。

Professor, School of Forestry and Resource Conservation, National Taiwan University. Corresponding author.

age of phenolic compounds exhibited the strongest antioxidant activity. The EC_{50} value of butanol soluble fraction exhibited 13.3 and 6.3 $\mu\text{g/mL}$ scavenging activity on DPPH free radical and superoxide radical, respectively. In addition, the butanol soluble fraction also exhibited the highest reducing power and the metal chelating ability. Its EC_{50} value for metal chelating ability was 310 $\mu\text{g/mL}$, nonetheless the EC_{50} values of quercetin and catechin were more than 2500 $\mu\text{g/mL}$. As for the inhibition of lipid peroxidation, the butanol soluble fraction (EC_{50} 15.9 $\mu\text{g/mL}$) also exhibited the strongest ability. These results demonstrated that the ethanolic extracts of twig of *A. confusa* have excellent antioxidant activities, indicating its potential applications are worthy of further investigations.

【Key words】 *Acacia confusa*, Antioxidant activity, Extracts, Free radical, Total phenolic contents, Twig

I、前言

臺灣本土樹種相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) 屬豆科，相思樹屬之陽性樹種，原產於恆春半島，現今廣泛分佈於臺灣平地及丘陵地，甚至也出現於蘭嶼。相思樹為早期最主要的造林樹種之一，在 50 年代，相思樹每年平均造林面積為 15,892.36 公頃，佔每年造林面積的 45.9%，在 60 年代，每年平均造林面積為 7,417.23 公頃，佔每年造林面積的 25.9% (劉慎孝, 1975)。由於早年的大量栽種造林，使得臺灣低海拔地區處處可看見相思樹的存在。

動脈粥狀硬化為現代人常見的慢性疾病，研究證實動脈粥狀硬化與自由基息息相關 (Moghadasian, 2002)，該疾病所導致中風、高血壓和心肌梗塞等疾病常處於我國十大死因之中。人體藉由氧氣以進行體內各項機能的運作，但其中大約有 2% 的氧氣會轉變成不安定的活性氧 (ROS, Reactive oxygen species)，與體內的各種物質發生反應而造成氧化 (吳志鴻等, 2001)。此外，生活中還有許多其它因素亦會誘發體內產生自由基，如：紫外線、放射線、吸菸喝酒、運動過度、緊張壓力、

食用或攝取過多的加工食品與油脂，這些因素也會造成氧化。生物體可藉由體內的超氧歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、過氧化氫酶 (Catalase, CAT)、麩胱甘肽過氧化酶 (Glutathione peroxidase, GPx) 等酵素或從體外攝取維他命 C、E 和酚類化合物等抗氧化物，清除過多的自由基以維持生理機能的正常運作 (Halliwell and Gutteridge, 1999)。

根據 Chang 等人 (2001) 的研究發現，相思樹樹皮及心材抽出物均具有極佳的抗氧化活性，其中，心材抽出物於 5-10 $\mu\text{g/mL}$ 的濃度下，即可完全抑制 DPPH、超氧自由基的生成以及避免脂質過氧化的產生，與維他命 C 以及兒茶素等純化合物相比，其抗氧化活性甚至較這些已知的抗氧化劑還佳。綜合上述結果，可以得知相思樹具有優異的抗氧化活性。然而在現今永續利用的觀念中，如何充分使用具再生性及低利用性之生物材料，將為現今研究的主軸。因此，本試驗採用具可再生且利用性低之相思樹枝條為研究對象，對其抽出物進行各項抗氧化活性評估。

II、材料與方法

(I) 試驗材料

相思樹 (*Acacia confusa* Merr.) 枝條採自中和圓通寺相思樹林，採集之試材經氣乾後，利用刨花機製成刨片以進行成分之萃取與分離。

(II) 試驗方法

1. 相思樹枝條抽出成分之萃取

相思樹枝條以 70% 乙醇冷浸萃取 3 次，每次浸泡 7 天，萃取液以 Whatman #1 濾紙抽氣過濾以去除雜質，並將過濾所得萃取液以減壓濃縮機 (Rotatory vacuum evaporator) 濃縮，然後移入真空烘箱予以乾燥。

2. 溶劑分配層析

相思樹枝條乙醇抽出物以不同極性之溶劑，包括二氯甲烷、正丁醇及水等，進行液相-液相分配 (Liquid-liquid partition) 萃取，將相思樹枝條乙醇抽出物初步分為二氯甲烷可溶部、正丁醇可溶部以及水可溶部等 3 個分離部。

3. 總酚含量測定

本試驗參考 Kujala 等人 (2000) 之 Folin-Ciocalteu 法測定：以五倍子酸 (Gallic acid) 為標準品進行檢測。試驗時，取 500 μL Folin-Ciocalteu 試劑 (1 N) 加入 500 μL 不同濃度五倍子酸於微量離心管中，混合均勻並靜置 5 min 後，添加 1 mL 20% Na_2CO_3 再靜置 10 min。然後利用離心方式 (150g, 8 min)，取上層之澄清液，以紫外光/可見光分光光譜儀測量波長 730 nm 之吸收值，並根據此吸收值與五倍子酸濃

度之關係求出標準曲線之迴歸式。至於樣品分析，則以樣品 (1 mg/mL) 取代標準品 (五倍子酸)，並依照相同方式進行反應與吸收值測量。將樣品吸光值代入上述迴歸式即可算出每克抽出物中所含五倍子酸相對量 (GAE, Gallic acid equivalent)，並以此表示相思樹枝條之總酚含量。本試驗為 3 次重複。

4. 抗氧化活性試驗

(1) DPPH 自由基清除效應

本試驗參考 Gyamfi 等人 (1999) 試驗方法：取 1000 μL DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 乙醇溶液 (0.1 mM)、450 μL Tris-HCl 緩衝液 (50 mM, pH 7.4) 以及 50 μL 不同濃度之試驗樣品，均勻混合後避光靜置 30 min，續以紫外光/可見光光譜儀測量 517 nm 吸光值。當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值會下降的愈多，利用相對於對照組的吸光值減少百分比，可得知各試驗樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱。此 DPPH 自由基抑制率之強弱，即可代表該試驗樣品提供氫 (Hydrogen donor) 給予自由基能力之強弱。本試驗為 3 次重複。

DPPH 自由基抑制率 (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{實驗組吸收值}}{\text{對照組吸收值}} \right) \times 100$$

(2) 超氧自由基捕捉試驗

本試驗參考 Kirby 和 Schmidt (1999) 之試驗方法並做小幅修飾：取 20 μL 15 mM Na_2EDTA (以 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ 緩衝液配製)、50 μL 0.6 mM NBT (以 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ 緩衝液配製)、30 μL 3 mM

Hypoxanthine(以 50 mM KOH 配製)、5 μ L 不同濃度之試驗樣品以及 145 μ L 緩衝液 (50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$, pH 7.4) 於 96 槽的微量平盤中均勻混合。再迅速添加 50 μ L Xanthine oxidase (0.1 U/mL), 反應過後, 利用酵素免疫分析儀 (ELISA reader) 測量 570 nm 吸光值, 每 20 s 測量一次, 並持續測量 5 min。之後, 計算其反應速率, 並依下列式子計算試驗樣品之超氧自由基抑制率 (%)。本試驗為 3 次重複。

超氧自由基抑制率 (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{實驗組反應速率}}{\text{對照組反應速率}} \right) \times 100$$

(3) 還原力之測定

本試驗參考 Oyaizu (1986) 之試驗方法: 先將 500 μ L 不同濃度之試驗樣品、500 μ L 0.2 M 磷酸緩衝液 (pH 6.6) 與 500 μ L 1% 赤血鹽 ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), 於 50°C 均勻混合 20 min, 然後再加入 500 μ L 10% TCA (Trichloroacetic acid), 並利用離心機離心 (3000 rpm, 10 min), 之後, 取 500 μ L 上層之澄清液, 再添加 500 μ L 去離子水及 100 μ L 0.1% FeCl_3 , 待 10 min 後普魯士藍 ($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$) 形成, 以紫外光/可見光光譜儀測量 700 nm 吸收值的變化, 則可評估各試驗樣品還原能力。吸光值愈高代表其還原能力愈強。本試驗為 3 次重複。

(4) 金屬螯合效果

本試驗參考 Dinis 等人 (1994) 之試驗方法: 先取 200 μ L 不同濃度之試驗樣品、740 μ L 甲醇及 20 μ L 2 mM Fe_2Cl_2 , 均勻混合 30 s, 然後再加入 40 μ L 5 mM Ferrozine 反應 10 min 後, 利用紫外光/可見光光譜儀測量 562 nm 吸光值。 Fe^{2+} 和 Ferrozine 形

成之複合物在 562 nm 有強烈吸光值, 試驗樣品之吸光值愈低代表其金屬螯合效果愈強。本試驗為 3 次重複。

金屬螯合效果 (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{實驗組吸收值}}{\text{對照組吸收值}} \right) \times 100$$

(5) 脂質過氧化試驗

本試驗所用脂質, 取自 6-7 週齡 Balb/c 鼠腦勻漿 (Brain homogenates)。Balb/c 鼠腦於無菌下取出後, 置於 4°C Tris-HCl 緩衝液 (20 mM, pH 7.4) 中, 利用 Polytron 攪拌使其成勻漿狀, 並於 4°C 下離心 15 min (12,000g)。分析時, 於勻漿中添加 50 μ L 不同濃度之試驗樣品, 並以 100 μ L 10 μ M FeSO_4 和 100 μ L 0.1 mM 維他命 C (Ascorbic acid) 於 37°C 作用 1 hr 以引發脂質過氧化反應。反應後, 隨即以 500 μ L TCA (28%, w/v) 及 750 μ L TBA (2-Thiobarbituric acid) (1%, w/v) 於高溫下 (100°C, 15 min) 終止反應。經離心去除沉澱之蛋白質後, 上層之澄清液再以紫外光/可見光光譜儀測量 532 nm 吸收值的變化, 以供評估 Malondialdehyde (MDA)-TBA 錯合物生成量, 並計算各抽出物對脂質過氧化之抑制率 (%)。本試驗為 3 次重複。

脂質過氧化之抑制率 (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{實驗組吸收值}}{\text{對照組吸收值}} \right) \times 100$$

5. 統計分析

利用 SAS 系統中 Scheffe 統計方法, 檢驗相思樹枝條各可溶部之總酚含量是否具顯著差異, 分析時所使用之信賴區間為 95%。

III、結果與討論

(I) 相思樹枝條各可溶部之含量

相思樹枝條乙醇抽出物經由液相-液相分配萃取初步分為二氯甲烷可溶部、正丁醇可溶部、水可溶部以及水不可溶部 4 個部分。各個可溶部含量中以水可溶部 (32.2%) 含量最多，其次為正丁醇可溶部 (22.8%)，而以二氯甲烷可溶部 (13.3%) 含量最少。

(II) 相思樹枝條各可溶部之抗氧化活性

相思樹枝條乙醇抽出物及各可溶部提供氫之能力可由捕捉 DPPH 自由基能力之試驗得知。圖 1 為相思樹枝條乙醇抽出物及各可溶部捕捉 DPPH 自由基能力之結果，由此可以發現乙醇抽出物及各個可溶

部之抑制率隨濃度的增加而增大。比較各個可溶部之抑制率，則以正丁醇可溶部表現最佳，其 EC_{50} 為 $13.3 \mu\text{g/mL}$ ，至於乙醇抽出物、二氯甲烷可溶部及水可溶部，其 EC_{50} 分別為 21.4 、 35.9 及 $39.2 \mu\text{g/mL}$ 。至於宣稱具抗氧化之洋蔥乙酸乙酯抽出物，其 EC_{50} 值大於 $100 \mu\text{g/mL}$ (Shon *et al.*, 2003)，由此顯示相思樹枝條中具極佳之抗氧化能力。其中，正丁醇可溶部具有較佳的 DPPH 自由基捕捉能力，其次為乙醇抽出物、二氯甲烷可溶部，而以水可溶部的效果最差。

相思樹枝條乙醇抽出物及各可溶部清除超氧自由基能力的結果如圖 2 所示，隨著抽出物濃度的增高，超氧自由基的清除能力亦隨之增大。其中，以正丁醇可溶部對超氧自由基之清除最為顯著 (EC_{50} 為

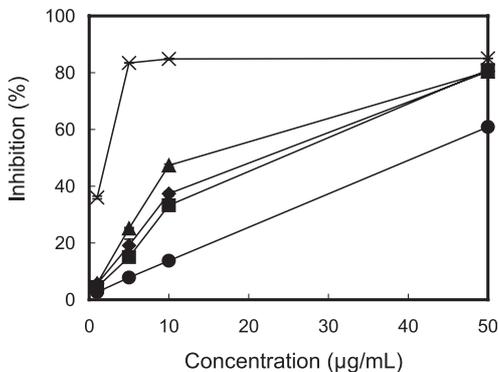


圖 1 相思樹枝條抽出物清除 DPPH 自由基之能力

Fig. 1 Free-radical scavenging activity of ethanolic extracts from the twig of *A. confusa* measured by DPPH assay: (◆) Crude extract, (■) dichloromethane fraction; (▲) butanol fraction, (●) water fraction, (×) quercetin. Results are mean \pm SD ($n = 3$)

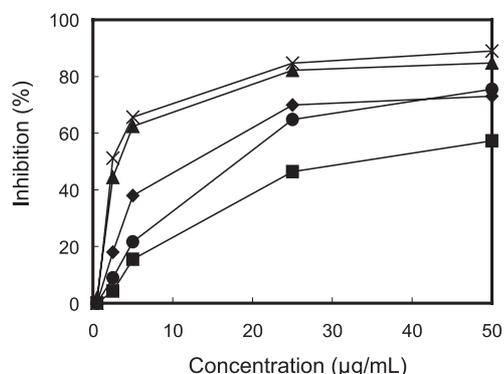


圖 2 相思樹枝條抽出物清除超氧自由基之能力

Fig. 2 Superoxide scavenging activity of ethanolic extracts from the twig of *A. confusa* measured using the NBT assay: (◆) Crude extract, (■) dichloromethane fraction, (▲) butanol fraction, (●) water fraction, (×) catechin. Results are mean \pm SD ($n = 3$)

6.3 $\mu\text{g/mL}$)，其次分別為乙醇抽出物、水可溶部及二氯甲烷可溶部 (EC_{50} 分別為 25.0、36.3 及 66.5 $\mu\text{g/mL}$)。

至於乙醇抽出物及各可溶部還原力之強弱則如圖 3 所示，此結果顯示乙醇抽出物及各可溶部之還原力隨濃度的增加而增大，濃度在 100 $\mu\text{g/mL}$ 時，正丁醇可溶部、乙醇抽出物、水可溶部及二氯甲烷可溶部在 700 nm 之吸收值分別為 1.6、1.2、0.9 及 0.8，此結果顯示，正丁醇可溶部之還原力最佳，其次為乙醇抽出物、水可溶部，而以二氯甲烷可溶部之還原力最差。與洋蔥乙酸乙酯抽出物 (Shon *et al.*, 2003) 相比，其濃度在 5000 $\mu\text{g/mL}$ 時位於 700 nm 之吸收值未達 0.7，本試驗結果顯示相思樹枝條具極佳的還原能力。還原能力愈強者，愈能進行還原反應，將氧化物還原，故此氧化物可再重新提供抗氧化之能力，所以正丁醇可溶部最能進行還原反應，將氧化物還原再利用。

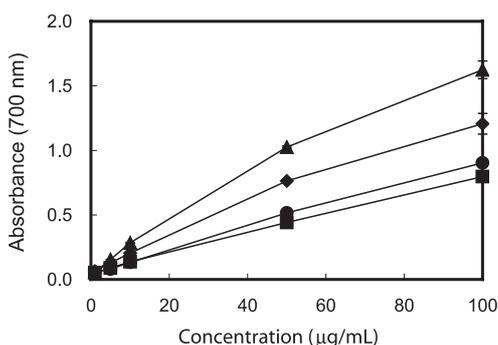


圖 3 相思樹枝條抽出物之還原力

Fig. 3 Reducing power of ethanolic extracts from the twig of *A. confusa*: (◆) Crude extract, (■) dichloromethane fraction, (▲) butanol fraction, (●) water fraction. Results are mean \pm SD ($n = 3$)

人體內過氧化氫在金屬離子的催化下，會藉由芬頓反應 (Fenton reaction) 而形成氫氧自由基，因此若能利用特定的化合物對體內金屬離子產生螯合效果，則能減緩體內之氧化壓力。相思樹之枝條抽出物及各可溶部對金屬螯合之效果如圖 4 所示，其中乙醇抽出物及正丁醇可溶部表現最佳，其 EC_{50} 值皆約 310 $\mu\text{g/mL}$ ；其次為二氯甲烷可溶部及水可溶部， EC_{50} 值分別約 1420 $\mu\text{g/mL}$ 及 2080 $\mu\text{g/mL}$ ，然而已知抗氧化劑 Quercetin 及 Catechin 之 EC_{50} 值皆大於 2500 $\mu\text{g/mL}$ ，故乙醇抽出物及各個可溶部對金屬離子螯合之效果皆較 Quercetin 及 Catechin 的效果為佳。

至於相思樹枝條乙醇抽出物及各可溶部抑制脂質過氧化能力如圖 5 所示，由此結果得知乙醇抽出物及各可溶部對脂質過氧化的抑制能力隨濃度的增加而增大，其中，正丁醇可溶部之抑制脂質過氧化能力最佳 (EC_{50} 為 15.9 $\mu\text{g/mL}$)；其次為二氯甲烷可溶部及乙醇抽出物 (EC_{50} 分別為

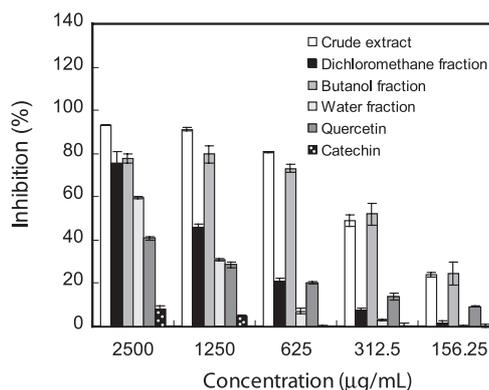


圖 4 相思樹枝條抽出物之金屬螯合效果

Fig. 4 Metal chelating ability of ethanolic extracts from the twig of *A. confusa*. Results are mean \pm SD ($n = 3$)

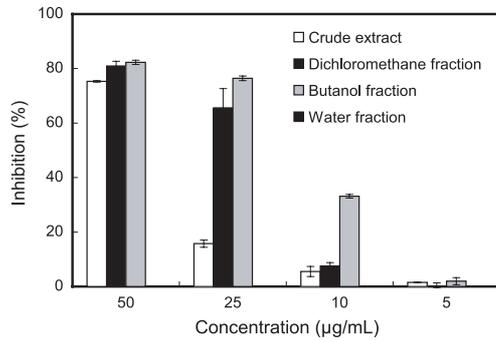


圖 5 相思樹枝條抽出物之抑制脂質過氧化能力

Fig. 5 Effects of *A. confusa* twig extracts on both ferric ion and ascorbic acid induced lipid peroxidation on mouse brain homogenates. Results are mean \pm SD ($n = 3$).

21.0 及 39.4 $\mu\text{g/mL}$)，而水可溶部抑制脂質過氧化能力最差 ($\text{EC}_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$)。由上述試驗結果顯示相思樹枝條中，正丁醇可溶部具有較佳的自由基捕捉能力，其次為二氯甲烷可溶部、乙醇抽出物，而以水可溶部的效果最差。

(III) 相思樹枝條各可溶部之總酚含量

至於各個可溶部之總酚含量經 Folin-Ciocalteu 法測定結果如表 1 所示，每克正丁醇可溶部、水可溶部及二氯甲烷可溶部中，分別含有相當於五倍子酸 706.9、206.2 及 135.6 mg 之酚類化合物，與葡萄皮 (33.3 mg/g)、葡萄子 (85.8 mg/g) (Negro *et al.*, 2003)、白洋蔥 (115 mg/g)、紅洋蔥 (133 mg/g) 及黃洋蔥 (107 mg/g) (Shon *et al.*, 2003) 相比，其含量較這些抗氧化食品多。此外，根據 Sato 等人 (1996) 分析 31 種酒類中多酚類含量與超氧自由基的抑制關係時發現，超氧自由基的清除能力與多酚

表 1 相思樹枝條乙醇抽出物之總酚含量

Table 1 Total phenolic contents of ethanolic extracts from the twig of *A. confusa*

| Specimens | Total phenolics (mg of GAE/g) ^a |
|--------------------------|--|
| Crude extract | 146.6 \pm 9.0 ^c |
| Dichloromethane fraction | 135.6 \pm 0.9 ^c |
| Butanol fraction | 706.9 \pm 10.4 ^a |
| Water fraction | 206.2 \pm 11.5 ^b |

^a Total phenolics are expressed as gallic acid equivalent (GAE). Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD. Different letters (a-c) in the table are significantly different at the level of $P < 0.05$ according to the Scheffe's test.

類含量成正比，而本試驗結果亦證實，相思樹枝條之酚類化合物含量愈多，其超氧自由基的清除能力愈佳，即正丁醇可溶部 > 乙醇抽出物 > 二氯甲烷可溶部 > 水可溶部。

IV、結論

相思樹的栽植面積相當廣泛，以往僅用來作為薪炭、枕木、礦坑支柱、造船、家具之用，一直未能有效的加以利用，殊為可惜。本試驗利用 DPPH 自由基捕捉、超氧自由基捕捉、還原力、金屬離子螯合及脂質過氧化等試驗方法評估相思樹枝條抽出物之抗氧化活性，試驗結果得知，相思樹枝條各分離部中皆以正丁醇可溶部具有較佳的抗氧化活性，其抑制 DPPH 自由基、超氧自由基及脂質過氧化能力之 EC_{50} 分別為 13.3、6.3 及 15.9 $\mu\text{g/mL}$ 。此外，各分離部之總酚含量依序為正丁醇可溶部 > 水可溶部 > 二氯甲烷可溶部，此結果顯示

自由基之清除能力與總酚量成正相關。而在金屬螯合力方面，試驗結果得知相思樹之枝條抽出物及各可溶部對金屬之螯合效果皆較已知的抗氧化劑—Quercetin 為佳。綜合上述試驗結果確知相思樹枝條具有極佳的抗氧化能力，因此若能繼續對相思樹進行深入的研究，並評估其抗氧化應用之可行性，則可為臺灣本土相思樹之利用帶來新的契機。

V、引用文獻

- 吳志鴻、王升陽、張上鎮 (2001) 本土樹種的研究新契機—抗氧化抽出成分。林產工業 20(3) : 251-258。
- 劉慎孝 (1975) 由森林經理觀點論臺灣之森林更新與造林問題(下)。臺灣林業 1(2) : 5-16。
- Chang, S. T., J. H. Wu, S. Y. Wang, P. L. Kang, N. S. Yang and L. F. Shyur (2001) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. J. Agric. Food Chem. 49: 3420-3424.
- Dinis, T. C. P., V. M. C. Madeira and L. M. Almeida (1994) Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Arch. Biochem. Biophys. 315: 161-169.
- Gyamfi, M. A., M. Yonamine and Y. Aniya (1999) Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. Gen. Pharmacol. 32: 661-667.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (1999) Free radicals in biology and medicine. Oxford, New York. 933 pp.
- Kirby, A. J. and R. J. Schmidt (1997) The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-1. J. Ethnopharmacol. 56: 103-108.
- Kujala, T. S., J. M. Laponen, K. D. Klika and K. Pihlaja (2000) Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. J. Agric. Food Chem. 48: 5338-5342.
- Moghadasian, M. H. (2002) Experimental atherosclerosis-A historical overview. Life Sci. 70: 855-865.
- Negro, C., L. Tommasi and A. Miceli (2003) Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. Bioresource Technology. 87: 41-44.
- Oyaizu, M. (1986) Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 35: 771-775.
- Sato, M., N. Ramarathnam, Y. Suzuki, T. Ohkubo, M. Takeuchi and H. Ochi (1996) Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. J. Agric. Food Chem. 44: 37-41.
- Shon, M. Y., S. D. Choi, G. G. Kahng, S. H. Nam and N. J. Sung (2004) Antimutagenic, antioxidant and free radical

- scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food Chem. Toxicol.* 42: 659-666.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231-1237.

