

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 茶飲料工廠廢棄烏龍茶渣中 Theasinensins 之製備及活性探討

計畫類別： 個別型計畫

計畫編號： NSC92-2626-B-041-003-

執行期間： 92 年 09 月 01 日至 93 年 07 月 31 日

執行單位： 嘉南藥理科技大學食品科技系

計畫主持人： 葉東柏

報告類型： 精簡報告

處理方式： 本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 11 月 4 日

[illegible]

❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖ ❖

中 華 民 國 九 十 三 年 十 月 二 十 九 日

## 一、中文摘要

關鍵詞：茶渣 Theasinensins 抗氧化能力

本計畫之提出在於國人飲茶(特別是烏龍茶)風氣頗為盛行，每年茶飲料工廠所產生之茶渣量相當可觀，而烏龍茶渣中尚含有相當量的兒茶素類物質。本計畫原以抽提茶渣萃取液中之 theasinensins 為主要目標，據以在保健食品及臨床上做適當的應用，增加茶葉之經濟利益。主要結果如下

1. 茶渣藉由高壓沸水或 47.5% 乙醇水溶液進行萃取。發現乙醇萃取液中含有較多的兒茶素類物質的氧化產物及聚合物。
2. 經抗氧化能力(包括 DPPH 清除能力與總抗氧化能力-TEAC 值)測試，以單位重量計，乙醇萃取液呈現明顯較高的抗氧化能力，甚至比原茶葉之抽出物還要好；原因推測係乙醇萃取液中含有較多的 theaflavins 及 theasinensins 所致。
3. 單純以 EGCG 當做原料，利用鹼液及還原劑等處理，的確會有 theasinensins 產生，但若是以茶渣萃取液為起始物，則不但沒有新的 theasinensin 產生，更會造成兒茶素類物質的大量消失，進而導致抗氧化能力的大幅下降。
4. 萃取液中的 theasinensin 理論上可藉由吸附法及製備式 HPLC 法等進行純化。不過由於 theasinensins 含量目前仍無法有效提升，固若僅考量將茶渣萃取液開發為食品級抗氧化劑或作為保健食品為主要用途，純化的意義不大。

## 二、英文摘要

Keywords: tea wastes theasinensins antioxidation  
This study is based on the prevalence of tea drinking in our country, and there are thousands tons of tea wastes are produced from the factories each year. In the tea wastes from the tea drink factory, there is still large quantity of catechins and their derivatives (such as theaflavins and theasinensins) remained. In this study, we extracted first the residual catechins and their derivatives from tea wastes obtained from factory with 121 °C hot water or 47.5% aqueous ethanol. The aqueous ethanol extract of the tea wastes shown more antioxidative capability, due to

mainly the presence of higher concentration of EGCG and its derivatives, such as theaflavins and diflavanol. Treated EGCG with alkali and/or reducing agent can induce theasinensins. However, if use tea extract, obtained either with hot water or aqueous ethanol, as starting materials, not only no theasinensins were induced, but also loss of most catechins in them, and cause loss of the antioxidative ability of the samples. Although the theasinensins presence in the tea extract can be isolated further by adsorption and semi-preparative HPLC chromatography, but in considering of its usage only as an antioxidants or healthy foods additives, such process is seem not necessary.

## 三、緣由與目的

茶 (*Camellia sinensis*) 是古今中外非常普遍的天然保健飲料原材，台灣茶葉年產量在兩萬公噸以上<sup>(1)</sup>。我國罐裝茶飲料的產製，2001 年其銷售金額約為一百三十億元新台幣以上；估計每年茶飲料工廠所需茶葉約為四、五千公噸<sup>(2,3)</sup>。

烏龍茶(及包種茶)為我國的特有產品，但與綠、紅茶相較，產量卻明顯偏少。根據 1999 年的統計，全世界烏龍茶總產量只佔了 2% 而已，其中大約一半產自台灣<sup>(3)</sup>。由於量少，流通性不廣，以致除了兒茶素類物質外，其他成份的研究相當欠缺。由 Xie 等的報告知，烏龍茶中除了兒茶素類物質外，尚含有大量的色素成分，包括茶紅素(TR)與茶黃素(TF)<sup>(4)</sup>。除外，烏龍茶及紅茶中亦含有相當量的雙黃烷醇 (bisflavanols)，特別是 theasinensins (簡稱 TS)。自從 1983 年 Nishioka 等人<sup>(5)</sup>自新鮮茶葉中發現 theasinensin A、B、C 以後，1988 年再由烏龍茶中陸續的分離出 theasinensin D、E、F、G 及 oolongtheanin 等成分<sup>(6)</sup>。雖然有關此等成分的生理效能之研究仍相當有限，但從少數侷限於 TS-A 及 D 的報告中卻仍然顯示 TS 具有相當好的保健與醫療效果，包括能促進癌細胞凋亡<sup>(7)</sup>、降低膽固醇的生合成

(8)、抑制癌細胞擴散<sup>(9)</sup>，也是茶成分中少數具抗愛滋病毒者<sup>(10)</sup>。而Kyoji等人證明，茶的主要成份-EGCG及EGC在弱鹼的環境(包括腸道、膽汁及血液)中極易轉變成二聚體(即 theasinensins)，此等二聚體具有與EGCG相同或更高的螯合鐵及抗氧化功能，較易被吸收且在血中能夠維持較長的時間<sup>(11)</sup>，因此申請人認為相當值得進一步去加以探討。

本研究乃嘗試以不同條件進行茶渣中保健成份的回收，探討其抗氧化能力，並藉由不同處理設法提高 theasinensins 的含量，再加以精製，以提高茶葉之經濟效益。

#### 四、研究方法

##### I、實驗用材料

本研究所用之茶渣，除部分為自行製備外，其他則直接來自本校鄰近的生產工廠。茶渣可直接進行萃取，或經乾燥及碾碎後裝瓶，並置入除溼器中冷藏備用。

##### II、進行步驟

在先期研究計畫階段，僅就實驗室層級之可行性進行檢討，施行的步驟如下：

##### 1.原料茶葉的處理 (自製茶渣)

秤取 10g 自茶飲料工廠所取得的原料茶葉，模擬一般沖泡茶葉的程序，加入的 100℃ 沸水 1 升，過濾後再萃取一次，合併濾液並回收茶渣備用 (自製茶渣)。

##### 2.茶渣之萃取

萃取的方法主要分為高壓(121℃)沸水及 47.5%乙醇水溶液浸泡。萃取液或濃縮或凍乾成粉末再進行不同處理，以探討產生更多雙黃烷醇的可行性。來自本校鄰近的生產工廠的茶渣 (工廠茶渣) 則直接以 47.5%乙醇水溶液進行萃取。

##### 3.成份分析

樣品利用 HPLC 法進行兒茶素類及咖啡因含量的分析。一般的情況係以小管柱 (Lichrospher RP-18, 5μ, 4.6 x 125 mm) 配合光二極體陣列 (photo dioid array) 檢出器進行分析。兩種分析條

件如下：

I. 100% 甲醇與醋酸 (2.5% 水溶液) 的混合液由開始的 11:89 增至二十分鐘的 30:70，然後至二十五分鐘的 50:50 後，再增至三十分鐘的 80:20 並維持五分鐘；流速為 0.8 mL/分。

II. Acetonitrile:N,N-dimethylformamide:0.1% 磷酸(3:1:40)的移動相，流速為 1.0 mL/分<sup>(11)</sup>。

##### 4.雙黃烷醇之誘發與製備

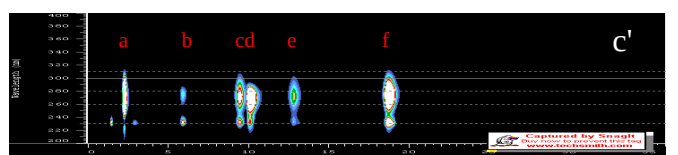
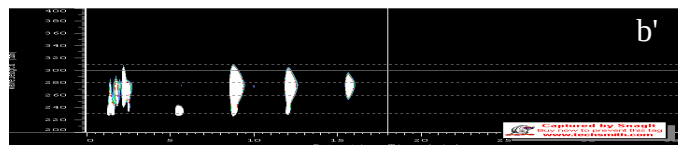
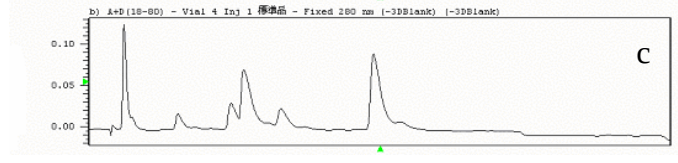
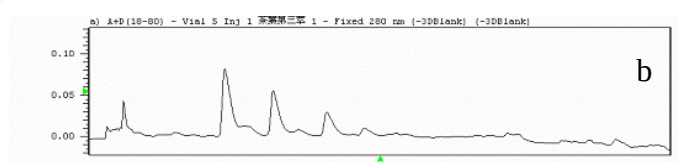
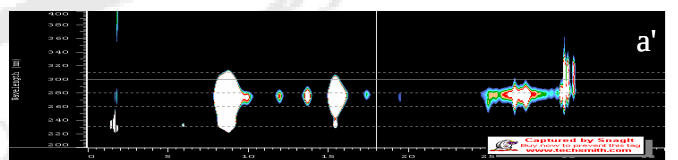
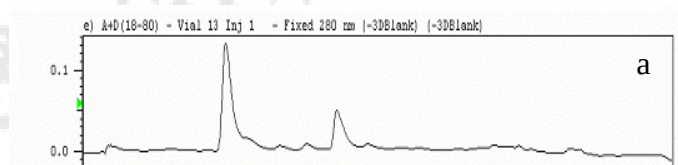
茶渣萃取液經適當處理，包括鹼液及還原劑的添加，以設法提高 theasinensins 的含量。其中所含之雙黃烷醇的單離將嘗試用製備式高壓管柱層析法<sup>(12)</sup>等。

##### 5.抗氧化活性的測定

將以抗氧化係就總抗氧化能力(即TEAC值)<sup>(9)</sup>及DPPH的清除能力(EC<sub>50</sub>值)<sup>(14)</sup>加以測定。

#### 五、結果與討論

##### 1. 茶渣在不同條件下抽出液之分析



上圖為自製茶渣經 47.5% 乙醇水溶液(a 及

a')、高壓(121℃)沸水(b及b')浸泡及標準品(c及c')之 HPLC 分析結果，包含層析圖及光二極陣列(PDA)圖譜。標準品中含 a: gallic acid; b: EGC; c: EGCG; d: caffeine; e: GCG; f: ECG。下圖為工廠茶渣 47.5%乙醇水溶液抽出液之分析圖。

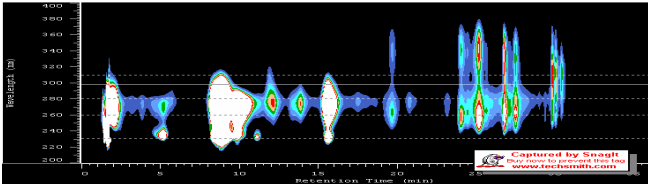


表1、茶渣樣品於不同條件下的萃取之成分變化

| 萃<br>取<br>物<br>質<br>/<br>萃<br>取<br>條<br>件 * | Total<br>Esterified<br>catechins<br>(mg/g) | GA/GCG<br>(mg/g) | Caffeine<br>(mg/g) |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------|--------------------|
| 自製茶渣<br>沸水萃取10'                             | 7.80                                       | 0.34/2.47        | 1.21               |
| 自製茶渣<br>沸水萃取20'                             | 7.76                                       | 0.41/3.08        | 0.74               |
| 自製茶渣<br>沸水萃取30'                             | 7.39                                       | 0.55/3.28        | 0.85               |
| 自製茶渣<br>乙醇萃取10'                             | 3.49                                       | -                | 0.64               |
| 自製茶渣<br>乙醇萃取20'                             | 6.40                                       | -                | 0.86               |
| 自製茶渣<br>乙醇萃取30'                             | 7.35                                       | -                | 1.02               |
| 自製茶渣<br>乙醇萃取40'                             | 7.90                                       | -                | 0.92               |
| 工廠茶渣<br>乙醇萃取40'                             | 15.70                                      |                  | 2.01               |

\*萃取條件見研究方法 (含量以每克乾茶葉計)  
根據分析數據所得顯示，以 47.5% 乙醇萃取茶渣四十分鐘，可得到相當量的酯化型兒茶素、咖啡因及兒茶素之衍生物 (包括 theaflavins及theasinensins等)物質，來自茶飲料工廠者特別明顯。推測其主要原因，除了使用 47.5% 的乙醇水溶液具有較高的萃取效率，特別是酯型兒茶素及其衍生物(20分及其後所溶出者)；更重要的是茶飲料工廠先前的萃取程序的較不完全，因而造成有較多的殘留所致 (12,15)。另外，如將圖 5.5 利用標準品作比對，可看出利用乙醇水溶液當萃取溶劑時，在原

本GCG位置(滯留時間約為 12 分鐘)及 13.5 分處各出現一個波峰，但從吸收光譜(光二極陣列圖)來看前者與 GCG 並不一樣。經比較，該二物的特性與文獻報告<sup>(11)</sup>的雙黃烷醇類似。而用 121℃ 高壓沸水萃取時，由滯留時間與吸收光譜的比對，可證明確有GCG 形成，且生成量隨時間延長增加，GA也有類似現象(表 1)。

2.茶渣萃取物之抗氧化活性(TEAC 值及 DPPH 清除力)

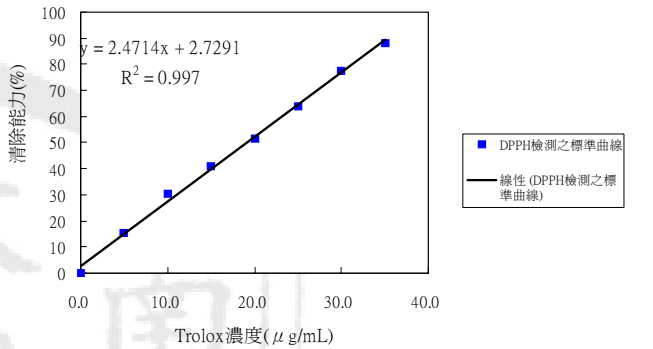


圖 1-1、檢測清除 DPPH 能力之標準曲線

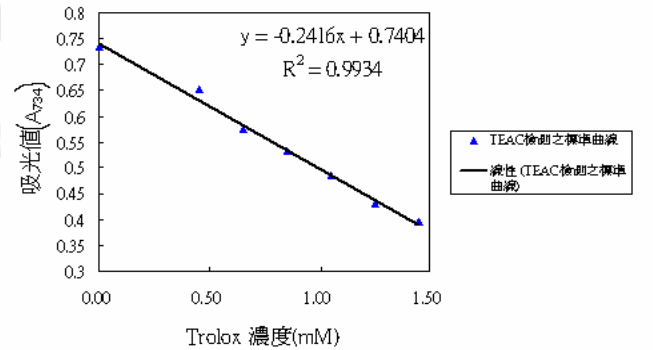


圖 1-2、檢測 TEAC 值之標準曲線

表 2、茶葉及茶渣萃取物凍乾粉末抗氧化能力之比較 (n=3)

| Sample | 總重*<br>(mg) | 酯化<br>型兒<br>茶素*<br>(mg) | DPPH<br>EC <sub>50</sub><br>(μg/mL) | TEAC**<br>(mM) |
|--------|-------------|-------------------------|-------------------------------------|----------------|
| Trolox | - ****      | -                       | 19.08(±0.03)                        | -              |
| 茶葉***  | 509.7       | 66.96                   | 33.48(±0.04)                        | 1.35(±0.01)    |
| 自製茶    | 50.1        | 7.32                    | 52.76(±0.03)                        | 1.17(±0.02)    |



|           |      |       |              |             |
|-----------|------|-------|--------------|-------------|
| 渣 1***    |      |       |              |             |
| 自製茶渣 2*** | 57.7 | 7.56  | 85.25(±0.04) | 1.08(±0.02) |
| 工廠茶渣***   | 93.1 | 14.53 | 27.73(±0.03) | 1.46(±0.03) |

\* 以 1 克乾原料茶葉計

\*\* 各樣品濃度為 0.5mg/mL

\*\*\* 茶葉及茶渣之萃取條件如下

茶葉：將茶葉加入約每克乾茶葉 100 倍體積的水，並利用 100°C 沸水沖泡並攪拌二十分鐘並重覆兩次。在兩次萃取後所得茶渣，再分別使用下列條件進行萃取。

自製茶渣 1：經兩次沸水萃取後之茶渣加入約每克乾茶葉 20 倍體積的 47.5% 乙醇水溶液，於室溫下進行萃取四十分鐘。

自製茶渣 2：經兩次沸水萃取後之茶渣加入約每克乾茶葉 20 倍體積的水，在高壓滅菌釜中加熱至 121°C(高壓沸水)，分別萃取二十分鐘。

工廠茶渣：是由統一茶飲料工廠直街取得的茶渣，將茶渣加入約每克乾茶葉 20 倍體積的 47.5% 乙醇水溶液，於室溫下進行萃取四十分鐘。

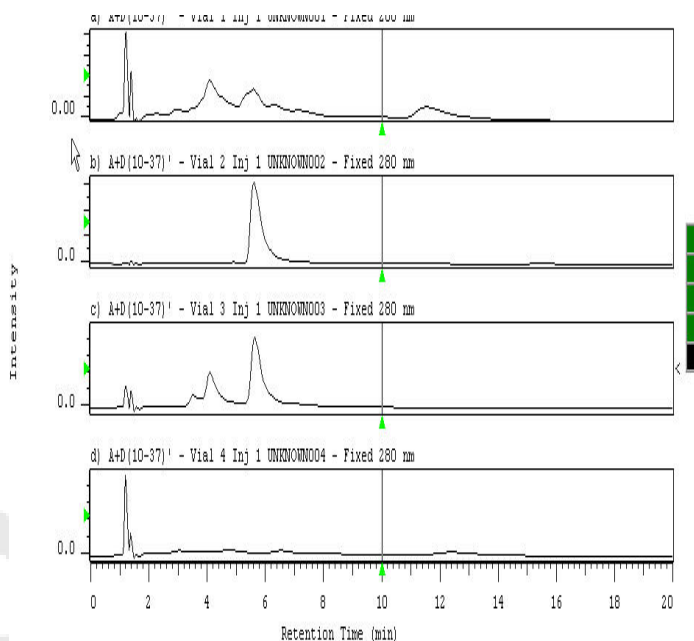
\*\*\*\* "-"表無數值

由上表顯示工廠茶渣之萃取物具有相當好的抗氧化效果，單位重量的抗氧化能力甚至有優於茶葉萃取組。吾人探討其原因發現，可能是一般茶飲料工廠用熱水進行茶葉萃取時所使用的溫度通常較低，導致萃取較不完全，因此在沖泡後會有較多的酯型兒茶素物質等殘留在茶渣中未被萃取出，如同上節所述當利用 47.5% 乙醇水溶液萃取時能夠得到較多的 EGCG，且 EGCG 不會發生異構化 (形成 GCG) (16)，所以導致其具有較佳清除 DPPH 的能力。另外一種可能是因為使用 47.5% 乙醇水溶液萃取時，除了可以萃取出酯型兒茶素物質外，也會將茶渣或茶葉中極性較低的物質 (特別是茶黃質 (theaflavins，滯留時間在 20~30 分鐘間) 及雙黃烷醇等萃取出來 (4)。

### 3. 雙黃烷醇之誘發與製備

為了提高雙黃烷醇之含量，本研究嘗試文獻

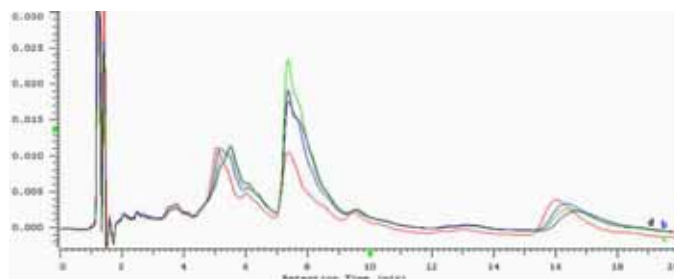
上現有的方法<sup>(11)</sup>，利用純化的 EGCG 當作原料，添加 NaHCO<sub>3</sub> 處理。



上圖為在下列條件中反應後之層析圖

- 3% NaHCO<sub>3</sub> + EGCG (1mg / mL 10% EtOH)，反應 10 min
- EGCG (1mg / mL 10% EtOH) (control)
- 3% NaHCO<sub>3</sub> + EGCG (1mg / mL 10% EtOH)，反應 0 min (開始物質)
- 3% NaHCO<sub>3</sub> + EGCG (1mg / mL 10% EtOH)，反應 30 min

由上述結果顯示，EGCG 在鹼液 (NaHCO<sub>3</sub>) 中會發生明顯的變化，反應 30 分後 EGCG 幾乎完全消失。接著探討不同 pH 值鹼液的影響，結果如下圖：



上圖為在下列條件中反應後之層析圖

- 紅: EGCG (1mg / mL 10% EtOH) + 3% NaHCO<sub>3</sub> (pH 9) (1:1 混合)，反應 10 min  
 藍: EGCG (1mg / mL 10% EtOH) + 3% NaHCO<sub>3</sub> (pH 8.5) (1:1 混合)，反應 10 min  
 綠: EGCG (1mg / mL 10% EtOH) + 3% NaHCO<sub>3</sub>

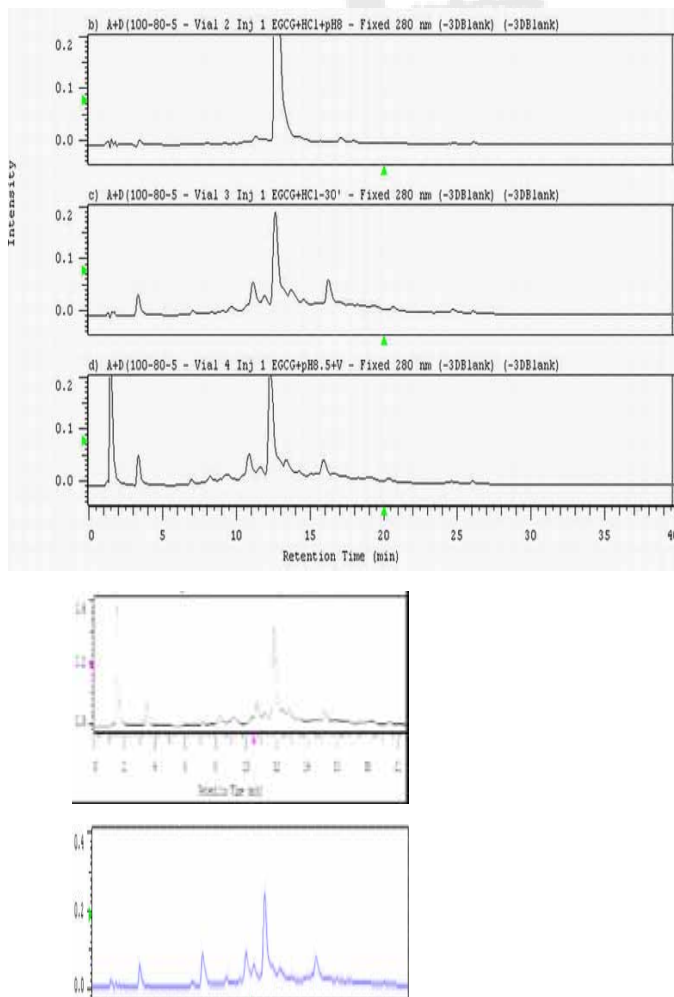
(pH 8) (1:1 混合), 反應 10 min

黑: EGCG (1mg /mL 10%EtOH) +3% NaHCO<sub>3</sub>

(pH 7.5) (1:1 混合), 反應 10 min

由上述結果顯示, EGCG在不同pH值的鹼液 (NaHCO<sub>3</sub>) 中會發生不同的變化。

進而嘗試以文獻記載的方法-包括鹼液及還原劑等的處理, 以設法提高產物中theasinensins的含量。首先以純化的EGCG (3 mg/mL 10% EtOH)為材料, 鹼液為 1.5% (pH為 9.5-7.5 之間), 分別在室溫反應 0 至 30 分, 再添加HCl酸化, 部份樣品在反應後另加入還原劑-vitamin C 或dithiothreitol (DTT)作為比較。由於缺乏標準品, 將結果直接與原文件比對。由下圖顯示, 在pH 7.5-8.5 間, 發現確有類似文獻上所報告的雙黃烷醇 (bisflavanols, 如theasinensins) 形成 (如下圖 2-5)。添加還原劑, 特別是DTT (下圖 5), 似有促進雙黃烷醇生成的效果。

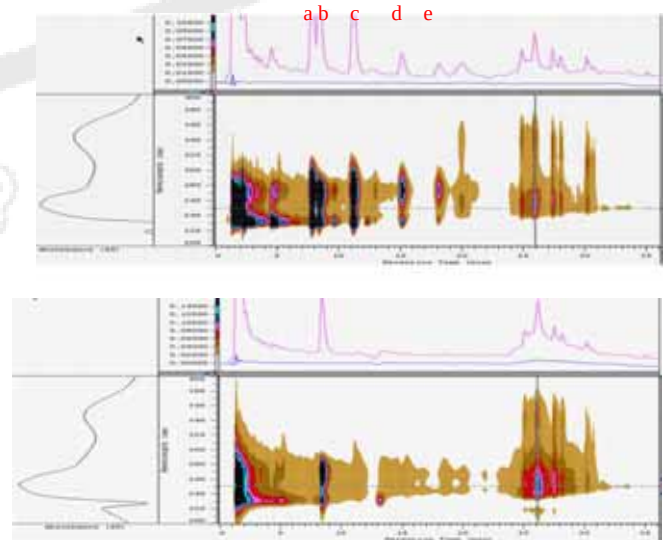


反應條件如下:

1. EGCG + HCl + NaHCO<sub>3</sub> (8.5) 反應 0 min

2. EGCG + NaHCO<sub>3</sub> (8.5) 反應 30 min後+ HCl
3. EGCG + NaHCO<sub>3</sub> (8.5) 反應 30 min後+ Vit C 反應 3hr
4. EGCG + NaHCO<sub>3</sub> (7.5) 反應 30 min後+ Vit C 反應 3hr
5. EGCG + NaHCO<sub>3</sub> (7.5) 反應 30 min後 + DDT反應 30 min後+ HCl

接著再以工廠茶渣經高壓(121°C)沸水處理之抽出液, 濃縮五倍做為材料, 進行鹼的處理。由下圖顯示, 鹼的存在下, 30 分鐘內, 會導致兒茶素類物質幾乎完全消失; 原因應為在鹼的處理中, 兒茶素類物質轉變成多種氧化產物 (theaflavins; 出現在 20 分以後的成分)。此現象與前述以 EGCG 為原料的結果有很大的差異, 理由可能是茶渣之抽出液中, 成分過於複雜(包括有多量的 EGCG 與 ECG 因異構化而形成 GCG 與 CG)所致。還原劑(Vit C)的添加, 似有促進氧化物復原成兒茶素類物質的效果, 但是否有雙黃烷醇的生成, 目前尚很難由光二極陣列圖譜加以判斷。

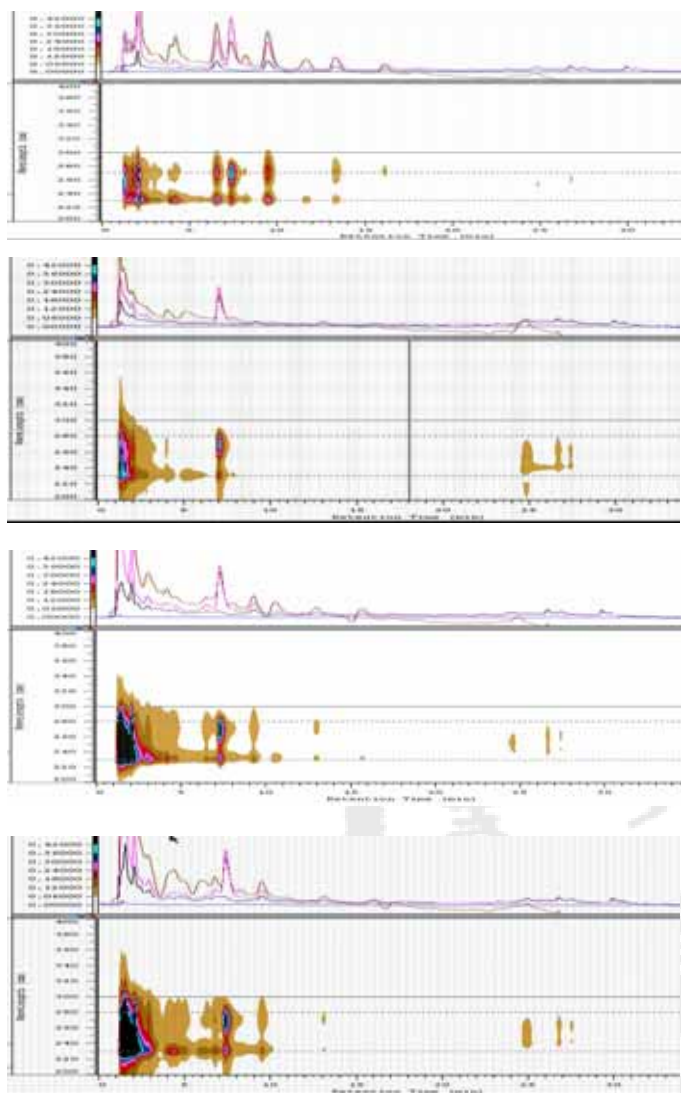


(上)濃縮五倍的茶渣萃取液+ 4N HCl + NaHCO<sub>3</sub> (8.5) (control)

(下)濃縮五倍的茶渣萃取液+ NaHCO<sub>3</sub> (pH8.5) 反應 30'+ 4N HCl

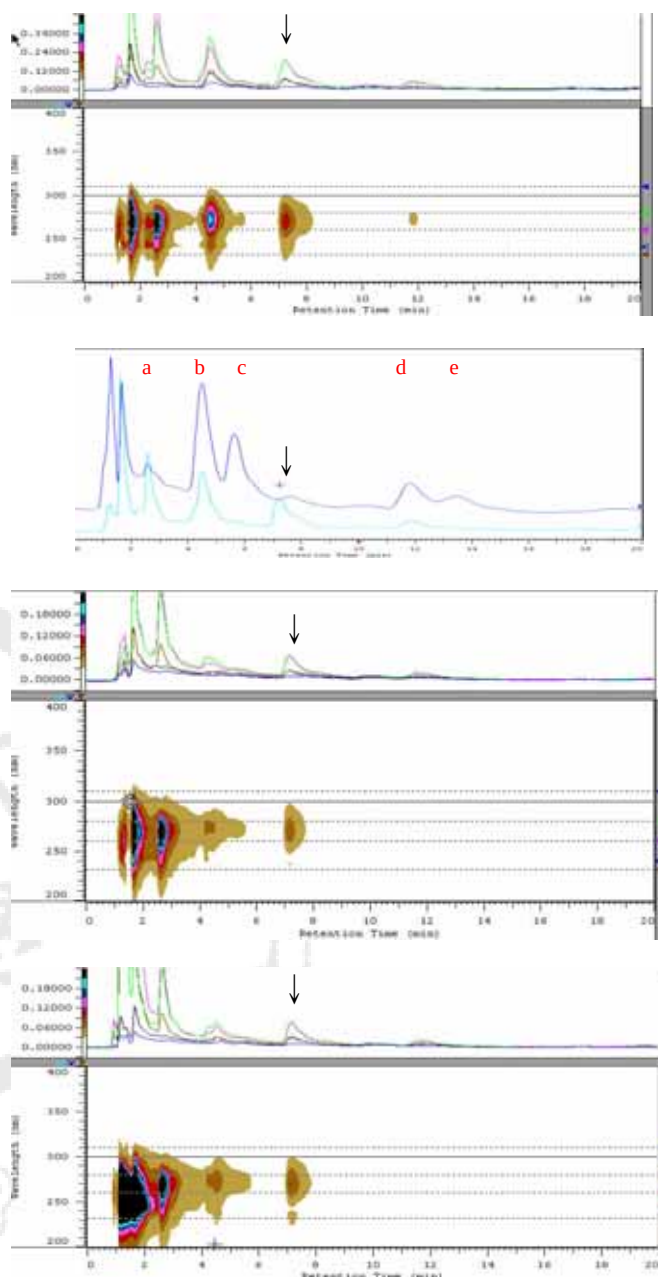
a: caffeine; b: EGCG; c: GCG; d: ECG; e: CG

a b c d e



EGCG + buffer pH 8.5 反應 0' + HCl  
 EGCG + buffer pH 8.5 反應 30' + HCl  
 EGCG + buffer pH 7.4 反應 30' + VitC 反應 3hr  
 EGCG + buffer pH 7.4 反應 30' + VitC 反應 12hr  
 a: caffeine; b: EGCG; c: GCG; d: ECG; e: CG

接著再以工廠茶渣經 47.5% 乙醇之抽出液做為材料，進行鹼的處理。由下圖顯示，鹼的存在下，30 分鐘後，大部份兒茶素類物質的濃度會減少，但除了 GA (1.6 分) 及咖啡因 (2.6 分) 外，尚有部份高壓沸水抽出液中含量甚少的內容物 (7.2 分，箭頭↓處) 大部分被保留下來。也就是說，雖然鹼的處理對於雙黃烷醇的形成採用不明顯，但 47.5% 乙醇較高壓沸水在前處理上顯示能夠萃取較多的雙黃酮醇。而還原劑 (Vit C) 的添加，仍具有促進氧化物的復原的效果，但是否有新的雙黃烷醇生成，很難加以論斷。



將上述鹼處理前後之兩種茶渣樣品分別進行抗氧化活性之分析，得到如下之結果。

表 3、茶葉及茶渣萃取物凍乾粉末抗氧化能力之比較 (n=3)

| Samples          | DPPH清除力<br>EC <sub>50</sub><br>(μg/mL) | TEAC值**<br>(mM) |
|------------------|----------------------------------------|-----------------|
| Trolox           | 18.75(±0.03)                           | -               |
| 茶渣抽出液 1          | 83.44(±0.04)                           | 1.06(±0.01)     |
| 茶渣抽出液 1<br>(鹼處理) | 125.36(±0.03)                          | 0.87(±0.02)     |
| 茶渣抽出液 2          | 26.85(±0.04)                           | 1.48(±0.02)     |



|                  |                     |                    |
|------------------|---------------------|--------------------|
| 茶渣抽出液 2<br>(鹼處理) | 47.93( $\pm 0.04$ ) | 1.18( $\pm 0.03$ ) |
|------------------|---------------------|--------------------|

茶渣抽出液 1: 經兩次沸水萃取後之茶渣加入約每克乾茶葉 20 倍體積的水，在高壓滅菌釜中加熱至 121°C (高壓沸水)，分別萃取二十分鐘。

茶渣抽出液 2: 是由某茶飲料工廠直街取得的茶渣，將茶渣加入約每克乾茶葉 20 倍體積的 47.5% 乙醇水溶液，於室溫下進行萃取四十分鐘。

由上述結果顯示，兩種茶渣萃取液經鹼處理後，其抗氧化能力均明顯下降。其原因推測應與鹼處理造成兒茶素類物質濃度的驟降，而其衍生物-雙黃烷醇又未相對的增加等現象有關。

根據文獻記載，兒茶素類物質可藉由鹼的處理<sup>(11)</sup>或在製造過程中加熱<sup>(17)</sup>再配合乙醇萃取可以產生雙黃烷醇。本研究顯示若以單純的 EGCG 當做原料進行鹼處理，的確可以誘發雙黃烷醇的產生；但若是以茶渣萃取液為起始物，則以目前的結果推論似乎很難達到誘發大量雙黃烷醇生成的目的。不過工廠茶渣利用 47.5% 乙醇萃取所得之抽出液中，原本就可能存在部分兒茶素類物質的聚合物-雙黃烷醇及氧化產物-茶黃素等，這也可能是為何 47.5% 乙醇萃取液具有較高的 DPPH 清除力及總抗氧化能力 (TEAC) 的主要原因。

雖然理論上，茶渣萃取液中的 theasinensin 可藉由吸附法及製備式 HPLC 法等進行純化。不過由於 theasinensins 含量目前仍無法有效提升，若僅以開發為食品級抗氧化劑或作為保健食品為主要用途，純化的意義不大。

## 六、自評

1. 本計畫係自廢棄茶渣中以不同方式萃取殘留的兒茶素類物質及其衍生物。比較其抗氧化活性，進而再嘗試以數種方法提高萃取液中雙黃烷醇的含量，並評估進一步純化的經濟價值，以作最有效之應用。
2. 根據以上的數據顯示，就酯化型兒茶素類物質的抽取量而言，高壓廢水萃取較為簡便，但

如考量抗氧化能力，則是以 47.5% 乙醇萃取法較為有利。47.5% 乙醇萃取液中，除酯化型兒茶素外，尚有兒茶素之氧化及聚合衍生物(包括雙黃烷醇及茶黃素等)存在，以致抗氧化能力明顯較高。茶渣做最有效的利用。

3. 原計畫擬提高茶渣萃取液中雙黃烷醇的含量，由結果顯示，以目前的測試方法，並無法達到預期的目的，雖然參照文獻的程序以純 EGCG 為原料是可行的。成分複雜為可能的因素，但確實原因尚有待進一步探討。
4. 雖然本研究未能如預期的得到高濃度的雙黃烷醇，但如若是以開發食品級抗氧化劑或保健食品為主要目的，似已可依據本研究的程序供業界應用，當然也再延伸探討作為藥用之可行性。

## 七、參考文獻

1. 廖慶樑茶葉專訊，第 29 期，6-8, 1999。
2. 阮逸明等農特產品加工研討會專刊，61-72 頁, 1995。台灣省農林廳，台中。
3. 鄭正宏農特產品加工研討會專刊，92-97 頁, 1995。台灣省農林廳，台中。
4. Graham, H.N. Prev. Med., 21, 334, 1992.
5. Nonaka, G.I., *et al*, Chem. Pharm. Bull., 31(11), 3906-3914, 1983.
6. Hashimoto, F., *et al*, Chem. Pharm. Bull., 36(5), 1676-1684, 1988.
7. Pan, M.H., *et al*, J. Agric. Food Chem., 48(12), 6337-6346, 2000.
8. Ikuro, A., *et al*, Biochem. Biophys. Res. Commun., 268(3), 767-771, 2000.
9. Kouichi, S., *et al*, Biosci. Biotech. Biochem., 63(3), 585-587, 1999.
10. Mari, M.Y., *et al*, J. Agric. Food Chem., 47(6), 2350-2354, 1999.
11. Yoshino, K., *et al*, J. Nutri. Biochem., 10(4), 223-229, 1999
12. 葉東柏, 國科會報告, 2003
13. Terao J., *et al*, Arch. Biochem. Biophys., 308(1): 278-284, 1994.
14. Zhang A., *et al*, J. Nutr. Biochem., 8, 1997.
15. 葉東柏、郭建民 藥物與食品分析 6(1): 47, 1998.
16. Wang H., Helliwell K., Food Chemistry, 70(3): 337-344, 2000.
17. Tanaka, T., *et al*, J. Nat. Prod., 65: 1582-1587, 2002.