

Кулонометрическая оценка железовосстанавливающей способности некоторых продуктов питания

© Зиятдинова Гузель Камилевна,⁺ Низамова Альфия Маратовна
и Будников Герман Константинович*

Кафедра аналитической химии. Химический институт им. А.М. Бутлерова. КФУ.
Ул. Кремлевская, 18. г. Казань, 420008. Республика Татарстан. Россия.
Тел.: (843) 233-74-91. E-mail: Ziyatdinovag@mail.ru

*Ведущий направление; ⁺Поддерживающий переписку

Ключевые слова: железовосстанавливающая способность, гексацианоферрат(III)-ионы, гальваностатическая кулонометрия, анализ пищевых продуктов.

Аннотация

Найдены стехиометрические коэффициенты реакций полифенолов с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами.

Предложен способ кулонометрической оценки железовосстанавливающей способности (ЖВС) некоторых продуктов питания, основанный на реакции их компонентов с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами. Определена ЖВС чая и кофе, а также ряда специй. Показано, что ЖВС черного и зеленого чая близки по значениям (123 ± 31 и 124 ± 25 Кл/100 мл, соответственно, $p > 0.05$). Установлено, что ЖВС растворимого кофе незначительно зависит от марки производителя. Сублимированный растворимый кофе обладает большей ЖВС, чем гранулированный (300 ± 54 и 248 ± 14 Кл/100 мл, соответственно, $p > 0.05$). Кофе в зернах значительно уступает растворимому кофе по ЖВС (284 ± 41 и 224 ± 31 Кл/100 мл, соответственно, $p < 0.05$). Показано, что однократная экстракция спиртом в течение 10 минут позволяет провести максимальное извлечение активных компонентов из специй. ЖВС специй уменьшается в следующем ряду: корица > гвоздика > розмарин > зира > орегано > имбирь > ягоды можжевельника > перец красный > мускатный орех > куркума > перец черный = перец красный сладкий > базилик > кориандр.

Введение

Широкий круг антиоксидантов, присутствующих во фруктах, овощах, ягодах и других продуктах питания, способен нивелировать последствия и предотвращать развитие окислительного стресса, вызванного цепными радикальными реакциями.

Процессы свободнорадикального окисления в живом организме признаются как основные, вызывающие старение организма и развитие таких патологий как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, катаракта, сахарный диабет, онкологические заболевания, вирус иммунодефицита человека и др. [1-3].

Поэтому оценка антиоксидантных свойств продуктов питания является важным направлением исследований, имеющим значение для создания новых пищевых добавок, продуктов питания с заданными свойствами и контроля их качества. Это, в свою очередь, требует разработки доступных и экспрессных способов надежного определения параметров, характеризующих антиоксидантные свойства.

К одной из таких характеристик относится и железовосстанавливающая способность (ЖВС), основанная на восстановлении антиоксидантами соединений железа(III), например, Fe(III)-трипиридилтриамина до Fe(II)-трипиридилтриамина, который окрашен в интенсивно синий цвет (максимум поглощения при 593 нм) [4].

Более поздние работы продемонстрировали возможность использования в качестве альтернативы комплексу Fe²⁺ с трипиридилтриазином, комплексов с фенантролином, батофенантролином, а также окрашенных феррицианидных реагентов [5]. Метод позволяет опре-

делять только те антиоксиданты, редокс потенциал которых выше потенциала превращения Fe^{3+} в Fe^{2+} , в частности, полифенольные соединения [6].

Настоящая работа посвящена разработке кулонометрического способа определения ЖВС и ее оценке применительно к продуктам питания, в частности, напитков и специй, основанного на реакции анализируемого объекта с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами.

Следует отметить, что при кулонометрическом определении ЖВС выражается в единицах количества электричества, что позволяет легко перевести полученные результаты в эквивалент любого индивидуального антиоксиданта, зная стехиометрические коэффициенты его реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами.

Экспериментальная часть

Электрогенерацию $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов осуществляли из 0.1 М $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ в 0.5 М КОН при постоянной силе тока 5.0 мА. Конечную точку титрования определяли амперометрически с двумя поляризованными платиновыми электродами ($\Delta E = 200$ мВ).

В электрохимическую ячейку на 50.0 мл вводили 20.0 мл фонового раствора, помещали рабочий, вспомогательный и индикаторные электроды.

Включали генераторную и индикаторную цепи. При достижении определенного значения индикаторного тока в ячейку вводили аликвоту (0.2-1.2 мл) аналита и одновременно включали секундомер.

Конечную точку титрования фиксировали по достижению первоначального значения индикаторного тока. Выключали секундомер и отключали индикаторную цепь.

Железовосстанавливающую способность (ЖВС) образцов рассчитывали как количество электричества (Кл), затраченное на титрование, в пересчете на 1 г сухого вещества:

$$\text{ЖВС} = I \times t \times V_{\text{н}} / V_{\text{ал}} \times m,$$

где I – сила тока, А; t – время достижения конечной точки титрования, с;
 $V_{\text{н}}$ – объем экстракта, мл; $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, мл; m – масса сухого образца, г
 или 100 г сухого вещества для напитков:

$$\text{ЖВС} = 100 \times I \times t \times V_{\text{н}} / V_{\text{ал}} \times m,$$

где I – сила тока, А; t – время достижения конечной точки титрования, с;
 $V_{\text{н}}$ – объем напитка, мл; $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, мл; m – масса сухого образца, г.

Определение проводили при комнатной температуре. Стандартные растворы полифенолов (рутина, кверцетин, дигидрокверцетин, пропилгаллат, катехин, танин, куркумин и лютеолин) готовили по точной навеске, которую растворяли в 25 мл спирта.

Чай готовили по общепринятой методике: 1 пакетик чая (2 г) или навеску чая (2 г) заливали 200 мл доведенной до кипения водой и заваривали в течение 3 мин. Экстракт отфильтровывали и подвергали дальнейшим исследованиям.

Растворимый кофе (2 г) заливали 150 мл горячей воды. Кофе в зернах (4 г) предварительно размалывали, а затем варили в турке, не допуская кипения.

Математическую и статистическую обработку данных проводили при $\alpha 0.05$ с помощью программы SPSS for Windows software (SPSS Inc., USA).

Все результаты выражали как $X \pm \Delta X$, где X – среднее значение и ΔX – доверительный интервал. Различия в средних значениях величин оценивали с помощью t-теста Стьюдента.

Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

1. Реакции полифенолов с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами

В качестве кулонометрического титранта исследованы гексацианоферрат(III)-ионы, которые могут реагировать как одноэлектронные окислители. Известно, что в процессах, протекающих в живых системах, также принимают участие одноэлектронные переносчики и эти реакции могут быть приняты во внимание при их моделировании. Для выяснения стехиометрии реакций проводили кулонометрическое титрование стандартных растворов полифенолов (рис. 1).

Установлено, что все полифенолы реагируют с титрантом быстро и количественно. Число электронов, участвующих в реакциях полифенолов с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -

Полная исследовательская публикация _____ Зиятдинова Г.К., Низамова А.М. и Будников Г.К. ионами, определенные методом кулонометрического титрования, представлено в табл. 1. Окисление полифенолов под действием $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов протекает с участием гидроксильных групп с образованием, вероятно, соответствующих карбонильных производных согласно схеме 1.

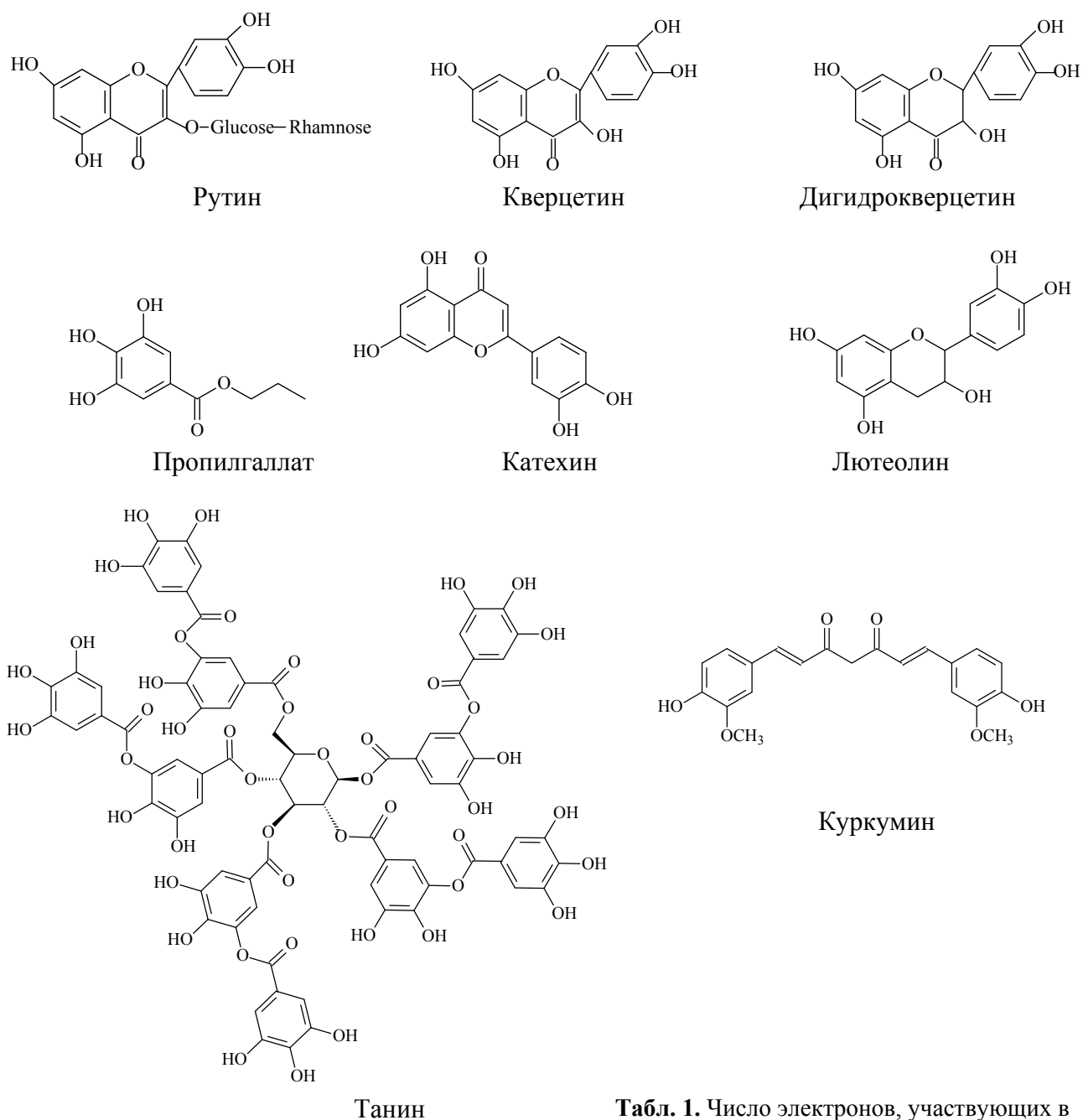
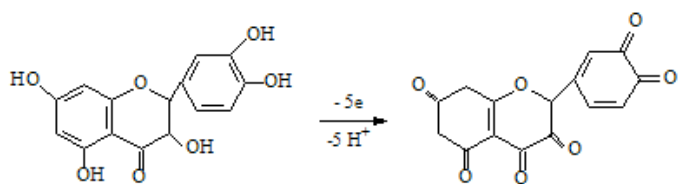


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых полифенолов

Табл. 1. Число электронов, участвующих в реакциях полифенолов с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами

Соединение	Число электронов, участвующих в реакции
Рутин	4
Кверцетин	5
Дигидрокверцетин	5
Пропилгаллат	3
Катехин	4
Танин	25
Куркумин	5
Лютеолин	4

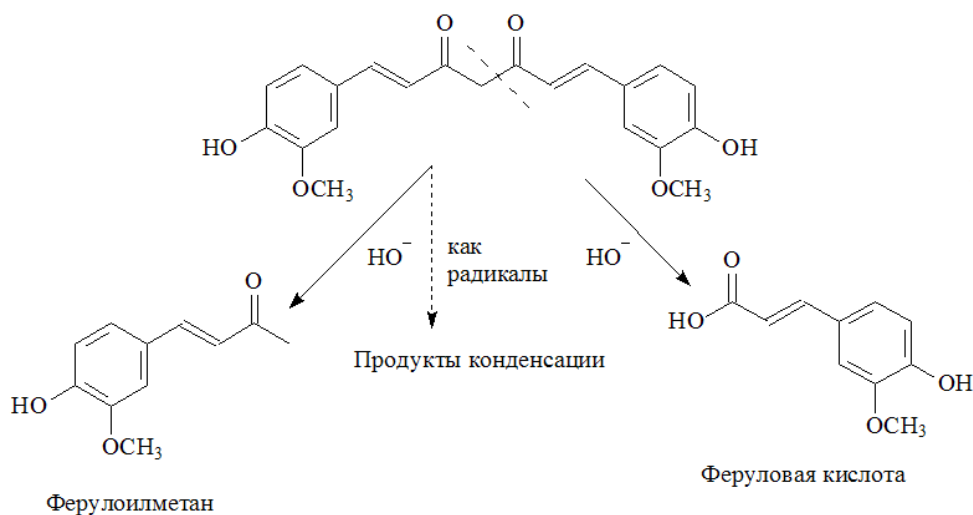
Схема 1



Причем, число электронов, участвующих в реакции, совпадает с числом OH-групп в моле-

КУЛОНОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЖЕЛЕЗОВОСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ... 72-79
 куле полифенола за исключением катехина и куркумина. В случае куркумина следует отметить, что в щелочной среде он частично разрушается с образованием феруловой кислоты и ферулоилметана [7] согласно схеме 2, но эти процессы идут во времени.

Схема 2



Проведено количественное определение рассмотренных полифенолов в модельных растворах. Правильность результатов оценена по методу “Введено”–“Найдено” (табл. 2).

Табл. 2. Результаты кулонометрического определения полифенолов в модельных растворах по реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами ($n = 5$, $P = 0.95$)

Соединение	Введено, мкг	Найдено, мкг	s_r
Рутин	132	128±3	0.018
	399	397±3	0.010
Кверцетин	60	60±2	0.030
	180	179±1	0.004
Дигидрокверцетин	60	60±3	0.035
	121	120±2	0.013
Пропилгаллат	85	85±2	0.015
	212	212±1	0.004
Катехин	116	116±3	0.021
	290	290±1	0.003
Танин	272	272±1	0.004
	544	544±1	0.001
Куркумин	118	117±1	0.0094
	589	588±2	0.0029
Лютеолин	115	115±2	0.014
	286	286±4	0.011

2. Оценка железовосстанавливающей способности напитков

Чай и кофе являются одними из основных источников природных антиоксидантов в рационе питания человека. Поэтому оценка их антиоксидантных свойств представляет несомненный практический интерес.

Созревший чайный лист содержит около 130 различных веществ [8]. Антиоксидантные свойства чая определяются содержанием в нем широкого круга полифенольных соединений: танинов, катехинов, флавонолов, кофеина и так далее.

Электрогенерированные $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионы предложены как реагент для определения железовосстанавливающей способности (ЖВС) напитков, обусловленной присутствием низкомолекулярных антиоксидантов, главным образом, полифенолов [9].

Определена ЖВС чая. Показано, что зеленый и черный чай обладают близкими по значениям ЖВС, а именно 12 ± 3 и 12 ± 4 кКл/100 г ($p > 0.05$), соответственно (табл. 3). Это объясняется присутствием в чае белков (от 16-25%), которые способны связывать полифенолы, содержащиеся в нем. Основными растворимыми протеинами чая являются глютенины и альбумины [10-12], причем последние в большем количестве. В зеленом чае альбумины связывают часть полифенолов, переводя их в неактивную форму.

В черных чаях в основном содержатся глютенины, поскольку альбумины разрушаются в процессе ферментации. Глютенины связывают полифенолы в меньшей степени. Поэтому доля свободных полифенолов в зеленом и черном чаях оказывается в итоге примерно одинаковой.

Табл. 3. Железовосстанавливающая способность чая по реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами ($n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	Тип фасовки	ЖВС, кКл/100 г	s_r
“Greenfield” Delicate Keemun		9.0 ± 0.1	0.012
“Ahmad”, English Tea №1	пакетики	16.8 ± 0.3	0.016
Принцесса “Нури”, с бергамотом		10.9 ± 0.1	0.010
“Ahmad”, Earl Grey		13.6 ± 0.1	0.0083
Принцесса “Ява”, Эрл Грей	листовой	11.1 ± 0.2	0.012
“Greenfield”, Green Mellissa	пакетики	10.0 ± 0.2	0.018
“Hyleys”, English Green Tea		12.0 ± 0.1	0.0075
“Ahmad”, Jasmine Green Tea	листовой	15.0 ± 0.3	0.018

Табл. 4. Железовосстанавливающая способность кофе по реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами ($n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	Форма обработки	ЖВС, кКл/100 г	s_r
Арабика “Традиция”	зерна	7.2 ± 0.1	0.010
“Vending Espresso Paulig”		8.5 ± 0.2	0.018
“Dallmayr Promodo”	молотый	7.8 ± 0.1	0.014
“Жокей” традиционный		9.9 ± 0.2	0.013
“Grandos Exclusive”		26.5 ± 0.6	0.019
“Grandos Egoiste Noir”		29.3 ± 0.9	0.026
Nescafe Collection “Cap Colombie”		20.1 ± 0.4	0.016
“Carte Noire”	растворимый сублимированный	20.3 ± 0.3	0.012
“Vipcafe Black Label”		20.6 ± 0.5	0.018
“Жокей Триумф”		20.6 ± 0.5	0.018
“Jacobs Monarch”		27.3 ± 0.4	0.012
“Tchibo Exclusive”		17.4 ± 0.2	0.010
“Ambassador Adora”		20.2 ± 0.2	0.0078
“Moccona Excellent”	растворимый гранулированный	18 ± 0.3	0.012
“Maxwell House”		17.6 ± 0.2	0.0080
“Nescafe Classic”		18.7 ± 0.1	0.0044
“Dancafe”		20.0 ± 0.6	0.0025

Как видно из данных табл. 3, чай “Ahmad” независимо от способа фасовки проявляет наибольшую ЖВС среди исследованных марок, что, вероятно, связано с различной ценовой категорией изучаемых чаев.

Оценена ЖВС кофе по реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами. Установлено, что ЖВС растворимого кофе незначительно зависит от марки производителя (табл. 4).

Однако сублимированный растворимый кофе обладает большей ЖВС, чем гранулированный, что объясняется способом обработки зерен для получения этих форм кофе. Так, для получения гранулированной формы кофейный экстракт подвергают дегидратации при высо-

ком давлении в струе горячего воздуха, что приводит к частичному окислению полифенолов. А в случае сублимированного кофе, экстракт вымораживают и обезвоживают в вакууме, что способствует сохранению полифенолов [13, 14].

Кофе в зернах значительно уступает растворимому кофе по ЖВС. Вероятно, это связано со способом обработки зерен при получении растворимого кофе, в частности дегидратацией, что приводит к концентрированию компонентов. Кроме того, нельзя исключать возможность добавления кофеина и других компонентов, обладающих антиоксидантными свойствами, в процессе получения растворимого кофе.

Установлено, что ЖВС напитков хорошо коррелирует с интегральной антиоксидантной емкостью, найденной по реакции с электрогенерированным бромом [15]. Коэффициенты корреляции составили 0.98773 и 0.90006 для чая и кофе, соответственно.

3. Железосстанавливающая способность специй

Специи растительного происхождения содержат большое число компонентов, в том числе и антиоксидантов различной природы [16, 17]. Поэтому оценка их антиоксидантных свойств представляет интерес.

Оценена ЖВС ряда специй. Для определения использовали спиртовые экстракты, поскольку основными антиоксидантами специй являются полифенолы. Установлено, что максимальное извлечение достигается при однократной экстракции в течение 10 минут. Соотношение сырье/экстрагент устанавливали экспериментально для каждой специи. Для этого брали 1 г специи и варьировали объем экстрагента от 2 до 10 мл. Эффективность экстракции оценивали кулонометрически и выражали как количество электричества, затраченное на титрование экстракта.

Табл. 5. Железосстанавливающая способность специй по реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами ($n = 5$, $P = 0.95$)

Специя	Объем экстрагента на 1 г специи, мл	ЖВС, Кл/1 г	s_r
Кумин	2	4.5±0.2	0.032
Гвоздика	2	13.3±0.2	0.013
Корица	4	42.3±0.2	0.0042
Базилик	6	0.79±0.04	0.036
Мускатный орех	6	1.40±0.06	0.032
Куркума	5	1.10±0.09	0.067
Кориандр	4	0.54±0.03	0.044
Перец черный	2	0.94±0.07	0.065
Перец красный	6	1.55±0.03	0.017
Перец красный сладкий	2	0.94±0.01	0.012
Розмарин	6	7.44±0.08	0.0085
Орегано	6	3.69±0.08	0.017
Имбирь	2	2.80±0.09	0.025
Ягоды можжевельника	2	1.68±0.04	0.014

Результаты определения ЖВС специй представлены в табл. 5. Наибольшую ЖВС проявили корица и гвоздика, что хорошо согласуется с литературными данными по антиоксидантной активности этих специй [18, 19]. Высокие значения ЖВС связаны с большим содержанием в корице гидроксикоричной кислоты и эвгенола [20] и эвгенола и галловой кислоты в гвоздике [18, 21].

Наименьшее значение ЖВС получено для базилика и кориандра, что объясняется высоким содержанием в них ненасыщенных липофильных соединений [22, 23], которые плохо экстрагируются спиртом и не вступают в реакцию с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами.

Розмарин, занимающий промежуточное положение в рассматриваемом ряду, содержит карнозол и карнозиновую кислоту [24-26], розманол и розмариновую кислоту [27, 28], а также ряд родственных соединений – эпи- и изорозманол [29], розмарилидиленол [30] и розмадиаль [31], которые вносят свой вклад в ЖВС. Следует отметить, что розманол проявляет большую антиоксидантную активность, чем карнозол [27]. Остальные специи содержат небольшие количества полифенолов, что отражается в их ЖВС.

Заключение

Оценка антиоксидантных свойств продуктов питания имеет важное значение для прогнозирования их биологической активности и возможного терапевтического эффекта на организм человека, что в итоге, способствует сохранению здоровья. Кроме того, знание свойств пищевых продуктов позволяет составлять диеты и давать рекомендации населению, а также использовать полученную информацию при создании новых продуктов питания и оценке их качества.

Выводы

1. Найдены стехиометрические коэффициенты реакций электрогенерированных $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов с полифенолами – рутином, кверцетином, дигидрокверцетином, катехином, пропилгаллатом, лютеолином, куркумином и танином. Установлено, что число электронов, участвующих в реакциях с $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами, соответствует числу гидроксильных групп в молекуле аналита, за исключением куркумина и катехина. Предложены соответствующие схемы реакций.
2. Разработан простой, доступный и надежный способ оценки железовосстанавливающей способности, основанный на реакции с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами.
3. Оценена железовосстанавливающая способность (ЖВС) напитков и специй. Показано, что зеленый и черный чай обладают близкой по значениям ЖВС. ЖВС растворимого кофе достоверно больше, чем для кофе в зернах, что связано с технологией получения растворимого кофе. ЖВС специй обусловлена присутствием полифенолов. Наибольшая ЖВС характерна для корицы и гвоздики.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 09-03-00309-а).

Литература

- [1] Lee J., Koo N., Min D.B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*. **2004**. Vol.3. No.1. P.21-33.
- [2] Lee K.G., Mitchell A.E., Shibamoto T. Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. *J. Agric. Food Chem.* **2000**. Vol.48. No.10. P.4817-4820.
- [3] Pietta P., Simonetti P., Mauri P. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J. Agric. Food Chem.* **1998**. Vol.46. No.11. P.4487-4490.
- [4] Benzie I.F.F., Chung W.Y., Strain J.J. Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *J. Nutr. Biochem.* **1999**. Vol.10. No.3. P.146-150.
- [5] Berker K.I., Guclu K., Tor I., Apak R. Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*. **2007**. Vol.72. No.3. P.1157-1165.
- [6] Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Methods*. **2009**. Vol.2. No.1. P.41-60.
- [7] Tonnesen H.H., Karlson J. Studies of curcumin and curcuminoids: V. Alkaline degradation of curcumin. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1985**. Vol.180. No.2. P.132-134.
- [8] Хохлачев В.В. Все о чае. М.: Агропромиздат. **1987**. 207с.
- [9] Ziyatdinova G., Nizamova A., Budnikov H.C. Novel coulometric approach to evaluation of total free polyphenols in tea and coffee beverages in presence of milk proteins. *Food Anal. Methods*. DOI 10.1007/s12161-010-9174-0

- [10] Похлёбкин В.В. Чай, его история, свойства и употребление. М.: Центрполиграф. **2004**. 207с.
- [11] Harbowy M.E., Balentine D.A. Tea chemistry. *Crit. Rev. Plant. Sci.* **1997**. Vol.16. No.5. P.415-480.
- [12] Graham H.N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* **1992**. Vol.21. No.3. P.334-350.
- [13] Viani R. Coffee. In: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. **1986**. P.315-339.
- [14] Pintau N. Coffee solubilization: commercial processes and techniques. *Food Technol. Rev.* **1975**. No.28. 256p.
- [15] Низамова А.М., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Электрогенерированный бром – кулонометрический реагент для оценки биодоступности полифенолов. *Журн. аналит. химии.* **2011**. Т.66. №3. С.308-316.
- [16] Yanishlieva-Maslarova N.V., Heinonen I.M. Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. In: Antioxidants in food: practical applications. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. **2001**. P.210-263.
- [17] Tapsell L.C., Hemphill I., Cobiac L., Patch C.S., Sullivan D.R., Fenech M., Roodenrys S., Keogh J.B., Clifton P.M., Williams P.G., Fazio V.A., Inge K.E. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med. J. Aust.* **2006**. Vol.185. No.4. P.S4-S24.
- [18] Leela N.K., Sapna V.P. Clove. In: Chemistry of spices. CABI. **2008**. P.146-164.
- [19] Leela N.K. Cinnamon and Cassia. In: Chemistry of spices. CABI. **2008**. P.124-145.
- [20] Wu T.S., Leu Y.L., Chan Y.Y., Yu S.M., Teng C.M., Su J.D. Lignans and an aromatic acid from *Cinnamomum philippinense*. *Phytochemistry.* **1994**. Vol.36. No.3. P.785-788.
- [21] Kramer R.E. Antioxidants in clove. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **1985**. Vol.62. No.1. P.111-113.
- [22] Parthasarathy V.A., Zachariah T.J. Coriander. In: Chemistry of spices. CABI. **2008**. P.190-210.
- [23] Lee S.-J., Umamo K., Shibamoto T., Lee K.-G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* **2005**. Vol.91. No.1. P.131-137.
- [24] Aruoma O.I., Halliwell B., Aeschbach R., Lölliger J. Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica.* **1992**. Vol.22. No.2. P.257-268.
- [25] Bracco U., Lölliger J., Viret J.-L. Production and use of natural antioxidants. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **1981**. Vol.58. No.6. P.686-690.
- [26] Chen Q., Shi H., Ho C.-T. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **1992**. Vol.69. No.10. P.999-1002.
- [27] Nakatani N., Inatani R. Structure of rosmanol a new antioxidant from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agric. Biol. Chem.* **1981**. Vol.45. No.10. P.2385-2386.
- [28] Gerhardt U., Schröter A. Rosmarinic acid – an antioxidant occurring naturally in herbs. *Fleischwirtschaft.* **1983**. No.63 P.1628-1630.
- [29] Nakatani N., Inatani R. Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) and a revised structure for rosmanol. *Agric. Biol. Chem.* **1984**. Vol.48. No.8. P.2081-2085.
- [30] Houlihan C.M., Ho C.-T., Chang S.S. Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **1984**. Vol.61. No.6. P.1036-1039.
- [31] Nakatani N., Inatani R. A new diterpene lactone, rosmadial, from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agric. Biol. Chem.* **1983**. Vol.47. No.2. P.353-358.