

# 羅漢果活性成分萃取及其機能性分析試驗研究

陳建宏、楊博文

E-mail: 345521@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

羅漢果(Momordica Grosvenoraii Swingle)是中國廣西桂林特產的藥用植物，在現代藥理學中已有研究指出，羅漢果具有止咳、去痰、保肝、抗糖尿病等功效。其中主要活性成分葫蘆烷三萜類(Cucurbitane Triterpene Glycosides)中的羅漢果糖苷(Mogroside)為主要的甜味來源，其甜度為蔗糖的300倍且熱量極低，具有高甜度、低熱量、水溶性、食用安全等特點可作為食品添加劑蔗糖的替代品，尤其是做為糖尿病患者的代糖是最理想的天然甜味劑及保健食品。本研究先針對羅漢果糖苷進行萃取和分析，再以高效液相層析儀HPLC作定性及定量分析。萃取方試採用微波輔助萃取(Microwave-Assisted Extraction)及超音波輔助萃取(Ultrasonic-Assisted Extraction)，並先進行溶劑、時間、溫度、固液比的單因子試驗，而在最佳萃取條件的研究上，將以直交試驗設計法(田口氏試驗法；Orthogonal Array)，探討在不同時間、溫度、固液比等條件下對萃取羅漢果糖苷含量的影響。後續再對羅漢果糖苷液進行α-Glucosidase的抑制及抗氧化等生理活性試驗。最佳萃取條件試驗結果顯示以50%乙醇為最佳萃取溶劑，微波輔助萃取為萃取時間9min、萃取溫度80℃、固液比1：30，超音波輔助萃取為萃取時間50min、萃取溫度50℃、固液比1：30為糖苷最佳萃取條件。而生理活性試驗，羅漢果糖苷對α-Glucosidase的活性抑制在濃縮液固形物4.02 mg/mL時即達半抑制濃度(IC<sub>50</sub>, Concentration of 50% Inhibition)。在抗氧化方面羅漢果糖苷對DPPH自由基清除、OH·自由基清除、超氧陰離子清除的半效應濃度(EC<sub>50</sub>, Concentration of 50% Effect)分別為0.82、0.81、13.28 mg/mL。而官能品評結果以羅漢果薄荷配方(羅漢果25.0g、薄荷7.5g加一公升水熬煮)最受品評員喜愛。

關鍵詞：羅漢果、羅漢果糖苷、α-葡萄糖糖苷、微波輔助萃取、抗氧化

## 目錄

目錄	封面內頁	簽名頁	中文摘要	iii	英文摘要	v	誌謝	vi	目錄	vii	圖目錄	xi	表目錄	xiii	1. 前言	1	2. 文獻回顧	2	2.1 羅漢果簡介	2	2.1.1 羅漢果型態與分佈簡介	2	2.1.2 羅漢果的品種分類	4	2.1.3 羅漢果成分及其藥理作用簡介	5	2.1.4 羅漢果現有應用	8	2.2 不同萃取方法簡介	10	2.2.1 微波輔助萃取	10	2.2.2 超音波輔助萃取	11	2.3 糖尿病之回顧	12	2.3.1 糖尿病簡介	12	2.3.2 糖尿病與α-Glucosidase的關係	14	2.4 自由基對人類健康的影響	15	2.4.1 自由基簡介	15	2.4.2 抗氧化劑簡介	16	2.4.3 抗氧化活性測定原理	16	2.4.3.1 DPPH自由基清除能力測定	16	2.4.3.2 OH·自由基清除能力測定	16	2.4.3.3 超氧陰離子清除能力測定	17	2.5 直交試驗計劃法	17	2.5.1 直交試驗計劃法簡介	17	2.5.2 直交表之符號意義	18	2.5.3 信號雜音比	18	3. 材料與方法	20	3.1 試驗材料	20	3.1.1 樣品來源	20	3.1.2 藥品清單	20	3.1.3 儀器清單	21	3.2 研究方法	22	3.2.1 樣品前處理	22	3.2.2 不同萃取方式之最佳條件探討	22	3.2.2.1 微波輔助萃取(Microwave-Assisted Extraction, MAE)	22	3.2.2.2 超音波輔助萃取(Ultrasonic-Assisted Extraction, UAE)	23	3.2.3 成分分析	23	3.2.3.1 羅漢果糖苷分析	23	3.2.3.2 羅漢果糖苷標準曲線建立	24	3.2.4 α-Glucosidase的活性抑制試驗	24	3.2.5 抗氧化活性測定	25	3.2.5.1 DPPH自由基清除能力測定	25	3.2.5.2 OH·自由基清除能力測定	25	3.2.5.3 超氧陰離子清除能力測定	25	3.2.6 羅漢果茶官能品評	26	3.2.7 統計分析	26	3.2.8 試驗流程圖	27	4. 結果與討論	28	4.1 微波輔助萃取羅漢果糖苷分析結果	28	4.1.1 微波輔助萃取單因子分析結果	28	4.1.2 微波輔助萃取L9表分析結果	40	4.2 超音波輔助萃取羅漢果糖苷分析結果	45	4.2.1 超音波輔助萃取單因子分析結果	45	4.2.2 超音波輔助萃取L9表分析結果	54	4.3 生理活性分析	59	4.3.1 α-Glucosidase活性抑制效果分析	59	4.3.2 抗氧化活性測定結果	61	4.3.2.1 DPPH自由基清除率分析	62	4.3.2.2 OH·自由基清除力分析	63	4.3.2.3 超氧陰離子清除率分析	64	4.3.3 生理活性綜合討論	45	4.4 羅漢果茶官能品評	68	5. 結論	72	參考文獻	74	附錄	79	圖目錄	圖1 羅漢果	3	圖2 羅漢果乾果	3	圖3 6種類化合物的化學結構	6	圖4 市售羅漢果產品	9	圖5 試驗流程圖	27	圖6 微波輔助萃取羅漢果-不同濃度乙醇對羅漢果糖苷產率的影響	29	圖7 羅漢果之微波50%乙醇萃取HPLC分析圖	30	圖8 微波輔助萃取羅漢果-溫度對羅漢果糖苷產率的影響	32	圖9 羅漢果之微波80℃萃取HPLC分析圖	33	圖10 微波輔助萃取羅漢果-時間對羅漢果糖苷產率的影響	35	圖11 羅漢果之微波11分鐘萃取HPLC分析圖	36	圖12 微波輔助萃取羅漢果-固液比對羅漢果糖苷產率的影響	38	圖13 羅漢果之微波固液比1：35萃取HPLC分析圖	39	圖14 微波輔助萃取羅漢果糖苷產率之SN效應圖	43	圖15 羅漢果之微波最適條件萃取HPLC分析圖	44	圖16 超音波輔助萃取羅漢果-時間對羅漢果糖苷產率的影響	46	圖17 羅漢果之超音波50分鐘萃取HPLC分析圖	47	圖18 超音波輔助萃取羅漢果-溫度對羅漢果糖苷產率的影響	49	圖19 羅漢果之超音波40℃萃取HPLC分析圖	50	圖20 超音波輔助萃取羅漢果-固液比對羅漢果糖苷產率的影響	52	圖21 羅漢果之超音波固液比1：30萃取HPLC分析圖	53	圖22 超音波輔助萃取羅漢果糖苷產率之SN效應圖	57	圖23 羅漢果之超音波最適條件萃取HPLC分析圖	58	表目錄	表1 微波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交表各因子及參數範圍	41	表2 微波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交實驗設計表及試驗數據	42	表3 微波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交表的訊號與雜訊(S/N)比值	43	表4 超音波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交表各因子及參數範圍	55	表5 超音波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交試驗設計表及試驗數據	56	表6 超音波輔助萃取羅漢果糖苷-L9直交表的訊號與雜訊(S/N)	
----	------	-----	------	-----	------	---	----	----	----	-----	-----	----	-----	------	-------	---	---------	---	-----------	---	------------------	---	----------------	---	---------------------	---	---------------	---	--------------	----	--------------	----	---------------	----	------------	----	-------------	----	----------------------------	----	-----------------	----	-------------	----	--------------	----	-----------------	----	-----------------------	----	----------------------	----	---------------------	----	-------------	----	-----------------	----	----------------	----	-------------	----	----------	----	----------	----	------------	----	------------	----	------------	----	----------	----	-------------	----	---------------------	----	--	----	--	----	------------	----	-----------------	----	---------------------	----	----------------------------	----	---------------	----	-----------------------	----	----------------------	----	---------------------	----	----------------	----	------------	----	-------------	----	----------	----	---------------------	----	---------------------	----	---------------------	----	----------------------	----	----------------------	----	----------------------	----	------------	----	-----------------------------	----	-----------------	----	----------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	----------------	----	--------------	----	-------	----	------	----	----	----	-----	--------	---	----------	---	----------------	---	------------	---	----------	----	--------------------------------	----	-------------------------	----	----------------------------	----	-----------------------	----	-----------------------------	----	-------------------------	----	------------------------------	----	----------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------	----	------------------------------	----	--------------------------	----	------------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------------	----	-----------------------------	----	--------------------------	----	--------------------------	----	-----	------------------------------	----	-------------------------------	----	-----------------------------------	----	-------------------------------	----	--------------------------------	----	----------------------------------	--

比值57 表7 羅漢果萃取濃縮液對  $\alpha$ -Glucosidase 的抑制率60 表8 羅漢果萃取濃縮液的DPPH自由基清除力62 表9 羅漢果萃取濃縮液的OH $\cdot$  自由基清除力63 表10 羅漢果萃取濃縮液的超氧陰離子清除力64 表11 55%羅漢果? 生理活性分析試驗65 表12 不同天然物生理活性比較67 表13 不同天然物DPPH清除力比較67 表14 羅漢果薄荷配方官能品評69 表15 羅漢果烏梅配方官能品評70 表16 不同羅漢果茶配方官能品評71

## 參考文獻

- 1.元英進,劉明言,董岸杰。2002。中藥現代化生產關鍵技術。化學工業出版社 6:P114-117。
- 2.王承中。2011。微波輔助及超音波輔助萃取千層塔中石杉鹼甲之最佳條件探討及萃取液活性成份分析。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 3.王勤,肖剛。2007。羅漢果甜?對大鼠慢性肝損傷保護作用的實驗研究。廣西中醫藥。30(5):54-56。
- 4.王艷,張鐵軍。2005。微波萃取技術在中藥有效成分提取中的應用。中草藥學誌 3(36):470-473。
- 5.白雪蓮,章華偉。2005。微波萃取技術及在食品化學中的應用。食品工業科技雜誌 11(26):182-185。
- 6.宋陽成。2008。羅漢果甜?的提取、提純及應用的研究。東北師範大學物理化學系碩士論文。
- 7.李典鵬,張厚瑞。2000。廣西特產植物羅漢果的研究與應用。廣西植物。20(3):270-276。
- 8.李典鵬,黃永林,劉金磊,潘爭紅。2006。HPLC法測定羅漢果中羅漢果? E、?的含量。天然產物研究與開發。18:850-853。
- 9.李核,李玫科,張展霞。2003。微波輔助萃取術的進展。分析化學評述與進展。31(10):1261-1268。制糖?酵素活性。靜宜大學食品營養學系碩士論文。
- 10.周欣欣。2003。羅漢果的化學成分及其開發應用。中醫藥學刊。21(9):1482-1483。
- 11.林佳蓉。2007。狼尾草抗氧化及其護肝作用之研究。嘉南藥理科技大學生物科技系碩士論文。
- 12.林建谷。2008。綠藻萃取物與細胞壁組成之分離、鑑定、與抑 13.林碩,高學玲,岳鵬翔。2007。羅漢果有效成分提取的研究進展。中國食品添加劑。77-81。波輔助提取羅漢果皂?的研究。食品科學。24(2):92-95。
- 14.袁珂,俞莉。2006。超聲提取與微波萃取冬凌草甲素的工藝比較。中國中藥雜誌 9(31):778-779。
- 15.張玉萍。2006。越橘的保健作用及其在我國的開發利用前景。山西農業科學。34(4):22~25。
- 16.張俐勤,戚向陽,陳維軍,宋雲飛。2006。羅漢果皂?提取物對糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影響。中國藥理學通報。22(2):237-240。
- 17.張英,俞卓裕,吳曉琴。2004。中草藥和天然植物有效成分提取新技術-微波協助萃取。中國中藥雜誌 29(2):104-108。
- 18.張雁冰,王克讓,劉宏民。2006。馬桑葉中總三?酸的含量測定。時珍國醫國藥17(4):529-530。
- 19.許朝凱。2007。國內外保健食品管理制度概況。食品生技。11:22~27。
- 20.陳俞臻。2011。雲芝LH-1的皂?分離純化與活性成份研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 21.單文軍,郭芳齡,王科軍,徐建平。2006。微波技術在天然產物生物活性成份提取中的應用研究。江西化工(4):46-49。
- 22.馮年平,范廣平,吳春蘭,韓朝陽。2002。微波萃取技術在中藥提取中的應用。世界科學技術-中藥現代化 2(4):49-52。
- 23.黃健政。2007。油/水乳化系統中多酚化合物對兩價鐵離子的螯合作用與抗氧化能力的表現。國科會研究成果報告。
- 24.黃燕葵。2002。新一類糖尿病治療藥物:Rosiglitazone。成醫藥誌。12(5)。
- 25.趙二勞,趙麗婷,李滿秀。2006。羅漢果的保健功能及產品開發。食品研究與開發。27(3):125-126。
- 26.劉婷,王旭華,李春,張毅,武桂蘭,李東成,李春英。2007。羅漢果皂?的鎮咳、祛痰及解痙作用研究。中國醫學雜誌。42(20):1534-1537。
- 27.蔡碧蓮。2011。微波輔助萃取法對桑黃活性成份之萃取與分析研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 28.黎海彬,王崑,白先放,郭?江,李琳。微波輻射對羅漢果提取物中活性成分的影響。精細化工。2006。3(23)。
- 29.黎海彬,王崑,李俊芳,李小梅。2006。羅漢果的化學成分與應用研究。食品研究與開發。27(2):85-87。
- 30.黎海彬,李琳,胡松青,楊曉泉,郭祀遠,蔡妙顏。2003。微 31.黎海彬。2008。羅漢果有效成分提取工藝的研究。廣州城市職業學院學報。1(2):21-26。
- 32.盧鳳來,劉金磊,黃永林,李典鵬。2008。高效液相色法同時測定羅漢果中的六種葫蘆烷三?類皂?。色譜。26(4):504-508。
- 33.賴建福。2011。四種台灣產筋骨草活性成份含量及其抗氧化能力之分析比較。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
- 34.謝明勇,陳奕。2006。微波輔助萃取技術研究進展。食品與生物技術學報。25(1):105-112。
- 35.謝振傳,但德忠,趙燕,周娜。2005。超聲波輔助萃取技術在樣品預處理中的應用。四川大學環境科學與工程系。化學通報 68:1-11。
- 36.譙斌宗,楊元,高玲。2002。微波萃取在衛生檢驗中的應用。中國後生檢驗雜誌。12(5):632-634。
- 37.蘇小建,徐慶一,梁榮感,唐祖年,韋玉先。2005。羅漢果甜?的毒性作用研究。食品科學。3(26):221-224。
- 38.蘇?群,陳再智。2003。羅漢果的藥理及其應用研究。中藥材。10(26):771-772。
39. Bernard F. Gibbs, Intez Alii. 1998. Characterization of purified  $\alpha$ -amylase in-hibitor from white kidney beans(*Phaseolus vulgaris*). Food Research International. 3(31):217~225。
40. Blosi, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. 41. Chenni, A., Ait Yahia, D., Boukortt, F. O., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A. and Bouchenak, M. 2007. Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol die. Journal of Ethnopharmacology 109(2):207-213.
42. Fishman, M. L., Chau, H. K., Hoagland, P. D. and Hotchkiss, A. T. 2006. Micro-wave-assisted extraction of lime pectin. Food Hydrocolloids 20:1170-1177.
43. Fulzele, D. P. and Satdive, R. K. 2005. Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. Journal of Chromatography A 1063:9-13.
44. Akaki J., Matsui Y., Kojima H., Nakajima S., Kamei K., Tamesada M.. 2009. Structural analysis of monocyte activation constituents in cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*. Fitoterapia. 80:182~187.
45. Li D.P., Zhang H.R.. 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo – a special local product of Guangxi. Guihaia. 20(3):270-276.
46. Pan X., Liu H., Jia G., Shu Y. Y.. 2000. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. Biochemical Engineering Journal 5:173-177.
47. Ting Li, Jianwen Liu, Xiaodong Zhang, Guang Ji. 2007. Antidiabetic activity of lipophilic (-)-epigallocatechin-3-gallate derivative under its role of  $\alpha$ -glucosidase inhibition. 48. Rehman Z.U., Salariya A.M., Zafar S.I.. 2001. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chemistry. 73:351~355.
49. Angelika Schaffer, Petra Hoegger. 2007. Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol?) effectively inhibit  $\alpha$ -glucosidase. Diabetes Research and Clinical Practice. 77(2007):41-46.
50. Hong Gao, Yi-Na Huang, Pei-Yu Xu, Jun Kawabata. 2007. Inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. Food Chemistry. 105(2007):628-634.
51. Nilubon

Jong-Anurakkun, Megh Raj Bhandari, Jun Kawabata. 2007.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from Devil tree(*Alstonia scholaris*). *Food Chemistry*. 103(2007):1319-1323. 52. Yasushi A. Suzuki, Yuji Murata, Hiroshi Inui, Masaki Sugiura, and Yoshihisa Nakano. 2005. Triterpene Glycosides of *Siraitia grosvenori* Inhibit Rat Intestinal Maltase and Suppress the Rise in Blood Glucose Level after a Single Oral Administration of Maltose in Rats. *Food Chemistry*. 53:2941-2946. 53. Yasushi A. Suzuki, Mayuko Tomoda, Yuji Murata, Hiroshi Inui, Masaki Sugiura and Yoshihisa Nakano. 2007. Antidiabetic effect of long-term supplementation with *Siraitia grosvenoi* on the spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rat. *British Journal of Nutrition*. 97(2007):770-775.