

# Study on extraction of active components and functional biological activities in momordica grosvenorii swingle

陳建宏、楊博文

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

## ABSTRACT

Momordica grosvenorii Swingle, a traditional Chinese fruit, belongs to Cucurbitaceae species. In modern pharmacological studies showed that has been used as folk medicine for sore throats, cough, anti-diabetic and minor stomach and intestinal troubles. The Mogroside of cucurbitane triterpene glycosides is the main source of sweetness, it has 300 times sweetness than sucrose. The Mogroside has high sweetness, low calorie, water solubility, food safety and other functional activities. They are able to be used as food additives, especially as a sugar substitute in diabetic patients. In this study, the Mogroside was extracted and analysis with high-performance liquid chromatography(HPLC) for the qualitative and quantitative analysis. Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction were studied for extraction. The optimization extraction conditions were orthogonal array to explore the effect of different time, temperature, liquid/solid ratio and solvent on yield of mogroside. The extracts were evaluated  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antioxidant activities. The optimization conditions of microwave-assisted extraction were 50%EtOH、9min、80℃、1:30, and ultrasound-assisted extraction were 50min、50℃、1:30. The IC<sub>50</sub>(Concentration of 50% Inhibition) of  $\alpha$ -glucosidase was 4.02 mg/mL(solid content). The EC<sub>50</sub>(Concentration of 50% Effect) of antioxidant on DPPH, OH free radical, SOD were 0.82、0.81、13.28 mg/mL. The score of sensory result of most favorite was Momordica grosvenorii mint formula (Momordica grosvenorii 25.0g、mint 7.5g、water 1 mL).

Keywords : Momordica grosvenorii Swingle、Mogroside、 $\alpha$ -Glucosidase、Microwave-Assisted Extraction、Anti-oxidation

## Table of Contents

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 $\alpha$ -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? 分析	23	3.2.3.2 羅漢果? 標準曲線建立	24	3.2.4 $\alpha$ -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? 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? 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 $\alpha$ -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? 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? 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? 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? 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? 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? 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? 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? 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? 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? -L9直交表各因子及參數範圍	41	表2 微波輔助萃取羅漢果? -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? -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? -L9直交表各因子及參數	55	表5	55
----	----	----	-----	------	-----	------	---	----	----	----	-----	-----	----	-----	------	-------	---	---------	---	-----------	---	------------------	---	----------------	---	---------------------	---	---------------	---	--------------	----	--------------	----	---------------	----	------------	----	-------------	----	-------------------------------------	----	-----------------	----	-------------	----	--------------	----	-----------------	----	-----------------------	----	----------------------	----	---------------------	----	-------------	----	-----------------	----	----------------	----	-------------	----	----------	----	----------	----	------------	----	------------	----	------------	----	----------	----	-------------	----	---------------------	----	--	----	--	----	------------	----	-----------------	----	---------------------	----	------------------------------------	----	---------------	----	-----------------------	----	----------------------	----	---------------------	----	----------------	----	------------	----	-------------	----	----------	----	---------------------	----	---------------------	----	---------------------	----	----------------------	----	----------------------	----	----------------------	----	------------	----	-------------------------------------	----	-----------------	----	----------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	----------------	----	--------------	----	-------	----	------	----	----	----	-----	--------	---	----------	---	-----------------	---	------------	---	----------	----	--------------------------------	----	-------------------------	----	----------------------------	----	-----------------------	----	-----------------------------	----	-------------------------	----	------------------------------	----	----------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------	----	------------------------------	----	--------------------------	----	------------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------------	----	-----------------------------	----	--------------------------	----	--------------------------	----	-----	------------------------------	----	-------------------------------	----	-----------------------------------	----	-----------------------------	----	----	----

超音波輔助萃取羅漢果? - 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? - 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 -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· 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

## REFERENCES

- 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干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.黃燕菜。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胡蘆烷三?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, Intezar Alli. 1998. Characterization of purified  $\alpha$ -amylase inhibitor 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., Boukourt, F. O., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A. and Bouchenak, M. 2007. Effect of aqueous extract of *Ajuga reptans* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. 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 Högger. 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 grosvenori* on the spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rat. *British Journal of Nutrition*. 97(2007):770-775.