

# 龍眼核萃取物之抗氧化活性分析

楊敦傑、

E-mail: 387186@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

本研究以熱迴流方式，將新鮮龍眼核與曬乾龍眼核利用不同溶劑(水、甲醇、50%乙醇、乙酸乙酯)進行萃取，探討不同溶劑對萃取物的抗氧化能力之影響。主要試驗包括：(1)抗氧化成分之含量分析：總多酚類與類黃酮含量測定；(2)抗氧化活性分析：DPPH自由基的清除能力、亞鐵離子螯合能力、還原力、清除超氧陰離子能力及清除ABTS陽離子能力，並與標準品BHA、EDTA-Na及沒食子酸之抗氧化能力做比較，評估龍眼核萃取物之抗氧化活性。就總多酚試驗而言，50%乙醇萃取新鮮龍眼核有最高的含量，達到98.2 mg/g，但乙酸乙酯萃取之含量最低只有5.8 mg/g，曬乾組試驗裡，50%乙醇萃取物與乙酸乙酯萃取物含量最高，分別達87.9 mg/g與89.0 mg/g；總類黃酮試驗裡，新鮮組與曬乾組都以乙酸乙酯萃取物含量最高，分別為16.3與51.7 mg/g。實驗結果顯示，新鮮龍眼核以50%乙醇萃取之萃取率為最高，可達12.9%，而曬乾龍眼核也是以50%乙醇萃取之萃取率為最高，可達14.8%；抗氧化活性方面，新鮮組裡，乙酸乙酯萃取物在濃度1.0 mg/mL時，清除DPPH自由基能力已達99%；乙酸乙酯萃取物於濃度2.0 mg/mL有最高螯合能力表現，達84.9%；在清除ABTS自由基能力方面，乙醇萃取物在濃度0.1 mg/mL時，達95.0%；乙醇萃取物於濃度2 mg/mL時，相對還原力與標準品比較，達到110.8%。曬乾組裡，50%乙醇萃取物在濃度0.5 mg/mL時，DPPH自由基清除能力已達95%；水萃取物濃度於1.0 mg/mL時有最高螯合能力表現，達85.2%；50%乙醇萃取物在濃度0.1 mg/mL，清除ABTS自由基能力達53.0%，比標準品還高；50%乙醇萃取物於濃度2.0 mg/mL時，相對還原力比標準品高，達到108.5%。綜合研究結果顯示，整體而言，曬乾龍眼核效果明顯較佳，其中又以50%乙醇萃取物之效果最好，此結果將可做為機能性食品開發之參考。

關鍵詞：龍眼核、熱迴流萃取、總多酚化合物測定、類黃酮含量測定、抗氧化能力

## 目錄

封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 v 誌謝 vii 圖目錄 xi 表目錄 xiii 1.緒論 1 2.文獻回顧 3 2.1無患子科植物 3 2.1.1台灣的無患子科植物 3 2.1.2無患子屬植物的特徵 3 2.2龍眼 5 2.2.1龍眼介紹 5 2.2.2龍眼的性狀 5 2.2.3龍眼的品種 7 2.2.4龍眼核之研究 8 2.3 自由基之介紹 12 2.3.1自由基 12 2.3.2種類 13 2.3.3體內自由基來源 15 2.4 抗氧化劑 16 2.4.1天然抗氧化劑 16 2.4.2人工合成抗氧化劑 19 2.5抑制微生物試驗 22 3.材料與方法 23 3.1實驗材料 23 3.2試驗之材料 23 3.2.1 藥品 23 3.2.2 儀器 25 3.2.3 實驗菌體 26 3.3 實驗方法 26 3.3.1 實驗架構 26 3.4 萃取物製備 30 3.5 抗氧化成分含量分析 32 3.5.1 總酚化合物 32 3.5.2 類黃酮化合物含量 33 3.6 抗氧化活性試驗 34 3.6.1 螯合亞鐵離子能力試驗 34 3.6.2 清除ABTS 陽離子能力 35 3.6.3 相對還原力(RRP)測定 36 3.6.4 清除DPPH自由基能力 37 3.6.5 清除超氧陰離子試驗 37 3.7 抗氧化效力評估方法 38 3.8 HPLC成分分析 39 3.9 抑制微生物試驗 39 3.9.1 實驗材料 39 3.9.2 實驗方法 39 4. 結果與討論 41 4.1 萃取率 41 4.2 抗氧化成分含量分析 41 4.2.1 總多酚類化合物含量分析 41 4.2.2 類黃酮化合物含量分析 43 4.3 抗氧化能力分析 43 4.3.1 清除DPPH自由基能力 45 4.3.2 螯合亞鐵離子能力 45 4.3.3 清除ABTS陽離子能力 49 4.3.4 還原力 49 4.3.5 清除超氧陰離子能力 53 4.3.6 半數清除濃度 56 4.4 HPLC成分分析 60 4.5 抗菌試驗 65 5. 結論 71 5.1 結論 71 5.2 未來展望 71 參考文獻 73 圖目錄 圖2. 1台灣的無患子科植物樹狀圖 4 圖2. 2 龍眼植物圖 6 圖2. 3 -tocopherol之化學結構 20 圖3. 1 實驗流程圖 28 圖3. 2 抗氧化活性分析 29 圖3. 3 萃取流程 31 圖4. 1 新鮮龍眼核不同溶劑萃取物之清除DPPH自由基能力 46 圖4. 2 曬乾龍眼核不同溶劑萃取物之清除DPPH自由基能力 47 圖4. 3 新鮮龍眼核不同溶劑萃取物之亞鐵離子螯合能力 48 圖4. 4 曬乾龍眼核不同溶劑萃取物之亞鐵離子螯合能力 50 圖4. 5 新鮮龍眼核萃取物清除ABTS自由基能力 51 圖4.6 曬乾龍眼核萃取物清除ABTS自由基能力 52 圖4. 7 新鮮龍眼核不同溶劑萃取物之三價鐵還原力 54 圖4.8 曬乾龍眼核不同溶劑萃取物之三價鐵還原力 55 圖4. 9 新鮮龍眼核不同溶劑萃取物對清除超氧陰離子能力影響 57 圖4.10 曬乾龍眼核不同溶劑萃取物對清除超氧陰離子能力影響 58 圖4. 11 沒食子酸之HPLC層析圖 61 圖4. 12 新鮮組龍眼核四種萃取物HPLC分析圖 62 圖4. 13 曬乾龍眼核四種萃取物HPLC分析圖 64 圖4. 14 抑菌圈示意圖 67 圖4. 15 不同溶劑萃取龍眼核之抑制枯草桿菌 68 圖4. 16 不同溶劑萃取龍眼核之抑制金黃色葡萄球菌 69 圖4. 17 不同溶劑萃取龍眼核之抑制大腸桿菌 70 表目錄 表 2.1 龍眼核的主要營養成分 9 表 2.2 龍眼核礦物質的含量 10 表 2.3 類黃酮的抗氧化特性 21 表 3. 1 實驗採用微生物 27 表 4. 1 不同溶劑萃取龍眼核之萃取率 42 表 4. 2 不同溶劑萃取龍眼核之總多酚類和類黃酮類化合物含量 44 表 4. 3 IC50不同溶劑萃取龍眼核之半抑制濃度 59

## 參考文獻

1.李沐勳和李威。2001。常用中草藥手冊。第132頁。國立中國醫藥研究所。台中。 2.肖更生、黃儒強、曾慶孝、陳衛東、劉學銘及芮

漢明。2004。龍眼核的營養成分。食品科技。3。沈宜蓁。2005。龍眼花萃取物抗氧化性之探討。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。4。洪景陽。2003。藥用蔬果的療效與禁忌。第202-203頁。活泉書坊。台北縣。5。洪景陽。2008。養生中草藥食用百科。286。活泉書坊。台北縣。6。姜淑繡。2001。省產蘿蔔之抗氧化性研究。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化。7。高馥君和李敏雄。1998。食品保存與氧化劑。食品工業30(12):17-24。8。陳淑茹。2003。石蓮萃取物之抗氧化活性及抗致突變性研究。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中。9。陳弘明。2011。天麻萃取物之抗氧化活性與抗發炎活性分析。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。10。秦玲。1988。龍眼單寧成分研究。台北醫學院藥學研究所碩士論文。台北。11。莊鼎彬。2011。彩葉草萃取物之抗氧化能力與細胞試驗。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。12。劉易修。2008。康復力與夜交藤之抗氧化活性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。13。蔡瑞齡。2009。彩葉草之抗氧化活性及成分分析。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。14。顧奎琴 主編。2002。藥膳常用藥物與食物指南。第126頁。薪傳出版社。台北市。15。蘇苑菱。2007。八種藥用植物之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。16。蘇鵬翰。2011。何首烏脂抗微生物與抗氧化活性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。17。顏昌瑞。1994。認識高品質台灣水果。69-72。團法人豐年社。台北。18。台灣植物資訊整合查詢系統。2012。國立台灣大學植物標本館。<http://tai2.ntu.edu.tw/specimen/specimen.php?taiid=067796>。2013, 09。19。Arnao, M. B., A Cano and M. Acosta, 2001, The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73: 239-244. 20. Aruoma O. I. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food and Chemical Toxicology, 32: 671-683. 21. Aruoma, O. I. 1999. Antioxidant actions of plant foods: use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. Free Radical Research, 30:419-27. 22. Aruoma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of the American Oil Chemists Society, 75:119-213. 23. Benzie, I. F. and J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of " antioxidant power " : the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239:70-76. 24. Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of BHA and BHT. Journal of the American Oil Chemists' Society, 52:59-65. 25. Bonoli, M., V. Verardo, E. Marconi, and M. F. Caboni. 2004. Antioxidant-phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52:5192-5200. 26. Beyer RE. 1994. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 26: 349-358. 27. Bray, H. G., and Thorpe, W.V. 1954. Analysis of phenolic compounds of interest in metabolism. Methods of Biochemical Analysis, 1:27-52. 28. Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques V., Thierry, D., Cladue, B., Michel, L., Micheline, C., Jean-Cluade, C., Francois, B. and Francis, T. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. Journal of Ethnopharmacology, 72: 35-42. 29. Cheng, J. T., Lin, T. C., and Hsu, F.L. 1995. Antihypertensive effect of corilagin in the rat. Canadian journal of physiology and pharmacology, 73: 1425-29. 30. Cohen, L. A. 2002. A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention. Experimental Biology and Medicine, 227(10): 864-868. 31. Diplock, A. T., Charleux, J. L., Crozier, W. G., Jok, F. J., Rice, E. C., Roberfroid, M., Stahl, W. and Vina, R. J. 1998. Functional food science and defense against reactive oxidative species. The British Journal of Nutrition, 80: S77-S112. 32. Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., and Jiang, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research, 23: 1719-26. 33. Hsu, F. L., Lu, F.H., and Cheng, J. T. 1994. Influence of acetylgeraniin, a hydrolysable tannin from *Euphoria longana*, on orthostatic hypotension in a rat model. Planta Medica, 60: 297-300. 34. Hollman, P. C. H., Van-Trijp, J. M. P., and Buysman, M. N. C. P. 1996. Fluorescence detection of flavonols in HPLC by postcolumn chelation with Aluminum. Analytical Chemistry, 68(19):3511-3515. 35. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O. I. 1987. The deoxyribose method: A simple " test-tube " assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Analytical Biochemistry, 165:215-219. 36. Imaida, K., Fukushima, S., Shivai, T., Ohtsani, M., Nakanishi, K. and Ito, N. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-Stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of r-glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rat. Carcinogenesis, 4:885-889. 37. James, L. G., and Sareen, S. G. 2000. Advanced nutrition and human metabolism. 3rd edition. Wadsworth, USA. 38. Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L. A. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. Lipids, 31: 671-701. 39. Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry, 27: 269-278. 40. Liebler, D. C. 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. Ann. New York. Acad. Sci. 691:20-31. 41. Lai, L. S., Chou, S. T. and Chao, W. W. 2001. Studies on the antioxidative activity of Hsian-tsoa (*Mesona procumbens* Hemsl.) leaf gum. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 963-968. 42. Marnett, L. J., and Burcham, P. C. 1993. Endogenous DNA adducts: potential and paradox. Chemical Research in Toxicology, 6: 771-785. 43. Moskovitz, J, Yim, M.B. and Chock, P. B. 2002. Free radicals and disease. Archives of Biochemistry and Biophysics, 397(2): 354-359. 44. Makris, D. P., E. Psarra, S. Kallithraka and P. Kefalas, 2003. The effect of polyphenolic composition as related to antioxidant capacity in white wines. Food Research International, 36: 805-814. 45. Miller, N. J. and Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. Food Chemistry, 60:331-337. 46. Namiki, M. 1990. Antioxidants/ Antimutagens in foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29: 273-300. 47. Rangkadilok N, Worasuttayangkurn L, Bennett RN, Satayavivad J. 2005. Identification and quantification of polyphenolic compounds in Longan 107 (*Euphoria longana* Lam.) fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1387-1392. 48. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoid and phenolic acids. Free Radical Biology Medicine, 20:933-956. 49. Scandalios, J. G. 2002. The rise of ROS. Trends in Biochemical Sciences, 27(9): 483-486. 50. Scalbert A, Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. The Journal of Nutrition, 130: 2073-2085. 51. Simic, M. G. 1988. Mechanisms of inhibition of free-radical processes in mutagenesis and carcinogenesis. Mutation Research, 202:377-386. 52. Stampfer M, Hennekens C, Manson J, Colditz G, Rosner B, Willett W. 1993. Vitamin E

consumption and the risk of coronary disease in women. *The New England Journal of Medicine*, 328: 1444 – 1449. 53. Toit, R Du., Volsteedt, Y. and Apostolides, Z. 2001. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. *Toxicology*, 166:63-69. 54. Willcox, J. K., S. L. Ash, and G. L. Catignani, 2004. Antioxidants and prevention of Chronic Disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 275-295. 55. Weiss SJ, Klein R, Slivka A, Wei M. 1982. Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation. *The Journal of Clinical Investigation*, 70:598 – 607. 56. Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomas-Barberan FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59: 113-122. 57. Yildirim, A., A. Mavi and A. A. Kara, 2001, Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4083-4089.