

嘉南藥理科技大學補助專題研究計畫成果報告

諾麗(*Morinda citrifolia*)抗氧化活性鑑定

計畫編號：CNIB-91-01

執行期間：91年01月01日至91年12月31日

主持人：葉東柏 (E-mail: idongyeh@mail.chna.edu.tw)

共同主持人：陳師瑩



執行單位：生物科技研究所
保健營養系

中華民國 92 年 2 月 28 日

嘉南藥理科技大學補助專題研究計畫成果報告

Morinda citrifolia 抗氧化活性鑑定

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：91-FH-03

執行期間：91年01月01日至91年12月31日

主持人：葉東柏 教授 嘉南藥理科技大學生物科技所

共同主持人：陳師瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學保健營養系

E-mail: idongyeh@mail.chna.edu.tw

一、中文摘要

故本計劃擬以不同的萃取條件，製備與萃取海巴戟天之葉中有效成分，並參照健康食品管理法之抗氧化機能評估的建議方法，進行活體外試驗 (*in vitro*)，評估海巴戟天之葉抽取物的抗氧化能力與差異。結果顯示 80°C 純水萃取的產物在多數抗氧化能力的測定中，偵測出較強的抗氧化特性，而二氧化碳超臨界萃取 (SFE-CO₂) 的效果未盡理想。

關鍵詞：海巴戟天、二氧化碳超臨界萃取、抗氧化活性評估。

二、緣由、實驗設計與目的

Morinda citrifolia (Rubiaceae) 其俗名為Noni。中文名為海巴戟天，台灣文獻則稱檫樹、水冬瓜、紅珠樹，其他別名還包括蘿梨、四季果、精力果、長壽果等，印度稱為桑椹故又名印度桑椹 (Indian mulberry)。盛產於夏威夷群島、南太平洋群島及法屬玻里尼西亞大溪地，為熱帶植物，亦適合生長在本島南部溫溼地帶，氣溫22°C以上，四季開花結果，台灣的仲夏到季秋為盛產期。由於種植及採收容

易，南部農民對於種植該類植物的興趣亦相當濃厚，目前有七個品種已供應國內外廠商及餐飲業使用。如果海巴戟天經由改進調製或萃取的方法，其生理活性研究分析亦得到科學驗證，不僅材料極具本土性開發價值，適合台灣開發量產，也可以帶動南部生物科技產業的發展。近年來對於海巴戟天相關文獻有增加的趨勢，Shengmin S., 2001 研究顯示由海巴戟天的葉純化出來的物質 (Flavonol glycosides and iridoid glycoside) 具有抗氧化性。而氧化性傷害已成為近年來食品學和生理學研究的重點，醫學上甚至認為許多疾病的發生 (如糖尿病、高血壓與癌症等) 與老化現象是因自由基或活性氧的產生所造成。故本計劃擬以不同的萃取條件，製備與萃取海巴戟天之葉中有效成分，並參照健康食品管理法之抗氧化機能評估的建議方法，進行活體外試驗 (*in vitro*)，評估海巴戟天對於保護生物巨分子的抗氧化能力的特性與差異。

三、實驗材料與方法

研究材料 *Morinda citrifolia*

(Rubiaceae) 係購自南部產地，其葉經烘乾後，由磨粉機輾磨裝瓶，並置入除濕器中冷藏備用。

萃取方法使用下列四種 (1) 二氧化碳超臨界萃取 (SFE-CO₂) (2) 99.5% EtOH (3) 50% EtOH (4) 80°C 純水。抗氧化分析則採用 (1) DPPH 自由基清除能力測定 (2) 氫氧自由基清除能力之測定 (3) Trolox 當量的抗氧化能力 (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) (4) 螯合鐵能力之測定。

四、結果與討論

Morinda citrifolia 葉之各式萃取方法：(1) 二氧化碳超臨界萃取 (SFE-CO₂) (2) 99.5% EtOH (3) 50% EtOH (4) 80°C 純水，所得之產物計七種，分別進行 (1) DPPH 自由基清除能力測定 (2) 氫氧自由基清除能力之測定 (3) Trolox 當量的抗氧化能力 (4) 螯合鐵能力之測定。結果分列於表一至四。在 80°C 純水、50% EtOH 及 99.5% EtOH 所萃取的產物中可以測得 Trolox 當量的抗氧化能力，而各式二氧化碳超臨界萃取的產物皆未分析到 Trolox 當量的抗氧化能力 (表一)。以清除 DPPH 自由基能力作比較，各項產物之清除能力依序為：99.5% EtOH、SFE-CO₂ (1500 psi、50°C) 及 SFE-CO₂ (1500 psi、35°C)，其餘清除 DPPH 自由基能力不相上下 (表二)。在清除氫氧自由基能力方面只有 80°C 純水及 SFE-CO₂ (3500 psi、50°C) 兩種所萃取的產物 (表三)。而 80°C 純水、50% EtOH 及 SFE-CO₂ (3500 psi、35°C) 所萃取的產物中螯合鐵能力最高。綜合來說，80°C 純水萃取的產物在多數抗氧化能力的測定中，偵測出較強的抗氧化特性，而二氧化碳超臨界萃取 (SFE-CO₂) 的效果未盡理想。

四、計劃成果總結

綜觀這些產物的萃取條件，以 80°C 純水萃取的產物中含有較多樣的抗氧化物

特性。然而，不論是水溶性與非水溶性萃取條件，*Morinda citrifolia* 的葉中都含有抗氧化物，且無規律性可言，不過仍以水溶性的抗氧化物居多。而 80°C 純水萃取的產物雖然在多數的測定中，偵測出抗氧化特性，但是其干擾物質也比較高，因此若要從 80°C 純水萃取抗氧化物，可能需要進一步的純化，而純化步驟正可以利用此次純化條件與分析結果。

五、參考文獻

1. Gutteridge J. M. C., and Halliwell B., Antioxidants in nutrition health and disease, 1th edition, Oxford: Oxford University Press, 1994.
2. Hirazumi A. Furusawa E. Chou SC. and Hokama Y. (1994) Anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngeneic mice. Proceedings of the Western Pharmacology Society. 37:145-6.
3. Hirazumi A. Furusawa E. Chou SC. And Hokama Y. (1996) Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *morinda citrifolia* (noni) fruit juice. Proceedings of the Western Pharmacology Society. 39:7-9.
4. Liu G., Bode A., Ma WY., Sang S., Ho CT. and Dong Z. (2001) Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line. Cancer Research. 61(15):5749-56.
5. Sang S., He K., Liu G., Zhu N., Cheng X., Wang M., Zheng Q., Dong Z., Ghai G., Rosen RT. and Ho CT. (2001) A new unusual iridoid with inhibition of activator protein-1 (AP-1) from the leaves of *Morinda citrifolia* L. Organic Letters. 3(9):1307-9.
6. Hirazumi A. and Furusawa E. (1999) An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. Phytotherapy Research.

- 13(5):380-7.
7. Sang S., Cheng X., Zhu N., Stark RE., Badmaev V., Ghai G., Rosen RT. and Ho CT. (2001) Flavonol glycosides and novel iridoid glycoside from the leaves of *Morinda citrifolia*. *J.Agric.& Food Chem.* 49(9):4478-81.
8. 潘懷宗、劉晉魁、周良穎、謝秉甫、李沐勳(1994) 利用超臨界二氧化碳萃取肉桂中精油成分：並與水蒸氣蒸餾法進行比較。 *J. Chin. Med.* 5(3):199-207.
9. 葉東柏、郭建民(1998) 市售罐裝茶飲料中兒茶素類及咖啡因含量之分析。 *藥物與食品分析*, 6:447-454。
10. 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 reaction of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry* 165:215.

表一： *Morinda citrifolia* 葉之 Trolox 當量的抗氧化能力 (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

樣品	萃取條件	Temperature(°C)	TEAC		
			Trolox mmole/ml	樣品濃度 g/ml	TEAC mmole/g
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	35	2.30	0.0355	0.00
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	50	2.52	0.0229	0.00
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	35	2.61	0.0348	0.00
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	50	2.51	0.0185	0.00
Noni 葉	99.5% EtOH	50	4.74	0.0825	287.35
Noni 葉	50%EtOH	50	7.86	0.2357	333.52
Noni 葉	d.d.H ₂ O	80	5.80	0.2143	270.56

表二： *Morinda citrifolia* 葉之 DPPH 自由基清除能力測定

樣品	萃取條件	Temperature(°C)	DPPH		
			供氫能力%	樣品濃度 (g/ml)	相對的供氫能力 (供氫能力%/g/ml)
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	35	25.69	0.0355	723.77
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	50	19.75	0.0229	862.62
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	35	37.01	0.0348	1063.46
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	50	20.66	0.0185	1116.64
Noni 葉	99.5% EtOH	50	84.10	0.0412	2039.34
Noni 葉	50%EtOH	50	89.89	0.1178	762.85
Noni 葉	d.d.H ₂ O	80	92.57	0.1071	864.10

表三：Morinda citrifolia 葉之氫氧自由基清除能力測定

樣品	萃取條件	Temperature(°C)	氫氧自由基		
			氫氧自由基清除能力%	樣品濃度 (g/ml)	氫氧自由基清除能力 (清除能力 %/g/ml)
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	35	-3.37	0.0355	-94.93
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	50	1.00	0.0229	43.86
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	35	-1.22	0.0348	-35.12
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	50	-1.56	0.0185	-84.30
Noni 葉	99.5% EtOH	50	-3.28	0.0825	-39.75
Noni 葉	50%EtOH	50	-40.95	0.2357	-173.76
Noni 葉	d.d.H ₂ O	80	8.84	0.2143	41.23

表四：Morinda citrifolia 葉之螯合鐵能力測定

樣品	萃取條件	Temperature(°C)	螯合鐵		
			螯合鐵能力 %	樣品濃度 (g/ml)	螯合鐵能力 (螯合能力 %/g/ml)
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	35	10.83	0.0355	304.98
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 3500 (psi)	50	-2.15	0.0229	-93.85
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	35	-0.34	0.0348	-9.81
Noni 葉	SFE-CO ₂ ; 1500 (psi)	50	2.25	0.0185	121.36
Noni 葉	99.5% EtOH	50	4.02	0.0825	48.79
Noni 葉	50%EtOH	50	79.79	0.2357	338.53
Noni 葉	d.d.H ₂ O	80	79.17	0.2143	369.47