

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

Morinda citrifolia 之果實萃取物的抗氧化活性評估

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNHN-92-06

執行期間：92年1月1日至92年12月31日

計畫主持人：陳師瑩 助理教授

共同主持人：

計畫參與人員：

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

中華民國 92 年 02 月 25 日

Morinda citrifolia 之果實萃取物的抗氧化活性評估

ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF EXTRACTS FROM FRUITS OF NONI (*MORINDA CITRIFOLIA*)

計畫編號：CNHN-92-06

執行期間：92年01月01日至92年12月31日

計畫主持人：陳師瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學保健營養系

一、中、英文摘要

Morinda citrifolia (Rubiaceae) 其俗名為 Noni。本實驗以 80°C 熱水、50 % 與 99.5% 酒精、乙酸乙酯及超臨界二氧化碳 (SFE-CO₂) 等萃取條件，對海巴戟天之果實進行成分萃取，共得 8 種萃取物；依 Trolox 當量的抗氧化能力、清除 DPPH 自由基能力、清除超氧陰離子能力、清除氫氧自由基能力、清除過氧化氫能力以及螯合鐵能力等方法，進行抗氧化成分的分析，並將這些樣品進行總酚類含量測定，用以了解其抗氧化物質與總酚類含量之間的關係，結果顯示(a) 乙酸乙酯所萃取的果實，其抗氧化能力與總酚類物質可能有關；(b) 以 50% 酒精萃取的海巴戟天之果實比其他萃取方式具有較佳的總抗氧化能力 (TEAC) 與 DPPH 自由基供氫能力，並且抗氧化的特性較具多樣化，如具有顯著的清除氫氧自由基以及螯合鐵的能力，值得作為進一步純化抗氧化物質的方法。然而整體而言，海巴戟天之果實萃取物的抗氧化活性，皆比標準品差。

關鍵詞：海巴戟天，諾麗，抗氧化活性，超臨界二氧化碳萃取。

Abstract

This study was conducted to evaluate the antioxidative activity of extracts from fruits of Noni (*Morinda citrifolia*). Hot (80°C) water, 50 % aqueous or absolute ethanol, ethyl acetate and supercritical fluid carbon dioxide (SF-CO₂)

were used as solvents to extract the effective components from fruits of Noni. The antioxidative activity of extracts was measured by Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, the scavenging ability of reactive oxygen species (superoxide ion, hydroxyl radical and hydrogen peroxides) and the chelating activity on ferrous ions. The amount of total phenols was also determined in the various extracts. Our findings indicate the following: (a) the antioxidant efficiency of the extract of ethyl acetate may be attributed to its phenolic content; and (b) the 50 % aqueous ethanol extract was exhibited various antioxidative activity, for example, showed higher TEAC, DPPH assay, the scavenging ability of hydroxyl radical and the chelating activity on ferrous ions. The 50 % aqueous ethanol extraction is preferably used as a method in the extraction of antioxidant. However, Noni fruits showed not the best antioxidative activities compared to standard.

Keywords: *Morinda citrifolia*, Noni, antioxidative activity, supercritical carbon dioxide extraction

二、前言

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、印度、薩摩亞群島。植物型態為常綠小喬木，樹幹上方枝條具有四稜角，全株平滑無毛；葉具短柄、對生，形狀為橢圓形或長橢圓形，兩端均銳；果實為漿質聚合果，由擴大而合生的花萼組成，形狀為球形、長瓜形或三稜形，果實內子核多達 300 多個不等。為熱帶植物，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，適合台灣種植與開發量產，也可以帶動南部生物科技產業的發展。

三、研究目的與文獻探討

依據民間傳統療法的資料顯示⁽¹⁾，海巴戟天的花、果、葉、莖、樹皮、根皆可調製，可分開或合併飲用，相傳各部位具有百種以上醫療保健功效，當中包括糖尿病、高血壓與癌症的預防及治療效果，事實上，食用或飲用海巴戟天的相關產品已在南台灣掀起一股風潮，然而對於支持海巴戟天之民間傳統療法的科學證據或有關生物活性的研究文獻，卻顯得薄弱與不足，這種現象對於消費者來說相當沒有保障，值得有關單位重視。最近 Sang, S., 2001⁽²⁾ 研究發現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；Zin, ZM., 2002⁽³⁾ 研究顯示以甲醇萃取的根，抗氧

化活性較高，若再利用分液漏斗，由乙酸乙酯-水-甲醇進行葉、果實與根的液液相分割，其乙酸乙酯部分的成分皆有抗氧化活性。本實驗的研究方向乃基於海巴戟天的抗氧化特質，擬以熱水、酒精、乙酸乙酯及超臨界二氧化碳萃取等四種方法，製備及萃取海巴戟天之果實，評估不同萃取方式對海巴戟天之果實中抗氧化物質的影響。

四、研究方法

(一) 海巴戟天之果實的製備與萃取：

研究材料海巴戟天 (台灣 2 號) 係購自南部農產地，其果實經烘乾後，由磨粉機輾磨 (mesh 12) 裝瓶，並置入除濕器中冷藏備用。利用超臨界二氧化碳 (Supercritical Fluid Extraction; SFE-CO₂)⁽⁴⁾ 及乙酸乙酯能有效萃取樣品油溶性物質的能力，與熱水對水溶性物質及酒精對醇溶性物質萃取能力佳的特性等四種方法，進行萃取海巴戟天之果實內抗氧化性物質。超臨界二氧化碳萃取 (Zaar Tech., Inc)，考慮到高壓萃取方式會在大量製備時，提高生產成本，不符開發價值，故僅採用以下四種不同的壓力及溫度條件：(I) 1500 psi, 35°C；(II) 1500 psi, 50°C；(III) 3500 psi, 35°C；(IV) 3500 psi, 50°C，藉以改變萃取物質對二氧化碳的溶解度與萃取效率，萃取時間定為 5 小時，CO₂ 流速為 3 mL/min，萃取樣品每次約重 12 公克⁽⁴⁾。另一方面，取相同重量的樣品利用熱水 (80°C)、50% 酒精、95% 酒精及乙酸乙酯來進行萃取海巴戟天之果實的萃取；綜合上述方法共得 8 項不同萃取方式的海巴戟天樣品。

(二) 進行活體外 (*in vitro*) 抗氧化機能性評估⁽⁵⁻⁷⁾。

1. Trolox 當量的總抗氧化能力測定 (TEAC)

2. 清除自由基、活性氧及螯合鐵能力之測定：

清除 α · α -diphenyl- β -picrylhydrazyl 自由基 (DPPH[•])、氫氧自由基 ([•]OH)、超氧陰離子(O₂^{•-})、過氧化氫 (H₂O₂)及螯合金屬離子能力；可作為海巴戟天中抗氧化物質之抗氧化機制比較。

(三) 總酚類化合物測定：以 gallic acid 為標準品，樣品加入 0.5 mL Folin-Ciocalteu phenol reagent，再加入 3 mL 20% Na₂CO₃ 溶液，於室溫下反應 15 分鐘後加入 5 mL 去離子水後混勻，以 1,250×g 離心 5 分鐘，再以 725 nm 測其吸光值並計算總酚類含量。

四、結果與討論

該計劃中係利用 80°C 熱水、50 % 與 99.5% 酒精、乙酸乙酯及超臨界二氧化碳 (Supercritical Fluid Extraction; SFE-CO₂) 等萃取條件，對海巴戟天之果實進行成分萃取，共得 8 種萃取物；依 Trolox 當量的抗氧化能力、清除 DPPH 自由基能力、清除超氧陰離子能力、清除氫氧自由基能力、清除過氧化氫能力以及螯合鐵能力等方法，進行 *in vitro* 抗氧化活性的評估，並將這些樣品進行總酚類含量測定，用以了解其抗氧化物質與總酚類含量之間的關係，結果如圖一至七所示。

1. 比較 TEAC 法分析抗氧化活性的結果，顯示以 **50% EtOH** 及 SFE-CO₂ 3500 psi, 35 °C 萃取的方法，具有最佳的抗氧化能力 (圖一)。

2. 以 SFE-CO₂ 1500 psi, 35°C 及 SFE-CO₂ 3500 psi, 50°C 所萃取的果實，具有最佳的清除 H₂O₂ 的能力，但皆比維生素 C 差。(圖二)。

3. 以 **50% EtOH** 及 **乙酸乙酯** 所萃取的方法具有最佳的清除 O₂^{•-} 的能力 (圖三)。

4. 以清除 DPPH 自由基的能力作比較，結果顯示以 **50% EtOH** 及 SFE-CO₂ 3500 psi, 35°C 萃取的方法具有最佳的抗氧化能力 (圖四)，但皆比維生素 C 差。

5. 以 99.5% EtOH 及 **50% EtOH** 萃取的果實，具有最佳的清除氫氧自由基的能力，但皆比維生素 C 差。(圖五)。

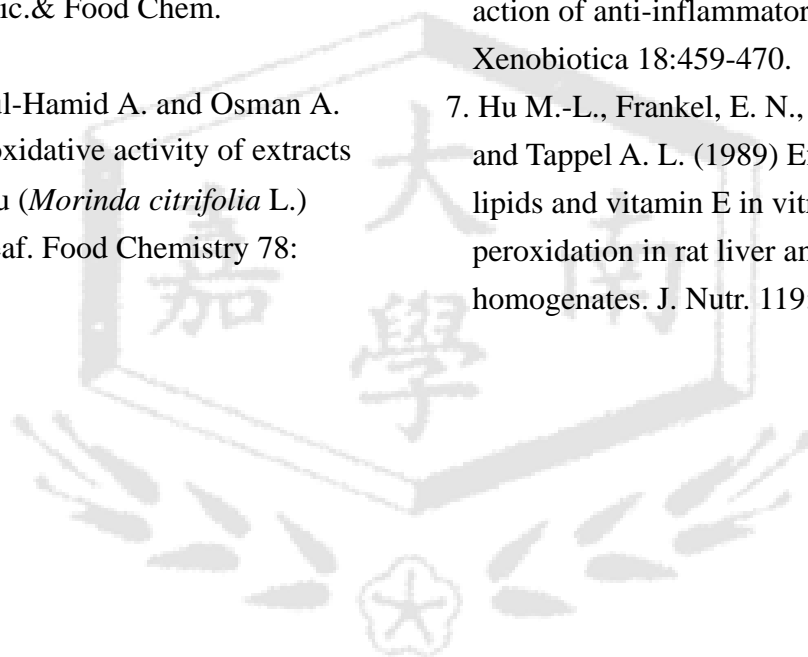
6. 以 **50% EtOH** 與 **乙酸乙酯** 所萃取的果實，螯合鐵能力顯著最高 (圖六)。

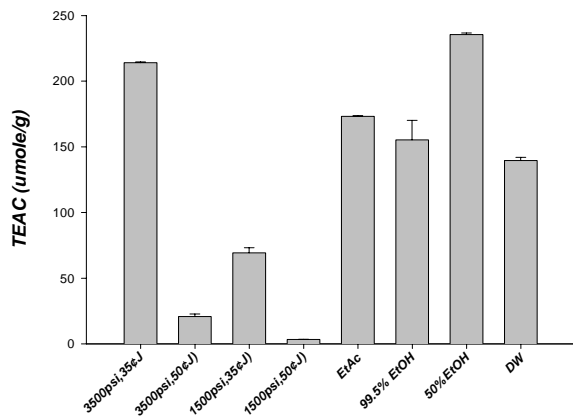
7. 乙酸乙酯所萃取的果實，所含總酚類含量最高 (圖七)；然而以乙酸乙酯所萃取的樣品中只以清除 O₂^{•-} 的能力，以及螯合鐵能力較顯著，顯示其抗氧化能力與總酚類物質可能有關，但其他抗氧化能力則與總酚類物質的相關性不高。

8. 綜合來說，以 50% 酒精萃取的海巴戟天之新鮮果實比其他萃取方式具有較佳的總抗氧化能力 (TEAC) 與 DPPH 自由基供氫能力，並且抗氧化的特性較具多樣化，如具有顯著的清除氫氧自由基以及螯合鐵的能力，值得作為進一步純化抗氧化物質的材料來源。

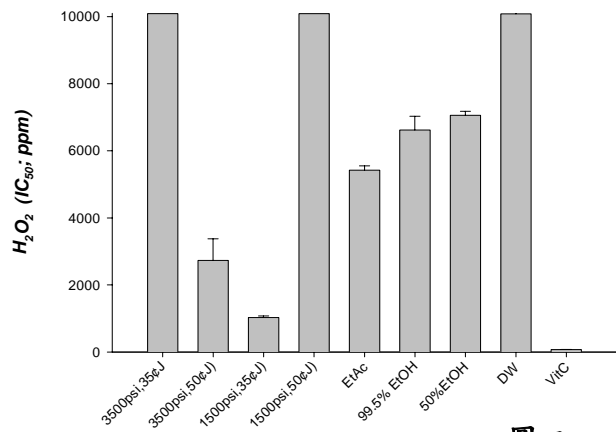
六、參考文獻

1. Wong Mian-Ying, Brett J West, C Jarakae Jensen, Diane Nowicki, Su Chen, Afa K Palu, Gery Anderson. (2002) *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*. 23(12):1127-1141.
2. 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.
3. Zin ZM., Abdul-Hamid A. and Osman A. (2002) Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Food Chemistry* 78: 227-231.
4. 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 11. 水蒸氣蒸餾法進行比較。 *J. Chin. Med.* 5(3):199-207.
5. 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.
6. Aruoma O. I. and Halliwell B. (1988) The iron-binding and hydroxyl radical scavenging action of anti-inflammatory drugs. *Xenobiotica* 18:459-470.
7. Hu M.-L., Frankel, E. N., Leibovitz, B. E. and Tappel A. L. (1989) Effect of dietary lipids and vitamin E in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J. Nutr.* 119:1574-1582.

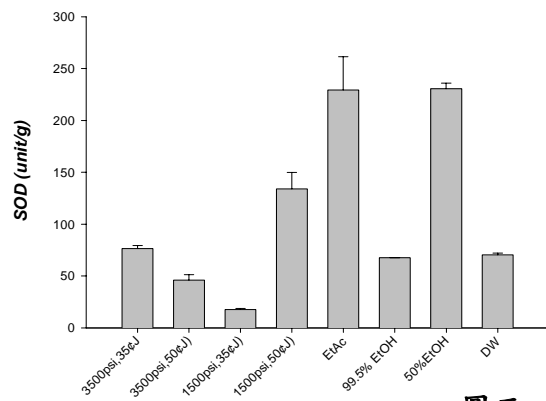




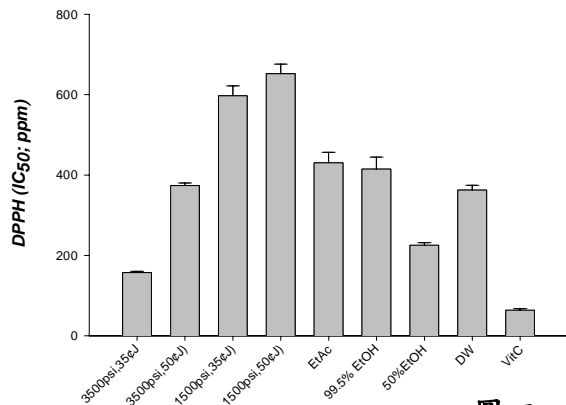
圖一



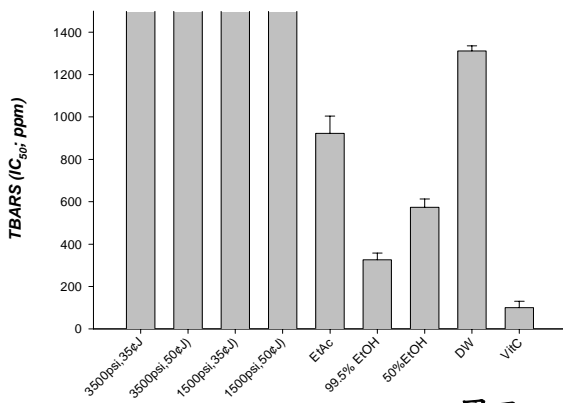
圖二



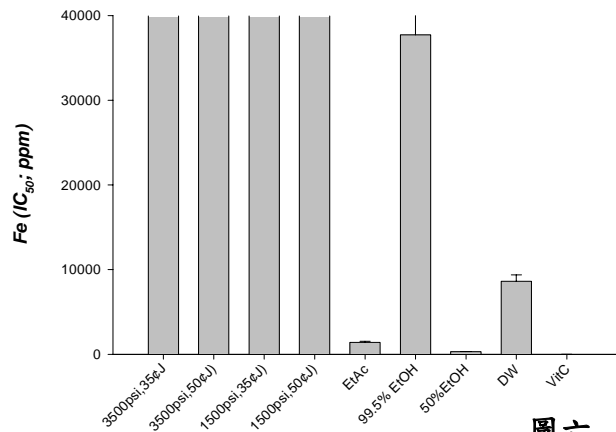
圖三



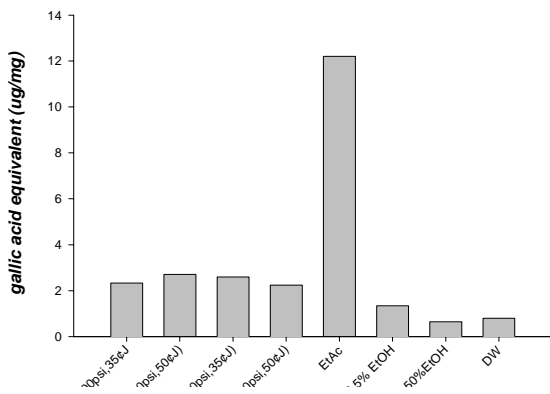
圖四



圖五



圖六



圖七