

## 壹、前言

隨著經濟發展，國人逐漸注重自身的健康。目前，重大死亡疾病例如癌症、高血壓、心臟病、糖尿病及多種伴隨文明而來之慢性疾病，如痛風、肝病等逐年增加，國人預防或治療這類疾病，除積極地運動強身外，並可配合飲食加以預防或治療。植物中多種天然成分具有防治某些疾病之功效，又某些植物特別富含防治某種疾病的天然化合物，此類食用植物宜加以研究並開發為保健食品。

諾麗 (noni) (*Morinda citrifolia*) 盛產於南太平洋群島，noni 果汁是當地人們的食品兼藥品。Noni 之根、莖、葉、果實、種子與樹皮皆含有多種有益身體健康的植物成分，其傳說療效功能很多，特別是針對一些慢性疾病，如關節炎、癌症、糖尿病和高血壓等。Noni 果汁含有豐富的東莨菪素 (scopoletin) 及其衍生物，scopoletin 具有許多療效及抗氧化作用。

本研究運用傳統方法以成熟與未成熟之果實生產 noni 果汁，並探討果汁於熟成過程中，(1) 功能性化合物含量之變化，包括總酚類化合物含量、類黃酮含量、縮合單寧含量和 scopoletin 及其衍生物之含量。(2) 抗氧化能力之變化，包括自由基清除能力、超氧陰離子清除能力、過氧化氫清除能力和亞鐵離子螯合能力。(3) 血管收縮素轉化酶 (Angiotensin converting enzyme ; ACE) 抑制活性之變化；(4) 分離及鑑定 noni 果汁中 scopoletin 及其衍生物之化學結構。

## 貳、文獻整理

### 一、Noni 之簡介

Noni，檄樹，學名：海巴戟天 (*Morinda citrifolia* Linn.)，隸屬茜草科 (Rubiaceae)、海巴戟天屬 (*Morinda*)，noni 為其俗名。檄樹是一種直立性的常綠小喬木，高約 3-10 公尺。葉子為寬橢圓形，長可達 25 公分，花梗獨立，生長密集。果實呈綠色或乳白色，狀似手榴彈，長 6-12 公分，係由許多小白花聚集轉變而成之聚合果 (如圖一)，果實內種子多達 300 多個不等，而成熟之果實呈乳白色，具令人不悅之口感與氣味。

Noni 為熱帶植物，大量分布在印度至南太平洋群島，包括菲律賓、波里尼亞、夏威夷、馬來西亞、印尼和薩摩亞群島等，亦適合生長於本島中南部之溫溼氣候，四季皆可開花結果，仲夏至秋季為其盛產期 (Chunhieng et al., 2005)。在美國，noni 產品已經成為一種普及的健康食品，其中以 noni 果汁最為暢銷，於超市、連鎖健康食品專賣店、網路等皆有其產品之販售。由於 noni 聲稱可以治百病，故又稱萬靈藥 (cure-all)，使得其產品在市場上廣為流行 (Seidemann, 2001)。

Noni 果實已被研製成多種產品 (圖二)，其中以 noni 果汁最為暢銷，目前已有各種品牌自不同國家進口而直銷於民間，當做保健飲料 (圖三)。國人對保健食品日趨重視，已引進 noni 果樹種植，並經農委會加以推廣，種植於中南部地區。由於 noni 果汁的風味不佳，價格偏高，不易



圖一、Noni 之花、果實。

Fig.1. Flowers and fruits of noni.



圖二、Noni 之相關產品。

Fig.2. Related products of noni fruit.

( [http://www.drinkandshare.com/other\\_products.htm](http://www.drinkandshare.com/other_products.htm) )



圖三、國內直銷之 noni 果汁。由右至左依序為：1. 菲律賓 2. 琉球 3. 大溪地 4. 南太平洋 5. 美國公司 (未登記正確地點) 6. 澳洲 7. 印尼。

Fig.3. Many brands of noni juice from different origins have been imported and delivered to consumers directly. In order from right to left: 1. Philippine. 2. Ryukyu. 3. Tahitian. 4. South Pacific. 5. American company (without registering the correct place. 6. Australia. 7. Indonesia.

為一般人所接受，而對其製程及製程中之品質變化所知甚少，且推廣不足，又缺乏果汁製造商加以整合，因此導致果實滯銷，致使 noni 果農反受此經濟作物所害。若能加以研究報導，令消費者對其有所認識，將可大大提升其研究開發效益。

## 二、Noni 果汁之熟成

傳統 noni 果汁之製程如圖四。成熟之 noni 果實呈乳白色，摘採下來後，經清水洗淨風乾，置入收集桶中，於常溫下自然發酵 12 週左右。收集桶之材質必須為玻璃、不銹鋼或食用級之塑膠材質。熟成過程中，果汁自然從果肉中滲出，隨著熟成時間的增長，滲出之果汁顏色由淺褐色漸漸變深，熟成後之果汁呈棕褐色，即可連同軟化之果實壓榨成汁。

此熟成作用為一自然過程，主要為果肉中多種酵素之綜合作用，促使成熟之果實進行自消化分解 (autolysis)，進而增強有效成分之生物活性。民間認為發酵產品之生理功效較新鮮果汁為佳，而又以 8~12 週之完全熟成功效最佳。

Noni 果汁之 pH 值隨著熟成過程而下降至約 pH 3-4 左右，由於低 pH 值及果汁中某些天然之抑菌物質 (如：東莨菪素，scopoletin)，因此，產品較不易遭受微生物污染。



**TRADITIONAL NONI JUICE:**  
**Drip-extracted, fermented & aged, unadulterated**

*1) Ripe noni fruits arrive at a juicing facility (“Mahalo” to the nice folks at [bigislandnoni.com](http://bigislandnoni.com) for a tour of their noni facility near Kalapana on the Big Island of Hawaii).*

Freshly picked, ripening noni fruits arrive at the juice processing facility in a variety of containers. The harvested noni fruits are mainly whitish in color with tinges of green.



**LEFT:** Noni fruits are being weighed in tubs. **RIGHT:** An onion bag full of freshly picked, nearly ripe noni fruits. Green or unripe yellow noni fruits are very hard-skinned and durable, and therefore resistant to superficial damage and bruising during shipping and handling. They require no special handling. Noni fruits at this stage of development will ripen overnight or in a few days at room temperature and can be processed for juice immediately thereafter.

*2) Noni fruits are washed and air-dried.*



An automatic noni fruit washer, adapted for use with noni from a vegetable operation. Freshly picked noni fruits after washing are allowed to air-dry on raised tables before they are processed for juice.

**3) Ripe noni fruits are placed into a juice collection vessel for 2 months or longer. During this time, the noni juice separates (drips) gradually from the pulp.**

The juice collection and fermentation vessels should be made of glass, stainless steel or food-grade plastic. The noni juice collects inside the containers and ferments as it gradually seeps and sweats from the fruits. The juice appearance is initially an amber or golden colored liquid that gradually darkens with age. After the collection and fermentation process is complete, the juice is drained from spigots at the base of containers (and filtered). Fresh air is excluded from these containers, and contact between the juice and fresh air is minimized throughout the process.



**LEFT:** A row of plastic noni juice collection and fermentation vessels. **RIGHT:** A juice collection and fermentation vessel, approximately  $\frac{1}{2}$  full of noni fruits and juice. Juice will be drained through the spigot after 2 months and bottled.

**4) The final noni juice product is decanted, filtered and bottled.**



Fermented, aged noni juice is a dark brown liquid which is similar in appearance and texture to soy sauce. The pH is relatively low (approximately 3.5), lending a characteristically sour taste to aged noni juice.

圖四、傳統 noni 果汁之製程。

Fig.4. Traditional ripening of noni fruit juice.

([http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit\\_juices.asp](http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit_juices.asp))

### 三、Noni 果汁之組成分

早在二千年前 noni 已成為波里尼亞的食用作物兼藥物 (Levand and Larson, 1979)，近年更被美國食品藥品管理局 (Food and Drugs Administration, FDA) 列為 GRAS (Generally Recognized As Safe) 作物。Noni 含有多種有益身體之特殊成份，已被證實的有效成分如表一，其中包括類黃酮 (flavonoids)、配苷 (glycosides) (Sang et al., 2000; Wang et al., 2000)、維生素、蒽 (anthraquinones) 及多元不飽和脂肪酸 (Wang et al., 1999; 黃等, 2003) 等。

近年來，自 noni 果中已分離得到約 51 種揮發性化學成分 (表二) (Farine et al., 1996)，其中 octanoic acid、hexanoic acid 及其甲、乙基酯類為其重要之風味物質。另外，亦鑑定得到大量之 carboxylic acids、methanethiol 和 dimethyldisulfide 等 (Wei et al., 2001; Wei et al., 2004)。

此外，noni 果汁中含有豐富的 scopoletin 及其衍生物。Scopoletin 及其衍生物係屬於香豆素類 (coumarin)，化學結構如圖五。自 Best (1944) 鑑定出 scopoletin (7-hydroxy-6-methoxycoumarin) 以來 (Best, 1944)，陸續發現 scopoletin 及其衍生物- scopolin 廣泛地存在於植物中，如柑橘類水果等，其中又以葡萄柚中含量最多，且研究發現 scopolin 之含量與水果之苦味具相關性 (Runkel et al., 1997)。



表一、Noni 果汁中經確認之六十多種營養成分

Table 1. More than sixty kinds of nutrition in noni fruit juice

xeronine	scopoletin	proxeronine	morindadiol	proxeronase
rubiadin	serotonin	magnesium	damnacanthal	carbonate
nordamnacanthal	protein	anthraquinones	sodium	carotene
bioflavonoids	morindine	morindone	terpenes	Soranjidiol
plant sterols	iron	sitosterol	phosphate	glycosides
MME rubiadin	munjistin	acetin GlucoP	ursolic acid	MM-MA-R glycolipid
caproic acid	caprylic acid	serum albumin	asperuloside	cofactor
vitamin	trace element	chlororubin	flavonols	threonine
valine	serine	methionine	alanine	isoleucine
araginine	leucine	aspartate	lysine	cysteine
phenylalanine	cystine	threonine	glutamic acid	histidine

表二、Noni 之揮發性化學成分

Table 2. Identified volatile compounds from ripe fruits of noni

compounds	MW	Identification*	%	ppm
<b>Acids</b>				
Acetic	60	a,b,c	0.04	0.02
2-methyl propanoic	88	a,b	0.11	0.05
Butanoic	88	a,b,c	0.71	0.31
2-methylbutanoic	102	a,b	0.54	0.23
Hexanoic	116	a,b,c	19.24	8.26
3-methylthiopropoic	120	a,b	0.41	0.18
Benzoic	122	a,b,c	0.19	0.08
Heptanoic	130	a,b,c	0.09	0.04
Octanoic	144	a,b,c	58	24.98
Hexanedioic	146	a,b	0.08	0.03
Nonanoic	158	a,b	0.03	0.01
Decanoic	172	a,b,c	1.54	0.66
Undecanoic	186	a,b,c	0.03	0.02
Lauric	200	a,b,c	0.16	0.07
Myristic	228	a,b,c	0.14	0.06
Palmitic	256	a,b,c	0.49	0.21
Linoleic	280	a,b,c	0.05	0.02
Elaidic	282	a,b,c	0.29	0.12
Oleic	282	a,b,c	0.06	0.03
(Z,Z,Z)-8,11,14-eicosatrienoic	306	a,b	0.68	0.3
Total			82.88	35.68
<b>Alcohols</b>				
1-Butanol	72	a,b,c	0.07	0.03
3-Methyl-3-buten-1-ol	86	a,b	4.13	1.78
3-Methyl-2-buten-1-ol	86	a,b	0.3	0.13
1-Hexanol	102	a,b,c	0.11	0.05
Benzyl alcohol	108	a,b,c	0.05	0.02
Eugenol	164	a,b	0.03	0.01
(Z,Z)-2,5-Undecadien-1-ol	168	a,b	0.41	0.18
Total			5.1	2.2
<b>Ketones</b>				
3-Hydroxy-2-butanone	88	a,b,c	0.06	0.03
2-Heptanone	114	a,b,c	0.35	0.15
Total			0.41	0.18

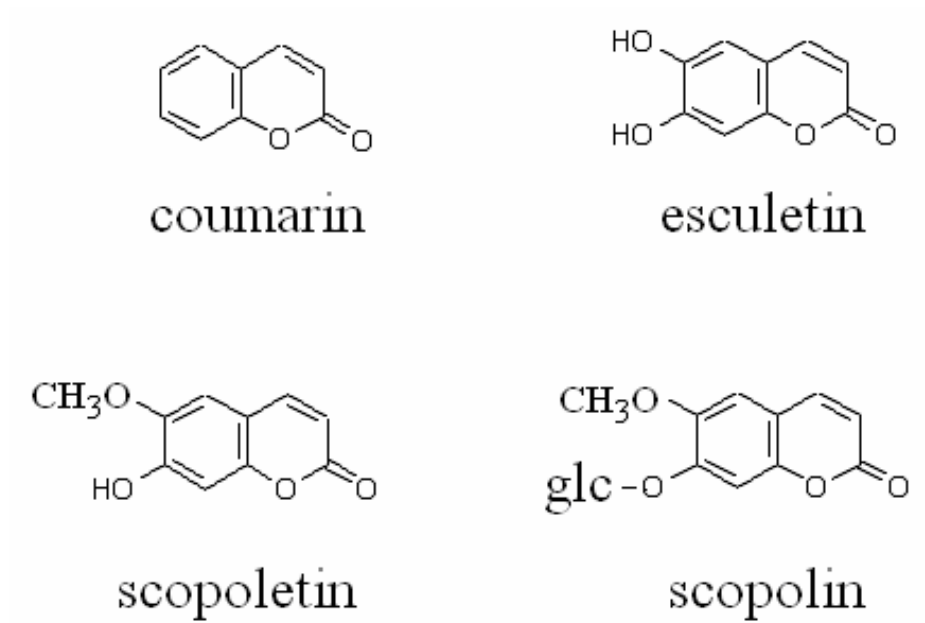
表二、Noni 之揮發性化學成分 (續)

Table 2. Identified volatile compounds from ripe fruits of noni (continued)

compounds	MW	Identification*	%	ppm
<b>Esters</b>				
Methyl hexanoate	130	a,b,c	0.37	0.16
Methyl 3-methylthio-propanoate	134	a,b	0.03	0.01
Ethyl hexanoate	144	a,b,c	0.12	0.05
Methyl octanoate	158	a,b,c	0.85	0.37
Ethyl octanoate	172	a,b,c	0.45	0.19
Methyl decanoate	186	a,b,c	0.57	0.25
Ethyl decanoate	200	a,b,c	0.19	0.08
Methyl palmitate	270	a,b,c	0.04	0.02
Ethyl palmitate	284	a,b,c	0.03	0.02
Methyl elaidate	296	a,b,c	0.05	0.02
Methyl oleate	296	a,b,c	0.03	0.01
Total			2.76	1.18
<b>Lactones</b>				
(E)-6-Dodeceno- $\gamma$ -lactone	196	a,b	0.09	0.04
(Z)-6-Dodeceno- $\gamma$ -lactone	196	a,b	0.09	0.04
Total			0.18	0.08
<b>Miscellaneous compounds</b>				
Hexanamide	115	a,b	0.03	0.01
Limonene	136	a,b,c	0.39	0.17
(Ethylthiomethyl) benzene	152	a,b	0.07	0.03
Unknown 1	166	b	1.48	0.64
Unknown 2	168	b	0.56	0.25
Unknown 3	184	b	0.57	0.25
Scopoletin	192	a,b	1.97	0.85
Vomifoliol	206	a,b	0.95	0.4
Unknown 4	212	b	1.65	0.71
Total			7.67	3.31

\* Chemical identifications were based on EI mass spectra (a); CI mass spectra (b); and/or comparisons of their Rts with those of synthetic compounds (c).

(Farine et al., 1996)



圖五、香豆素及其衍生物之化學結構。

Fig.5. Chemical structures of coumarin and some of its derivatives.

#### 四、Noni 果汁之生理功效

Noni 果汁之功能傳說很多，部分來自書本或宣傳品，有些來自研究報導 (表三)，如：抗病毒 (antiviral)、抗細菌 (antibacterial)、抗黴菌 (antifungal)、抗寄生蟲 (antihelmin)、抗腫瘤 (antitumor)、降血壓 (hypotensive)、抗炎症 (anti-inflammatory)、止痛 (analgesic) 等生理功效。除此之外，尚有許多功能療效有待進一步研究證實。

##### (一) 抗氧化性

Zin 等 (2002) 研究 noni 果之抗氧化性發現，noni 果之乙酸乙酯 (ethyl acetate) 萃取物具極高之抗氧化性，反之，甲醇 (methanol) 萃取物之抗氧化性較低。因此，推測 noni 中主要之抗氧化物質為一些非極性化合物。

Su 等 (2005) 亦針對 noni 果之抗氧化性進行研究，發現自 noni 果中分離得到之 americanin A (2-propenal,3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-2,3-dihydro-3-(hydroxymethyl)-1,4-benzodioxin-6-yl]-;  $C_{18}H_{16}O_6$ ) (圖六) 具有極佳之 DPPH 自由基清除能力 ( $IC_{50} = 16.9 \mu M$ )。

##### (二) 抑菌功能

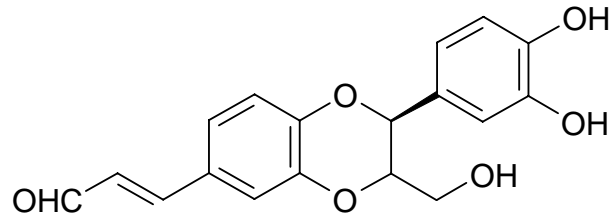
Noni 果汁可抑制如 *M. pyogenes*, *E.coli* 及 *P. aeruginosa* 等之生長 (Bushnell et al., 1950)。研究報告指出，成熟之 noni 果實較未成熟果實

表三、文獻證實 noni 果汁之功效

Table 3. Scientifically documented benefits of noni fruit juice

Complaint	Ref.	Complaint	Ref.
Diarrhea	McCuddin, 2001	Antibiotic & antimicrobial	Ditmar, 1993
Spreading dark spots on skin		Inhibits early Epstein Barr virus	
Chest infections	Guest, 1938		
Tuberculosis	Uhe, 1974	Abdominal pains	Elliott and Brimacombe, 1987
Eye complaints		Back ache	
Fever with vomiting		Tonic after childbirth	
Inflamed, sore gums		Antimicrobial	Rusia and Sriivastava, 1987; Bushnell et al., 1950
Sore throat with cough			
Thrush			
Abscess			
Worms			
Sick people	Powell, 1969	Nutritive	
Anti-cancer activity normalized pre-cancer tissue	Hiramatsu et al., 1993	Infection of mouth & gums	
Arthritis	Hirazumi et al., 1994	Sore throat	Whistler, 1992
Anti-lung cancer		Tooth aches	
Enhance immune system macrophages and lymphocytes		Wounds, fractures, and boils	
Regulates thymus thymocytes (immune cells)		Urinary tract ailments	
	Ganal and Hokam, 1993	Abdominal swelling	
		Diaphragmic hernia	
		Loss of appetite	
		Hypertension	Yamaguchi et al., 2002





圖六、Americanin A 之化學結構。

Fig.6. Chemical structures of americanin A.

之抑菌效果佳，亦比新鮮果汁或乾燥之果肉和種子為佳（如表四）

(Ditmar, 1993)。又 noni 果汁組成成分中之 scopoletin 於不同的研究報告中

指出，其具有抑制大腸菌在胃中生長 (Duncan et al., 1998) 和抑制其它

多種細菌如：*Staphylococcus aureus*, *Strep. pneumoniae*, *Strep. sp.*,

*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* 和

*Haemophilus influenza* (Kayser and Kolodziej, 1997)，及抑制食品中毒菌

感染，如：肺炎、腎炎、心內膜炎、腸胃炎、泌尿系統或呼吸道之感染

和其它多種致病菌。

### (三) scopoletin 之生理功效

Scopoletin 具有多種功效，除上述之抑菌效果外，scopoletin 亦顯示

具有抗發炎及止痛等強效消炎功效，尤其對支氣管疾病 (bronchial

illness) 和氣喘 (asthma) (Erazo et al., 1997)，其效果為 aspirin 之五倍。

表四、Noni 之抑菌活性

Table 4. Antibacterial activity of noni

test organism	young fruit	ripe fruit	fresh juice	dried pulp	dried seeds*
	(relative activity**)				
<i>Bacillus subtilis</i>	•	++	+	+	+
<i>E. coli</i>	•	++	+	+	•
<i>Proteus morganii</i>	•	•	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	•	++	+	+	•
<i>Salmonella montevideo</i>	0	++	•	•	•
<i>Salmonella schotmuelleri</i>	0	++	0	+	•
<i>Salmonella typhi</i>	++	+++	+	+	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	•	•	+	+	•
<i>Shigella flexnerii</i>	•	•	+	+	+
<i>Shigella paradysenteriae BH</i>	++	+++	•	•	•
<i>Shigella paradysenteriae III-Z</i>	++	++	•	•	•
<i>Staphylococcus aureus</i>	•	++	+	+	+

\* Methanol extract.

\*\* 0 ineffective ; + effective ; ++ moderately effective ; +++ highly effective ; • has not been tested.

(Ditmar, 1993)

其它研究包括表面塗敷 (Farah and Samuelsson, 1992)、止痛(analgesic) (Huang et al., 1993)、抗黴菌、降血壓 (Obidoa and Obasi, 1991)、保肝 (Sung et al., 1998; Sang et al., 2001) 及抗氧化性 (Shaw et al., 2003) , 又 scopoletin 之超氧陰離子消除能力相當於 quercetin (Ng et al., 2003) 。

#### (四) 抗發炎作用

Noni 果汁中之主要抗炎症物質包括 scopoletin、quercetin 及 ursolic acid，其可有效地抑制發炎相關因子如細胞激素 interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、interleukin-6 (IL-6)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2；PGE2) 和骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase；MPO) 之產生。Quercetin 可有效地抑制 IL-6 之活性；scopoletin 則主要抑制 MPO 及 PGE2 之活性；又 scopoletin 及 quercetin 皆可適度地抑制 IL-1 $\beta$  之活性，以達到抗發炎的作用 (Yu et al., 2004)。

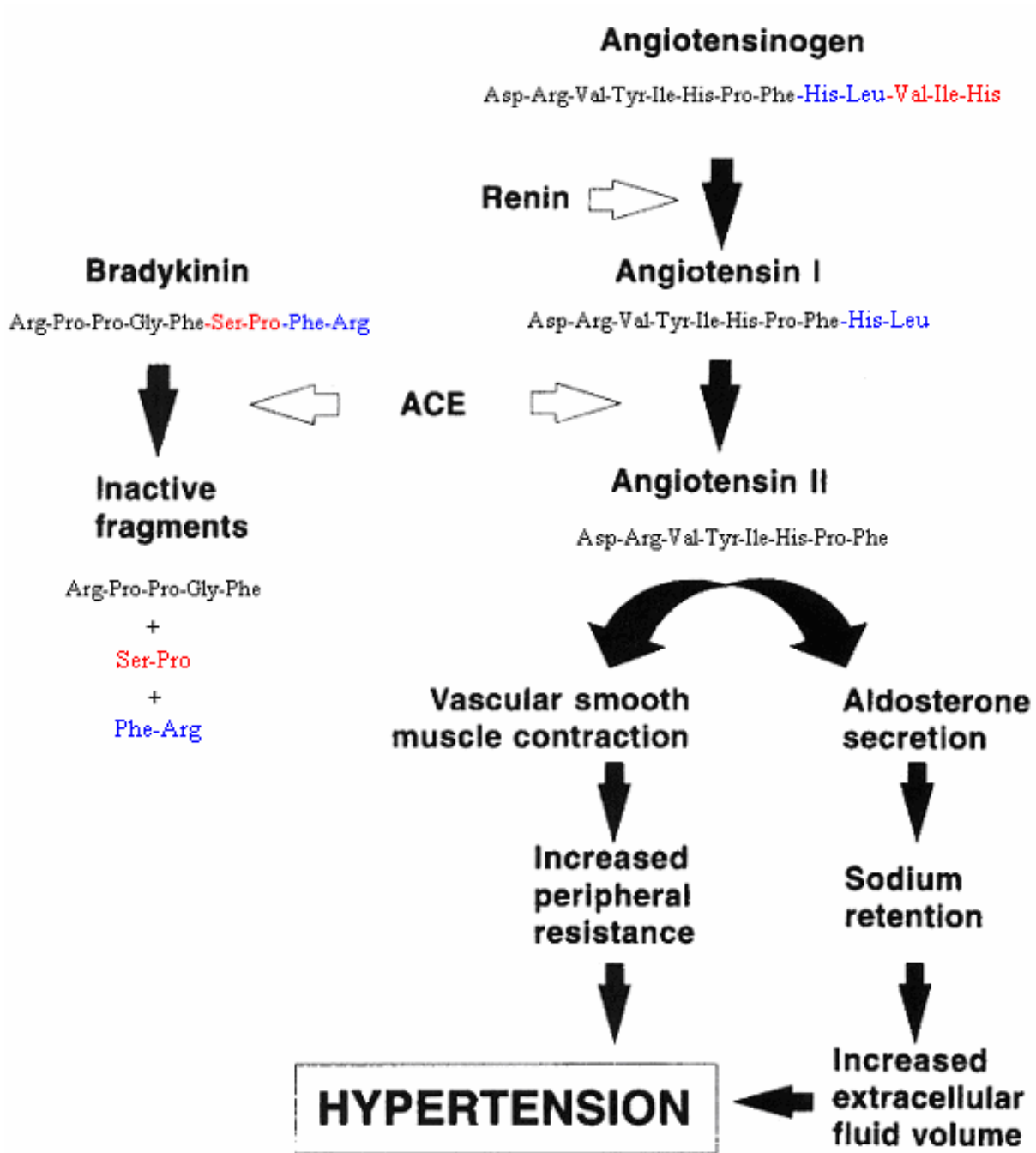
#### (五) 降血壓之功效

Scopoletin 泛存於自然界，其具有舒緩平滑肌促使血管擴張而達到降血壓之功能，若大量攝取會導致低血壓現象 (Ojewole and Adesina, 1983)，但大量攝取 noni 果汁，則尚未有低血壓現象之報導。

血管收縮素轉化酶 (Angiotensin Converting Enzyme；ACE) 為人

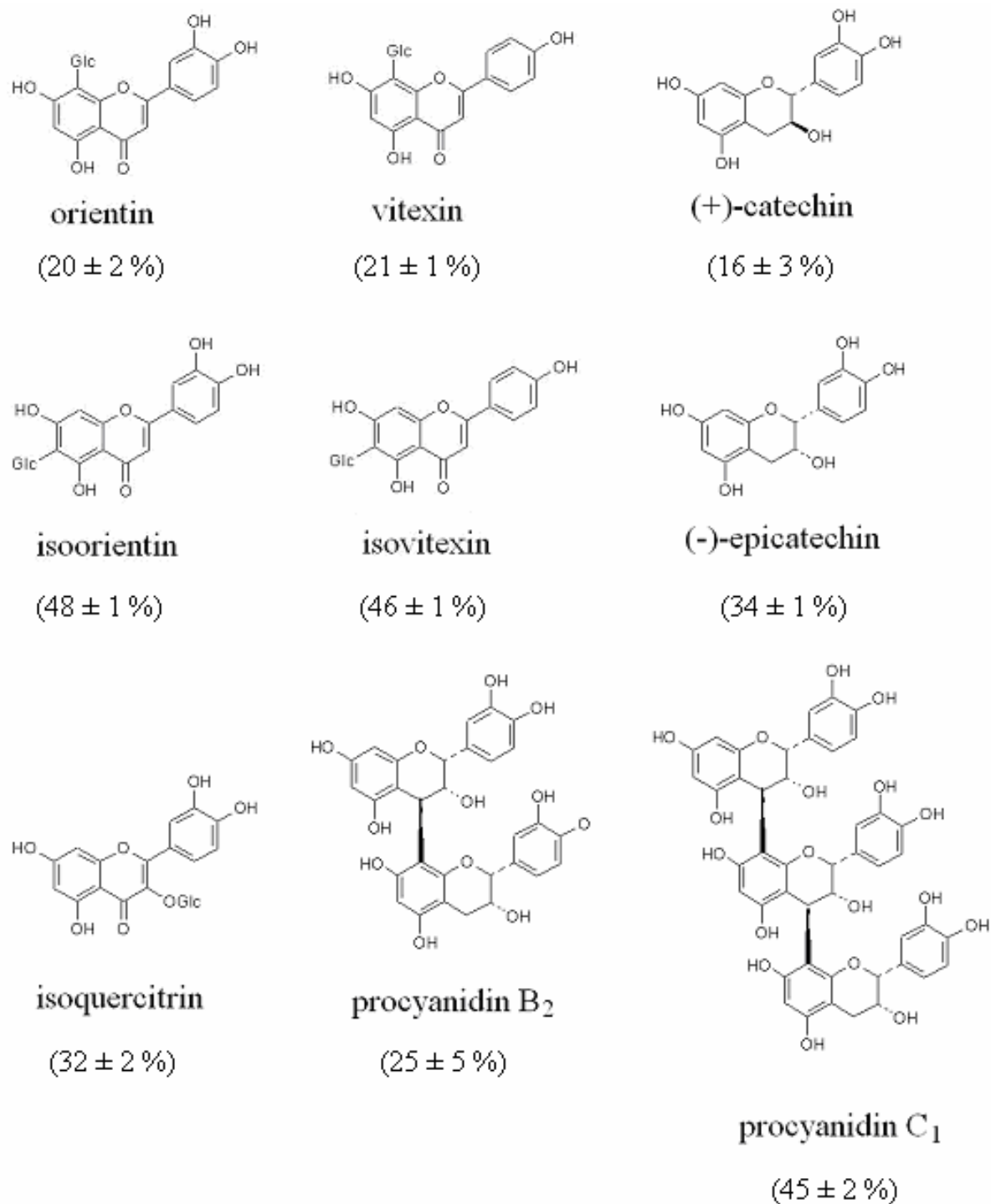
體調節血壓之重要酵素。當血壓降低、腎血流量減少、血液中鈉離子缺乏或交感神經受到刺激時，腎臟會釋放腎素 (renin) 將肝臟分泌之血管收縮素原 (angiotensinogen) 轉變成不具生理活性之血管收縮素 I (angiotensin I)，ACE 可將 angiotensin I 催化形成血管收縮素 II (angiotensin II)，而引起血壓的上升；同時使血管舒張素 (bradykinin) 水解，而失去活性 (Erdos, 1975; Hansen, 1995) (圖七)。因此，若具抑制 ACE 之活性將可展現抗高血壓或降血壓之功能。

取自食品中之 ACE 抑制物來源大多為食物蛋白之水解產物，如：玉米蛋白 (Miyoshi et al., 1991)、沙丁魚肉蛋白 (Matsui et al., 1993) 與大豆蛋白 (Wu et al., 2002) 等，其主要為競爭型抑制劑。除食物蛋白之水解產物具有 ACE 之抑制活性外，據研究發現，於植物中，flavonoids 和 proanthocyanidins (with low polymerization degree) (Wagner et al., 1991; Uchida et al., 1987) 已證實具有良好之 ACE 抑制活性。Proanthocyanidins 之抑制活性與其-OH 基之多寡具相關性 (Lee et al., 1998; Actis-Goretta et al., 2003)；且於 flavonoids 之測試中發現，其 C-glycosides (如：isoorientin 和 isovitexin) 之 ACE 抑制活性大於 O-glycosides (如：isoquercitrin)；而 O-glycosides 之抑制活性又大於 C-glycosides 中之 8C-analogs (如：vitexin 和 orientin) (圖八) (Lacaille-Dubois et al., 2001)。



圖七、血管收縮素轉化酶之作用機制。

Fig.7. The mechanism of angiotensin converting enzyme. (Hansen, 1995)



圖八、具 ACE 抑制活性之類黃酮與前花青素之化學結構及其抑制率。

Fig.8. Chemical structures of some flavonoids and proanthocyanidins and their ACE inhibitory activity. (Lacaille-Dubois et al., 2001)



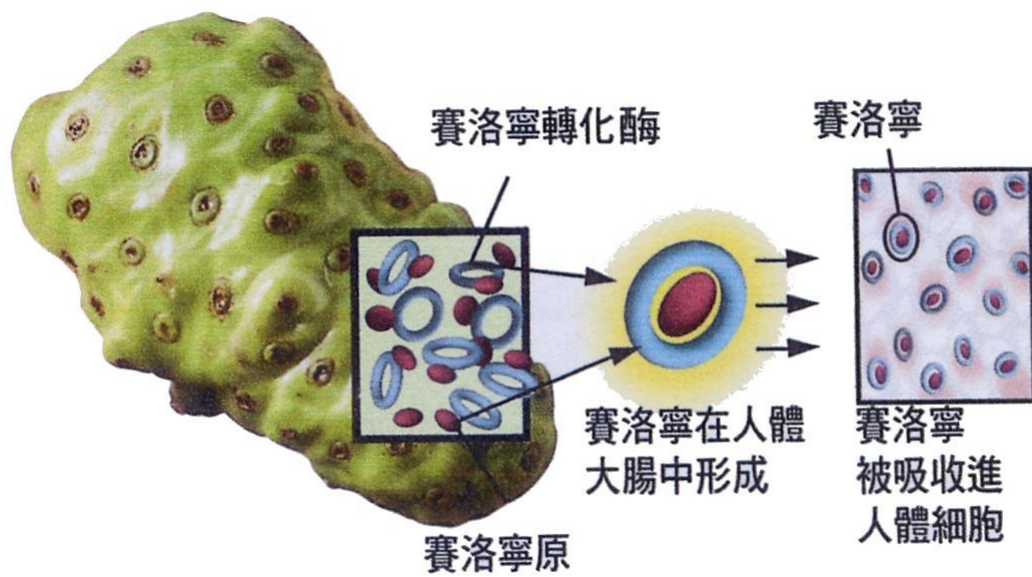
此外，研究發現 hydrolyzable tannins (Ueno et al., 1988)、xanthones (Chen and Lin, 1992)、fatty acids (Morota et al., 1987)、terpenoids (Morigawa et al., 1986; Hansen et al., 1996) 等亦具有 ACE 之抑制活性。

經由日本學者研究發現，noni 果汁可有效地抑制 ACE 之活性，且成熟之果實抑制效果( $IC_{50} < 0.1\%$ )大於未成熟之果實( $IC_{50} = 0.22\%$ )。實驗結果證實，noni 果汁能有效抑制 ACE 活性，以自發性高血壓大鼠 (spontaneously hypertensive rats ; SHR) 餵食 0.6 mL/kg 之 noni 果汁可有效地降低其血壓並維持長久 (Yamaguchi et al., 2002)。

#### (六) 賽洛寧之功效

Dr. Heinicke 認為 noni 果中含有豐富的賽洛寧原 (proxeronine) 和賽洛寧轉化酶 (proxeronase)，其可轉化為賽洛寧 (xeronine) 並具有活化人體酵素系統之功能。Proxeronine 進入人體，自大腸送到肝臟貯存，再由肝臟釋出，經血液輸送至身體各處再轉化為 xeronine (圖九)。

Xeronine 為一種生物鹼 (alkaloid)，是一種身體製造用來催化酵素作用的物質，具調節活化酵素之功用，可促進細胞的正常活動。Dr. Heinicke 指出此特殊的生物鹼於體內製造利用後便很快地利用分解掉，故未曾被發現。除 Dr. Heinicke 外，目前尚無其他人證實 xeronine 的存在，且於 Dr. Heinicke 之專利中亦無鑑定出 xeronine 的化學結構，僅預測其分



圖九、Noni 之賽洛寧系統。

Fig.9. Xeronine system from noni fruit.

(<http://www.sample.nonijade.com/index-2.htm>)

子量座落於 413 – 518 Da 之間 (Heinicke, 1983)。

### (七) 抗腫瘤之功效

Noni 果亦具有抗癌功能。根據研究指出，noni 果汁可透過刺激免疫系統的方式，以達到抑制腫瘤細胞之生長 (Hirazumi et al., 1994)。

Hirazumi 等人發現，Noni 果汁含有豐富的多醣體物質

(polysaccharide-rich substance)，於 Lewis 肺癌模式之 C57 BL6 老鼠實驗中具抗腫瘤之活性；並推測 noni 多醣體具有免疫調節之生理功能，

其可能經由刺激免疫系統而抑制腫瘤生長 (Hirazumi et al., 1996;

Hirazumi and Furusawa, 1999)。更進一步研究發現，noni 多醣體具預防和治療 immunomodulator sensitive Sarcoma 180 tumour system 之潛力，

治癒率可達 25 - 45%；此外，noni 多醣體結合某些化療藥物共同使

用，如：cisplatin, adriamycin, mitomycin-C, bleomycin, etoposide,

5-fluorouracil, vincristine 或 camptothecin，對於化學治療具有協同作用

或加乘功效 (Furusawa et al., 2003)。

Wang and Su (2001) 發現，於 DMBA (9, 10-Dimethyl-1, 2-benzanthracene) 誘發 C57 BL6 公鼠腫瘤模式中，noni 果汁可以有效地抑制 DMBA-DNA 加成物 (DMBA-DNA adduct) 形成，而抑制 DMBA 之致癌作用。

#### (八) 預防動脈硬化

研究證實 noni 果汁具有預防動脈硬化之功效，由於動脈硬化與低密度脂蛋白之氧化 (copper-induced low-density lipoprotein oxidation) 有密不可分的關係，故其可透過抑制低密度脂蛋白之氧化來預防動脈硬化。藉由 thiobarbituric acid-reactive substances method (TBARS method) 分析結果發現，copper-induced LDL oxidation 之抑制活性乃自 noni 中富含多種具 phenolic hydroxyl 官能基之化合物，如：3, 3'-bisdemethylpinoresinol, americanol A, morindolin 和 isoprincepin， $IC_{50}$  值分別為 1.057、2.447、2.020 和 1.362  $\mu M$ 。其具有抑制銅離子誘導 LDL 氧化之活性，因此而達到預防動脈硬化之效 (Kamiya et al., 2004)。

#### (九) 降血糖之功效

民間傳說 noni 亦可有效地治療第二型糖尿病 (非胰島素依賴型糖尿病；non-insulin dependent diabetic mellitus；NIDDM)。經 Su 等 (2005) 研究發現，乾燥的 noni 果實可以有效地抑制磷酸雙酯酵素 III (phosphodiesterase III；PDE3) 對 cAMP (cyclic adenosine monophosphate) 之水解，並促使  $\beta$  cell 之 G-Protein-Coupled receptor (P2Y recaptor) 刺激 cAMP 產生，進而增加胰島素之分泌，以達到降血糖之功效。故推測 noni 果汁透過 G-Protein-Coupled Receptor System 方具治療糖尿病之

功效。

#### (十) 特殊案例

Noni 雖具以上多種療效，但於臨床研究發現，其不適用於慢性腎臟病患者，乃因其含有大量的鉀（約 56.3 mEq/L noni fruit juice），食用後易造成腎臟病患之高血鉀症（hyperkalemia）(Mueller et al., 2000；Burrowes and Van, 2005)。此外，亦有一醫學案例發現，一位 45 歲的男子因攝取 noni 果汁造成急性肝炎，推測其可能是由於 noni 果汁中所含之蒽（anthraquinones）所引起。蒽廣泛地存在於豆科植物中，如：senna，常作為醫藥用之緩瀉劑以治療便秘。根據研究指出，蒽可能因生成自由基而對肝細胞造成傷害，導致肝細胞之氧化應激（oxidative stress）而引發肝炎（Millonig et al., 2005）。

## 參、材料與方法

一、實驗材料：noni 果實購自雲林縣元長鄉東豐景觀園藝公司

二、試劑與試藥：

Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, quercetin, vanillin, (+)-catechin, scopoletin, vanillin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), butyl hydroxyl anisole (BHA), phenazine-methosulfate (PMS), NADH, nitroblue-tetrazolium (NBT), ferrozine, hippury-His-Leu (HHL), Angiotensin converting enzyme (ACE from rabbit lung, EC 3.4.15.1),  $\beta$ -glucosidase (from almonds, EC 3.2.1.21), D(+)-glucose, D(+)-xylose, D(-)-arabinose 及 D(+)-mannose 等購自 Sigma-Aldrich (USA)

$\text{Na}_2\text{CO}_3$ , conc. HCl 和 acetonitrile (HPLC Grade) 購自 J. T. Baker (USA)

$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{CH}_3\text{COOK}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{FeSO}_4$  購自 Merck (Germany)

MeOH (HPLC Grade) 購自 Mallinckrodt (USA)

ethylene diamine tetracetic acid (EDTA) 購自 USB (Spain)

含 0.4 M NaCl 之 0.1 M 硼酸鈉緩衝液，pH 8.3 作為 ACE 與 HHL 之溶劑，硼酸鈉 購自 Wako (Japan)

Trifluoroacetic acid (TFA) 購自 Lancaster (England)

陰離子交換樹脂 Amberlite IRA-400(OH) 購自 Supelco (USA)



### 三、儀器設備：

#### (一) Noni 果汁熟成之儀器設備：

收集桶為 12 L 之容器 (PET.PC.拉吹成型)，具備密閉不透氣且有大開口及封蓋，便於放置果實，並於底部備有取樣果汁之活栓，購自 DJA (Taiwan)。

榨汁機 (Braun MP80, Germany)

高速離心機 (SCR20B, Hitachi, Japan)

#### (二) 酚類化合物含量測定與抗氧化性之儀器設備：

分光光度計 (UV-2100, Unicon, Japan)

#### (三) Noni 果汁中東莨菪素及其衍生物之 HPLC 分析儀器設備：

HPLC pump (LC-10AT<sub>VP</sub>, Shimadzu, Japan)

Synergi 4  $\mu$  Fusion-RP column (250  $\times$  4.6 mm, Phenomenex, USA)

UV-Vis Detector (S-3702, Soma, Japan)

Fluorescence Detector (FD-500, Groton, USA)

GOERZ Flatbed Recorder (Flatbed Recorder Servogor 124

Servogor 124 plus, Ngi, Austria)

Integrator (Chromatocorder 21, Sci, USA)

#### (四) ACE 抑制活性測定之儀器設備：

Isocratic Pump (Agilent 1100 Series, Agilent, Germany)

LiChrospher RP-18 column (250 × 4 mm, 5 μm, Merck, Germany)

Detector (Agilent 1100 Series, Agilent, Germany)

(五) 物化性質之儀器設備：

pH meter (PHM82 Standard pH Meter, Radiometer Copenhagen, Denmark)

色差儀 (SZ-Σ90 color measuring system, Nippon Denshoku, Japan)

(六) Noni 果汁中東莨菪素及其衍生物分離、純化之儀器設備：

Intelligent Pump (L-6200, Hitachi, Japan)

VP 250/10 Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> column (MN, Germany)

UV-Vis Detector (S-3702, Soma, Japan)

Integrator (D-2500, Hitachi, Japan)

減壓濃縮裝置 (RE111, Buchi, Switzerland)

冷凍乾燥濃縮裝置 (VV2000, Heidolph, Germany)

(七) Noni 果汁中東莨菪素及其衍生物分析與鑑定之儀器設備：

Pump (765 HPLC Compact pump, Alcott, USA)

層析管柱保溫箱 (Super Co-150, Enshine, Taiwan)

Carbohydrate Column (300 × 7.8 mm, Transgenomic, USA)

RI detector (ERC-7515A, Erc, Japan)

Integrator (Chromatocorder 21, Sci, USA)

液相層析-質譜儀 (M-8000 LC/3DQ MS system, Hitachi, Japan)

Minibore Gemini C<sub>18</sub> (250 × 2.00 mm, 5 μm, Phenomenex, USA)

超導體霍式轉換核磁共振儀 (FT-Superconduction Nucleo

Magnetic Resonance, FT-NMR, Varian Unity-300 MHz)

(八) Noni 果汁中 ACE 抑制物分離與鑑定之儀器設備：

Isocratic Pump (Agilent 1100 Series, Agilent, Germany)

VP 250/10 Nucleosil 100-5 C18 column (MN, Germany)

Detector (Agilent 1100 Series, Agilent, Germany)

減壓濃縮裝置 (RE111, Buchi, Switzerland)

冷凍乾燥濃縮裝置 (VV2000, Heidolph, Germany)

質譜儀 (Fisons VG-Quattro mass spectrometer, Altrincham, UK)

超導體霍式轉換核磁共振儀 (FT-Superconduction Nucleo

Magnetic Resonance, FT-NMR, Varian Unity-300 MHz)

#### 四、 Noni 果汁之熟成

Noni 果實經清水洗淨、風乾後，分成兩組，分別為成熟的 noni 果實（表面呈微透明乳白色）與未成熟的 noni 果實（表面呈綠色），而後分別置入收集桶中。熟成 12 週，於熟成過程中每二週取樣一次，經離心後，取澄清液進行功能性化合物含量分析、物理性質分析及生理活性

分析。熟成 12 週後，利用榨汁機榨汁，並計算果汁之產率 (%)。

## 五、功能性化合物含量測定

### (一) 總酚類化合物之含量測定 (Total phenolic determination)

(Julkunen-Titto, 1985)

原理：Folin-Ciocalteu's phenol reagent 可與酚類化合物之 OH 基反

應，並產生顏色之變化 (由黃變藍)，並於波長 735 nm 下有吸光。

方法：取 50  $\mu$ L 之待測物加入 1 mL H<sub>2</sub>O 和 500  $\mu$ L Folin- Ciocalteu's

phenol reagent，用力搖勻混合後，再加入 2.5 mL 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

均勻混合後，於室溫下靜置 20 分鐘，而後測 A<sub>735</sub> 之吸光值。

以 gallic acid 製作標準曲線 (附錄一)。樣品中總酚類化合物之

含量由其吸光值求得 gallic acid 之量，以每毫升樣品所含之

gallic acid equivalent 的毫克數表示。

### (二) 類黃酮之含量測定 (Flavonoid determination) (唐等，1996;

鍾，2003)

原理：類黃酮化合物於鹼性條件下可與硝酸鋁形成穩定的紅色錯合

物，並於波長 415 nm 下有吸光。

方法：取 250  $\mu$ L 之待測物加入 10% 硝酸鋁和 1 M 醋酸鉀各 50  $\mu$ L，

再加入 1.4 mL 去離子水，混合後於室溫下反應 40 分鐘，而後測  $A_{415}$  之吸光值。以 quercetin 製作標準曲線 (附錄二)，並以不添加硝酸鋁之試驗作為空白對照組。樣品中類黃酮之含量由其吸光值求得 quercetin 之量，以每毫升樣品所含之 quercetin equivalent 的微克數表示。

(三) 縮合單寧之含量測定 (Condensed tannin determination with vanillin-HCl) (Julkunen-Titto, 1985)

原理：縮合單寧與香草醛 (vanillin) 及濃鹽酸作用，並產生紫色之顏色變化，於波長 500 nm 下有吸光。

方法：取 100  $\mu$ L 之待測物加入 1 mL，4% vanillin (w/v in MeOH)，避光搖勻，再加入 500  $\mu$ L conc.HCl，混合後於室溫下靜置 20 分鐘，而後測  $A_{500}$  之吸光值。以(+)-catechin 製作標準曲線 (附錄三)，並以不添加 vanillin 之試驗當作空白對照組。樣品之縮合單寧含量則由其吸光值求得(+)-catechin 之量，以每毫升樣品所含之(+)-catechin equivalent 的毫克數表示。

(四) Scopoletin 及其衍生物之含量測定

不同熟成時間取樣之 noni 果汁以 RP-HPLC 分離。分離條件應用 Synergi 4  $\mu$  Fusion-RP 管柱 (250  $\times$  4.6 mm, Phenomenex, USA)，

流速為 1 mL/min；移動相之梯度條件為 0 - 75 min 由 100% d.H<sub>2</sub>O 至 25% acetonitrile，75 - 85 min acetonitrile 由 25% 降至 0%；以串聯 UV (345 nm) 及螢光 (Ex: 335 nm, Em: 455 nm) 之方式進行偵測。以 scopoletin 標準品製作標準曲線 (附錄四)。Scopoletin 衍生物之含量以相較於 scopoletin 之百分比含量表示。

## 六、物化性質

### (一) pH 值變化

取不同熟成時間取樣之 noni 果汁，利用酸鹼度計依據電位差之原理測定其酸鹼值之變化。

### (二) 顏色變化

取不同熟成時間取樣之 noni 果汁，藉由色差儀測其顏色變化，以 CIE1976LAB 作為測色標準，分別以 L\*、a\*和 b\*值表示。L\*=100 時表全白，0 時表全黑；+ a\*表越傾向紅色，- a\*表越傾向綠色；+ b\*表越傾向黃色，- b\*表越傾向藍色。

## 七、生理活性

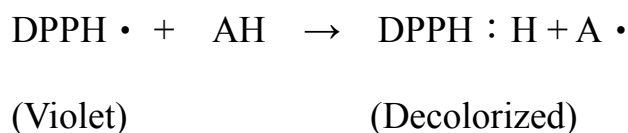
### (一) 抗氧化性

#### 1. DPPH 自由基之清除能力 (Shimada et al., 1992)

原理：DPPH 自由基之甲醇溶液於 528 nm 下具最大之吸光，當



DPPH 自由基被消除越多時，其吸光值會下降得越多。利用相對於空白對照組之吸光值下降百分比，可判斷樣品消除 DPPH 自由基能力之強弱。此外，由於 DPPH· 之甲醇溶液會隨著 pH 值之不同與時間長短而有所變化；其在 pH 5.0 – 6.5 間較為穩定，在鹼性時則不穩定；且隨著時間之增長而逐漸劣化，所以實驗時需要新鮮配製。反應式如下：

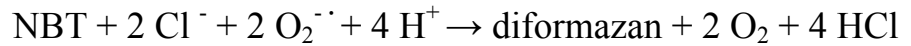
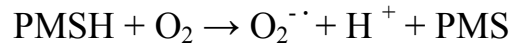


方法：取 1 mL 之待測物迅速加入 0.5 mL，0.016% DPPH 甲醇溶液（新鮮配製），再加入 0.5 mL 去離子水，均勻混合後於室溫下靜置 5 分鐘，之後測其  $A_{528}$  之吸光值，並以未添加 DPPH 之反應作為空白對照組。

## 2. 超氧陰離子之清除能力 (Robak and Gryglewski, 1988)

原理：於非酵素系統中 PMS (phenazine-methosulfate) 與 NADH 作用會產生超氧陰離子，其會進一步將 NBT (nitroblue-tetrazolium) 還原成 diformazan，此化合物於 560 nm 下具有最大吸光，所以反應測得之吸光值愈低，則表示消除超氧陰離子之能力愈強。利用相對於空白對

照組之吸光值下降百分比，可判斷樣品消除超氧陰離子能力之強弱。反應式如下：



(yellow)

(blue)

方法：將待測物依序加入等體積之 PMS、NADH 和 NBT 溶液溶於磷酸緩衝液，pH 7.4 均勻混合，於室溫下靜置 5 分鐘後測其  $A_{560}$  之吸光值，並以未添加 PMS 之反應作為空白對照組。

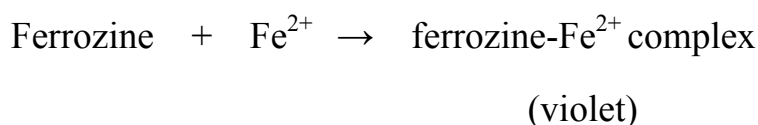
### 3. 過氧化氫之清除能力 (Randall et al., 1989)

原理： $\text{H}_2\text{O}_2$  於 230 nm 具有吸光，若吸光值愈低，則表示過氧化氫之清除能力愈強。利用相對於空白對照組之吸光值下降百分比，可判斷樣品消除過氧化氫能力之強弱。

方法：以 phosphate buffer saline pH 7.4 配製 4 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  並取 3 mL 加入 2 mL 之待測物，均勻混合並靜置 10 分鐘後測其  $A_{230}$  之吸光值，並以未添加  $\text{H}_2\text{O}_2$  之反應作為空白對照組。

### 4. 亞鐵離子之螯合能力 (Decker and Welch, 1990)

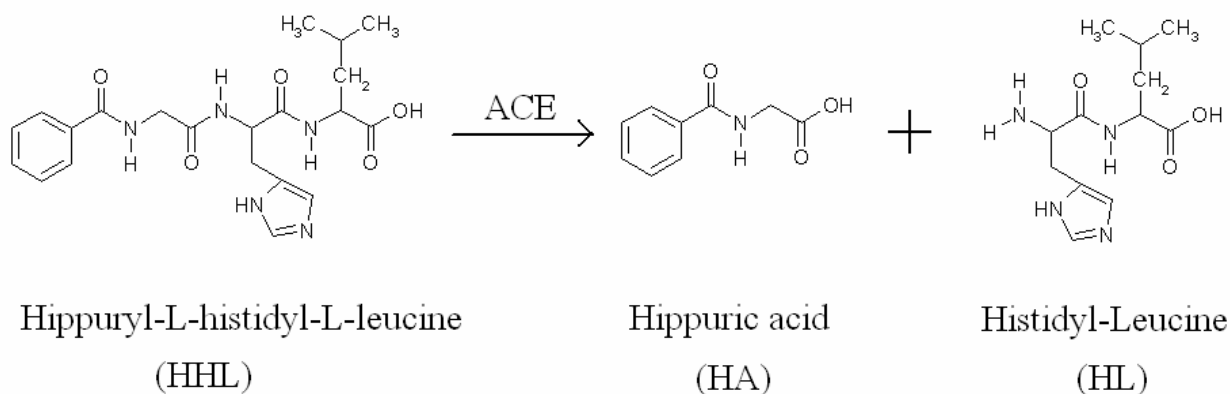
原理：ferrozine 對  $\text{Fe}^{2+}$  具有特異性之結合能力，其所形成之錯合物於 562 nm 具最大之吸收，因此藉由吸光值之變化，得知樣品之螯合亞鐵離子能力。利用相對於空白對照組之吸光值下降百分比，可判斷樣品螯合鐵離子能力之強弱。反應式如下：



方法：取 250  $\mu\text{L}$  之待測物加入 1.75 mL 甲醇，經離心去除沉澱，再加入 250  $\mu\text{L}$  400  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$  和 250  $\mu\text{L}$  2 mM ferrozine 於室溫下靜置反應 10 分鐘，之後測其  $A_{562}$  之吸光值，並以未添加  $\text{FeSO}_4$  之反應作為空白對照組。

## (二) 血管收縮素轉化酶 (ACE) 之抑制活性測定 (Cushman and Cheung, 1971; 蔡, 2004)

原理：以 hippuryl-His-Leu (HHL) 作為 ACE 之受質，具活性之 ACE 可將其分解為馬尿酸 (hippuric acid; HA) 及 His-Leu (HL)，倘若有 ACE 抑制物存在時，HA 及 HL 之生成量將減少。其中 HA 於波長 228 nm 下具最大之吸收，因此利用 HPLC 測定 HA 單位時間之生成量，即可得知各待測物之 ACE 抑制活性。反應式如下：



方法：取 45  $\mu\text{L}$ ，5 mM HHL 溶於含 0.4 M NaCl 之 0.1 M 硼酸鈉緩衝液，pH 8.3 當作受質，加入 5  $\mu\text{L}$  之待測物，於  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  水浴預熱 5 分鐘。再加入 15  $\mu\text{L}$ ，60 mU/mL ACE 溶液，同樣溶於含 0.4 M NaCl 之 0.1 M 硼酸鈉緩衝液，pH 8.3，於  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  水浴下反應 30 分鐘，之後加入 65  $\mu\text{L}$ ，0.1% TFA 終止反應。經離心、過濾後，以 RP-HPLC 進行分析，分析條件為應用 LiChrospher RP-18 column ( $250 \times 4 \text{ mm}$ , 5  $\mu\text{m}$ , Merck, Germany)；流速 0.8 mL/min；移動相為 0.1% TFA 溶於 50% MeOH；偵測波長為 228 nm。ACE 抑制活性百分比計算公式如下：

$$\text{Inhibitory activity (\%)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

- $$\left\{ \begin{array}{l} a = \text{以 d.H}_2\text{O 取代 noni 果汁反應後之 HA 波峰面積} \\ b = \text{noni 果汁反應後之 HA 波峰面積} \end{array} \right.$$

## 八、Noni 果汁中 scopoletin 及其衍生物之分離與鑑定

### (一) Scopoletin 衍生物之酵素水解分析

取 50  $\mu$ L noni 果汁加入  $\beta$ -glucosidase 溶於 0.1 M 醋酸緩衝溶液 pH 5.0，至  $\beta$ -glucosidase 最終濃度為 0.5 mg/mL。於  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  水浴下水解 24 小時。水解後，經離心、過濾，以 RP-HPLC 進行分析，分離條件應用 Synergi 4  $\mu$  Fusion-RP 管柱 (250  $\times$  4.6 mm, Phenomenex, USA)，流速為 1 mL/min；移動相之梯度條件為 0 - 75 min 由 100% d.H<sub>2</sub>O 至 25% acetonitrile，75 - 85 min acetonitrile 由 25% 降至 0%；以串聯 UV (345 nm) 及螢光 (Ex: 335 nm, Em: 455 nm) 之方式進行偵測。

### (二) Scopoletin 及其衍生物之分離純化

以半製備型 VP 250/10 Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> column (MN, Germany) 分離果汁樣品，並分別收集 scopoletin 及其衍生物 A、B、C 之沖提液，經濃縮乾燥後，進行而後之鑑定。RP-HPLC 分離條件：流速為 2 mL/min；移動相之梯度條件為 0 - 75 min 由 100% d.H<sub>2</sub>O 至 25% acetonitrile，75 - 85 min acetonitrile 由 25% 降至 0%；以串聯 UV (345 nm) 及螢光 (Ex: 335 nm, Em: 455 nm) 之方式進行偵測。

### (三) Scopoletin 衍生物之酸水解及醣類分析

取適量乾燥純化之 scopoletin 衍生物 A、B、C，各加入 2 mL，2 N 鹽酸，並於  $95 \pm 1^\circ\text{C}$  水浴下加熱分解。分別加熱 30 秒、1、5、10 和 20 分鐘。分取少量加入等當量數之氫氧化鈉中和，過濾後，即可利用 RP-HPLC 進行分析，分離條件應用 Synergi 4  $\mu$  Fusion-RP 管柱 (250  $\times$  4.6 mm, Phenomenex, USA)，流速為 1 mL/min；移動相之梯度條件為 0 - 75 min 由 100% d.H<sub>2</sub>O 至 25% acetonitrile，75 - 85 min acetonitrile 由 25% 降至 0%；偵測波長為 345 nm。

另外，將完全水解之水解物，利用陰離子交換樹脂 Amberlite IRA-400(OH) 去除鹽酸，經濃縮、過濾後，以 HPLC-RI 進行醣類分析，分析條件為應用 Carbohydrate Column (300  $\times$  7.8 mm, Transgenomic, USA)；流速 0.38 mL/min；移動相為 d.H<sub>2</sub>O；管柱溫度：80°C；利用 RI 進行偵測。

### (四) 分子量測定

純化之 scopoletin 及其衍生物利用液相層析-質譜儀 (M-8000 LC/3DQMS system, Hitachi) 測定其分子量。以半分析型管柱 Minibore Gemini C<sub>18</sub> (250  $\times$  2.00 mm, 5  $\mu$ m, Phenomenex, USA) 分析，20% 甲氰 (acetonitrile) 作為移動相，流速為 0.2 mL/min，偵

測波長為 345 nm。其分子量係用音速氣化噴霧游離法-離子阱質譜 (Sonic Spray Ionization – Ion Trap Mass Spectrometer ; SSI-IT MS) 測定。

#### (五) 核磁共振分析

將純化乾燥之 scopoletin 及其衍生物分別溶於重甲醇 (CD<sub>3</sub>OD) 後，以核磁共振儀測定其氫核磁共振光譜 (<sup>1</sup>H-NMR) 及碳-13 核磁共振光譜 (<sup>13</sup>C-NMR)。光譜解析以化學位移 (chemical shift,  $\delta$ ) 表示。s 表單峰 (singlet)；d 表雙重峰 (doublet)；t 表參重峰 (triplet)；q 表肆重峰 (quartet)；br 表寬峰 (broad)；m 表多重峰 (multiplet)。

### 九、 Noni 果汁中血管收縮素轉化酶抑制物之分離與鑑定

#### (一) 血管收縮素轉化酶抑制物之初步分析

將 noni 果汁以半製備型 VP 250/10 Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> column (MN, Germany) 分離，RP-HPLC 分離條件：流速為 2 mL/min；移動相之梯度條件為 0 - 75 min 由 100% d.H<sub>2</sub>O 至 25% acetonitrile，75 - 85 min acetonitrile 由 25% 降至 0%。分區收集沖提液，每 20 分鐘收集一區分，收集之溶液經濃縮乾燥後以去離子水回溶，經離心並以 0.45  $\mu$ m 濾膜過濾後，分別測定其 ACE 抑制活性。

初步分析，發現前 20 分鐘之沖提液具有較高之 ACE 抑制效果

(表五)，故再進一步收集前 20 分鐘，以每 2 分鐘收集一區分。結果顯示，約 4-12 分鐘之沖提液具有 82% 以上之 ACE 抑制率 (表五)，故推測有效成分為極性物質，其結構有待進一步之分離純化及鑑定。

## (二) 血管收縮素轉化酶抑制物之分離與純化

材料：活性炭

方法：將 noni 果汁利用活性炭進行前處理，以去除部分具高數目如雙鍵一類的官能基之化合物和低極性物質。取 noni 果汁加入活性炭 (1 : 20, w/v)，室溫下，混合攪拌 48 小時，經離心和 2 號濾紙過濾後，經全光譜圖掃描結果(圖十)，而選擇 214 nm 作為偵測波長。以半製備型 VP 250/10 Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> column (MN, Germany) 分離，並收集 ACEI-1、ACEI-2 和 ACEI-3 三個波峰之沖提液 (如圖十一)。分離條件為：

Column : VP 250/10 Nucleosil 100-5 C<sub>18</sub> (MN)

mobile phase : 0.1% TFA

flow rate : 2 mL/min

detection : A<sub>214</sub>

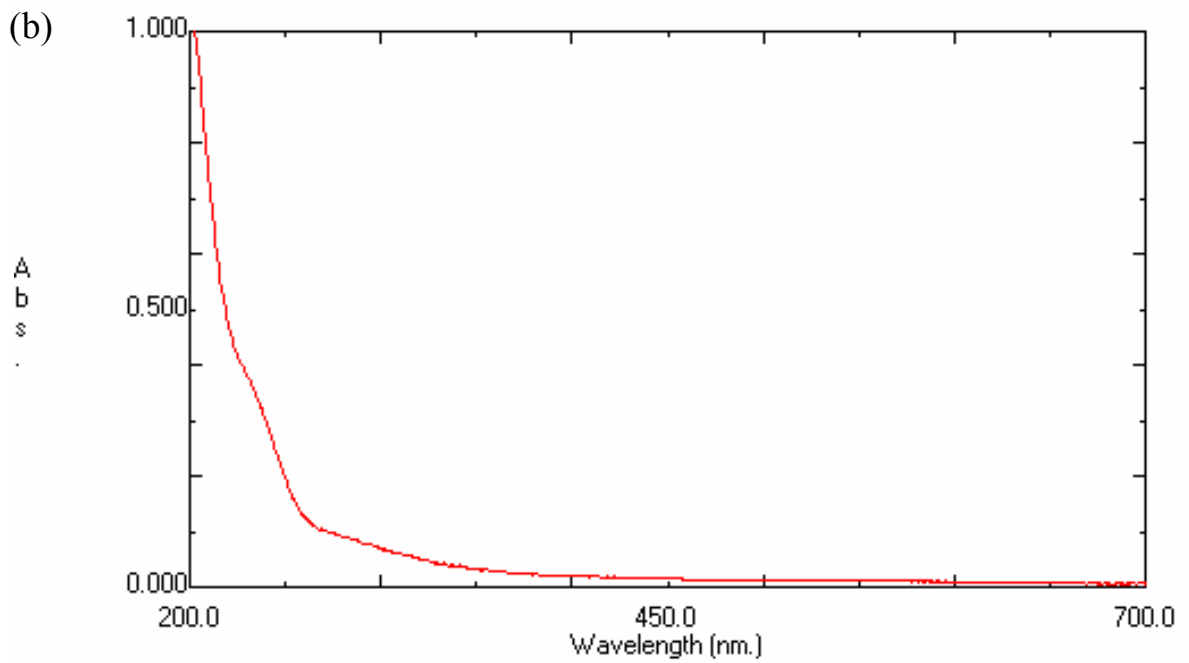
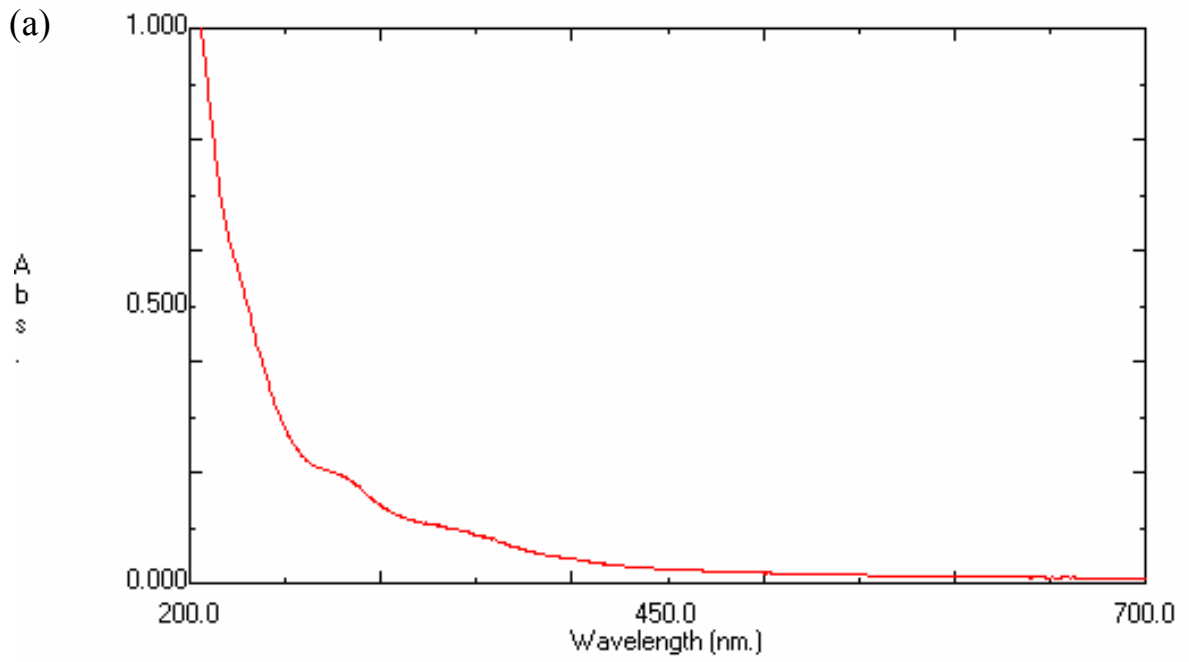


表五、HPLC 分離 noni 果汁之不同區間收集液之 ACE 抑制率

Table 5. ACE inhibition of different fractions of noni juice separated by HPLC chromatography

fraction	inhibition (%)	fraction	inhibition (%)
0-10 min	83.89 ± 1.17	0-2 min	5.08 ± 1.15
10-20 min	76.83 ± 1.31	2-4 min	30.43 ± 2.89
20-30 min	55.65 ± 1.93	4-6 min	93.71 ± 0.91
30-40 min	38.00 ± 2.19	6-8 min	95.88 ± 0.46
40-50 min	29.59 ± 4.28	8-10 min	92.80 ± 0.68
50-60 min	34.65 ± 4.01	10-12 min	82.61 ± 2.16
60-70 min	19.42 ± 5.52	12-14 min	72.81 ± 3.23
70-80 min	22.50 ± 3.60	14-16 min	81.23 ± 1.34
		16-18 min	70.74 ± 0.64
		18-20 min	59.38 ± 1.31

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

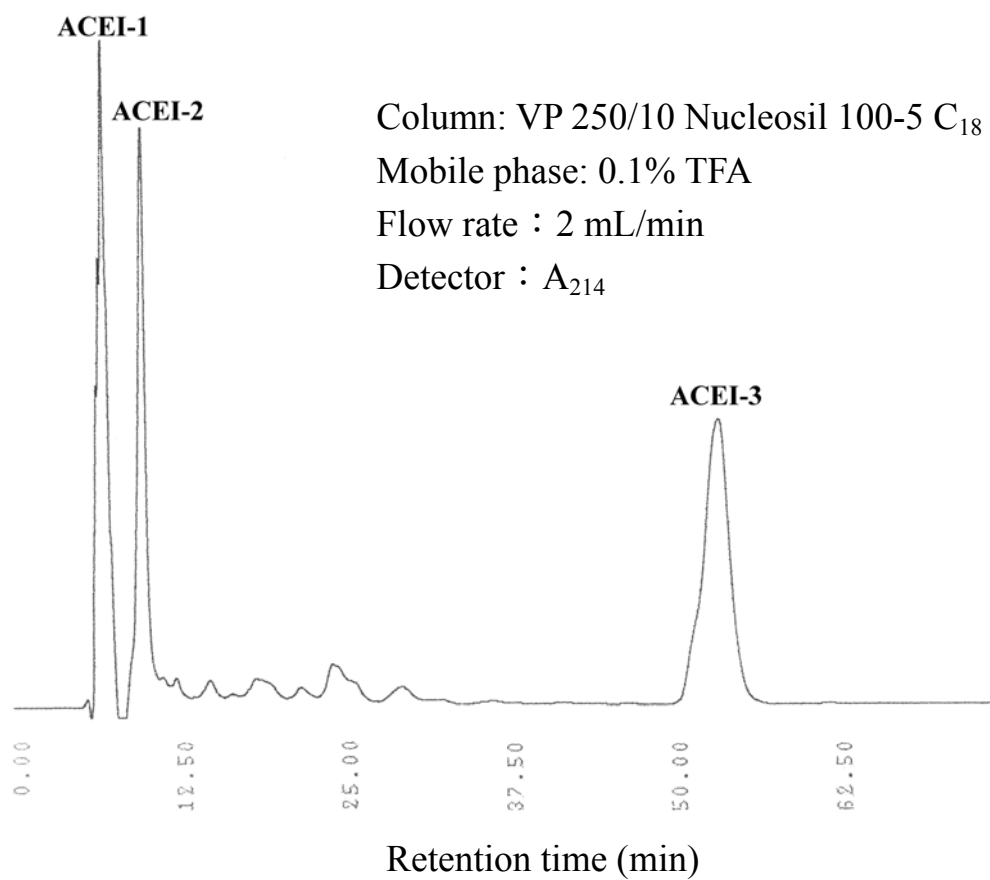


圖十、Noni 果汁之紫外線-可見光光譜圖譜。

Fig.10. UV-visible spectra of noni juice.

(a) Riped noni juice

(b) Riped noni juice treated with activated carbon



圖十一、Noni 果汁經活性碳處理後之半製備型高效液相層析圖。

Fig.11. HPLC chromatogram of noni juice treated by activated carbon.

### (三) 血管收縮素轉化酶抑制物之鑑定

純化乾燥之 ACE 抑制物利用質譜儀 (Fisons VG-Quattro mass spectrometer)，以電灑法-四極棒質譜 (Electrospray Ionization – Quadrupole Mass Spectrometer；ESI-Q MS) 測定其分子量。純化乾燥之 ACE 抑制物溶於重甲醇 (CD<sub>3</sub>OD) 後，以核磁共振儀測定其氫核磁共振光譜 (<sup>1</sup>H-NMR) 及碳-13 核磁共振光譜 (<sup>13</sup>C-NMR)。

### 十、 統計分析

本實驗為實驗數據以平均值 ± 標準偏差 (mean ± standard deviation) 表示，並採套裝統計軟體 PC-SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., USA) 進行完全隨機設計 (completely randomized design; CRD)，處理間安排採用複因子試驗 (factorial experiment)，以變異分析 (analysis of variance；ANOVA) 比較組間差異顯著性， $p < 0.05$  即視為具顯著差異。

## 肆、結果與討論

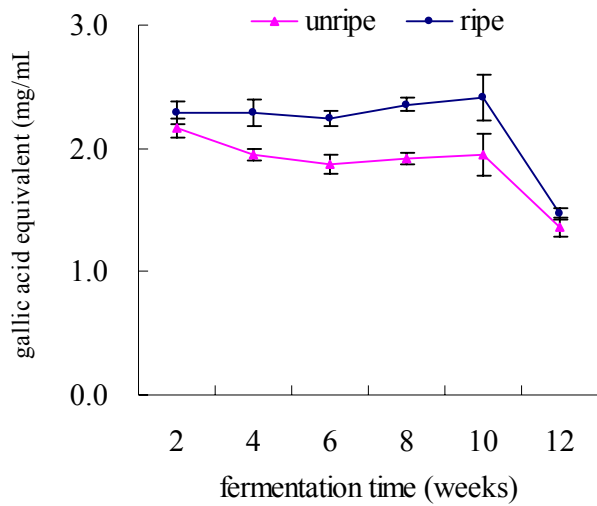
### 一、Noni 果汁之熟成

Noni 果於熟成過程中軟化並產生汁液，果汁由果實中自然地滲出，隨著熟成時間的增長，滲出之果汁顏色由淺褐色漸漸變成深褐色。其中未成熟之果實軟化速度較慢，直至發酵 12 週後，大部分之果實仍顯堅硬尚未完全軟化；而成熟之果實軟化速度較快，熟成 12 週後皆完全軟化，又軟化之果實較有利於汁液之壓榨，並提高果汁之產量。實驗結果，成熟與未成熟之 noni 果經熟成後果汁之產率具有顯著差異 ( $P < 0.05$ )，產率分別為  $13.3 \pm 1.0\%$  和  $9.5 \pm 0.1\%$ 。

### 二、功能性化合物含量測定

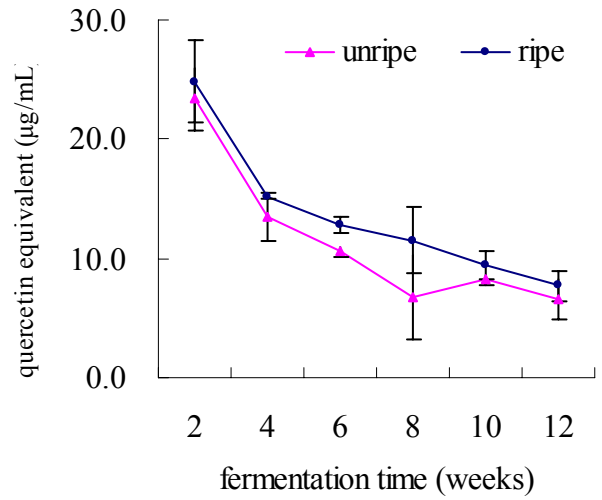
將不同熟成時間取樣之果汁樣品，經功能性化合物含量分析，結果顯示，於熟成過程中，總酚類化合物之含量在末期略微減少 (圖十二)，其中總類黃酮之含量隨著熟成時間的增加而顯著地逐漸減少 (圖十三)，而縮合單寧之含量則有增加的趨勢 (圖十四)，故推測乃因於熟成過程中部分類黃酮聚合成縮合單寧所致。

利用 HPLC 分離 noni 果汁，得到 scopoletin 之滯留時間 ( $t_R$ ) 約為 52.0 min，以 scopoletin 標準品添加於樣品後共層析 (co-chromatography) 而確定之。結果顯示，scopoletin 之含量隨著熟成時間的增加並無顯著

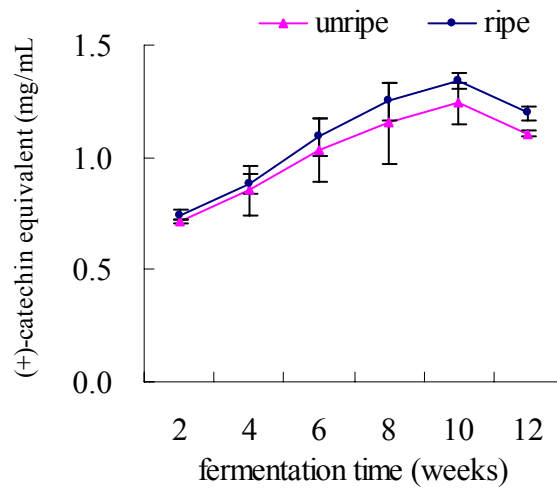


圖十二、Noni 果汁中總酚類化合物之含量。

Fig.12. The content of total phenolic compounds.



圖十三、Noni 果汁中類黃酮之含量。  
Fig.13. The content of total flavonoids.



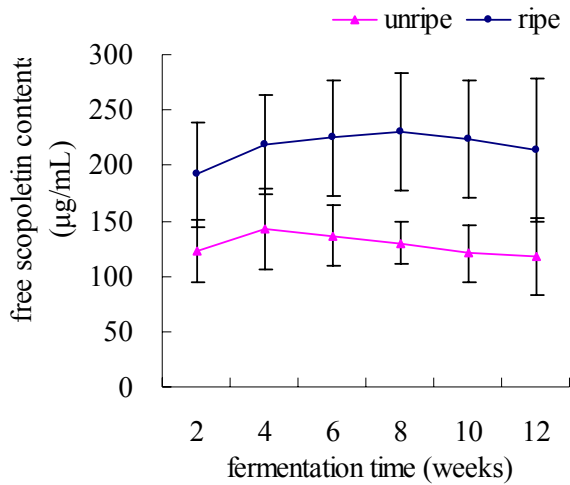
圖十四、Noni 果汁中縮合單寧之含量。  
Fig.14. The content of condensed tannin.

的差異 (圖十五)，而其衍生物與 scopoletin 之含量比皆隨著熟成時間的增加而顯著地減少 (圖十六、十七、十八)(附錄五、六)。推測，scopoletin 之衍生物於發酵期間會降解為 scopoletin，但 scopoletin 仍會再持續降解成其他小分子，故 scopoletin 之含量並無顯著地變化。再者，於成熟果實所得之果汁中，總酚類化合物之含量顯著地高過於未成熟之果汁，尤其 scopoletin 之含量更遠高過於未成熟之果汁。

攝取葡萄柚可增進某些醫藥之生物利用性，而提高數倍之藥效，可能歸功於果汁中的 scopoletin (Runkel and Moeller et al., 1997)，因此有人建議葡萄柚汁與醫藥一併服用，以提高藥效，降低藥物之服用劑量及醫藥費用 (Yee et al., 1995)；亦有人建議避免兩者同時服用，以免血液中之藥劑過猛而導致傷害 (Bailey et al., 1995)。又經初步分析發現，noni 果汁中 scopoletin 之含量 ( $213.95 \pm 64.42 \mu\text{g/mL}$ ) 遠比市售葡萄柚汁之含量 ( $1.40 \pm 0.36 \mu\text{g/mL}$ ) 多出一百多倍，具有顯著之差異 ( $P < 0.05$ ) (表六)。

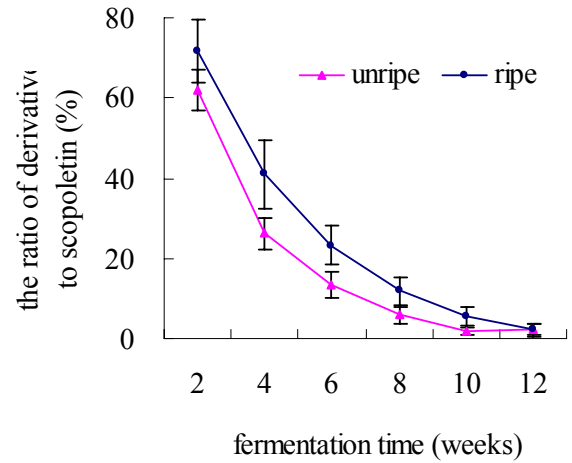
### 三、物化性質

Noni 果汁呈深褐色，pH 值約為 4.0。於熟成過程中，noni 果汁之 pH 值並無顯著地變化；然成熟果實所得之果汁 pH 值皆略低於未成熟果實所得之果汁 (圖十九)。



圖十五、Noni 果汁中 scopoletin 之含量。

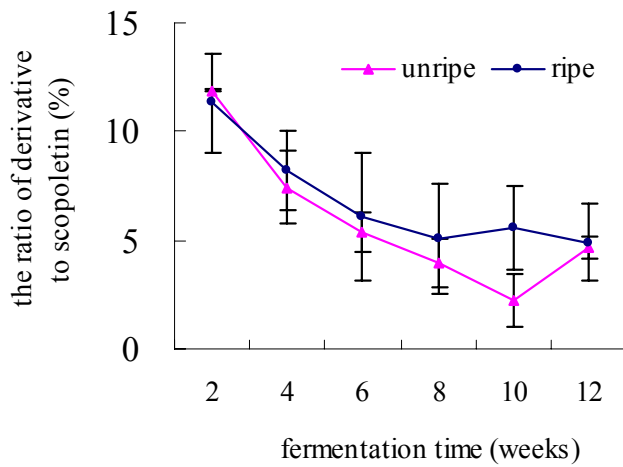
Fig.15. The content of scopoletin.



圖十六、Noni 果汁中 scopoletin 衍生

物 A 之含量。

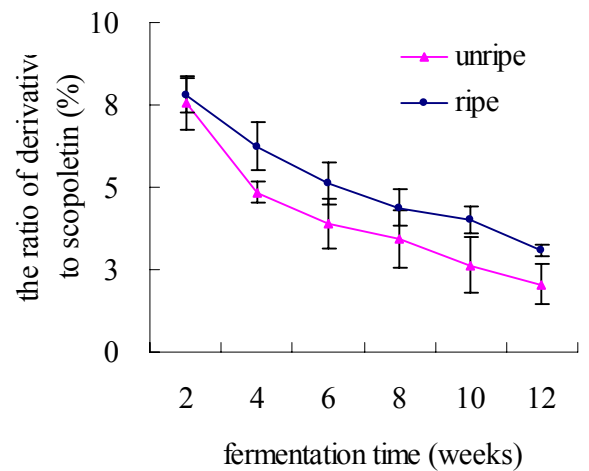
Fig.16. The content ratio of scopoletin derivative A.



圖十七、Noni 果汁中 scopoletin 衍生

物 B 之含量。

Fig.17. The content ratio of scopoletin derivative B.



圖十八、Noni 果汁中 scopoletin 衍生

物 C 之含量。

Fig.18. The content ratio of scopoletin derivative C.



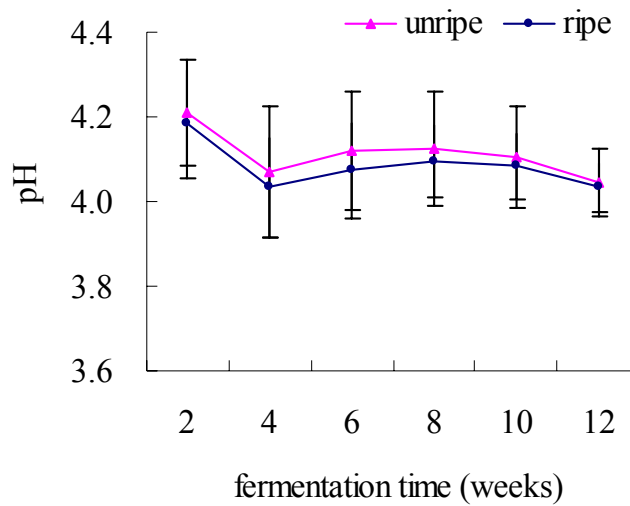
表六、葡萄柚汁與 noni 果汁中 scopoletin 之含量

Table 6. The content of scopoletin in grapefruit juice and noni fruit juice

sample	scopoletin ( $\mu\text{g/mL}$ )
Grapefruit juice (市售瓶裝)	$1.40 \pm 0.36^b$
Noni juice	
Exp. (unripe, 12 wks)	$117.63 \pm 34.15^a$
Exp. (ripe, 12 wks)	$213.95 \pm 64.42^a$

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation (n = 3).

<sup>a-b</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



圖十九、Noni 果汁之 pH 值變化。

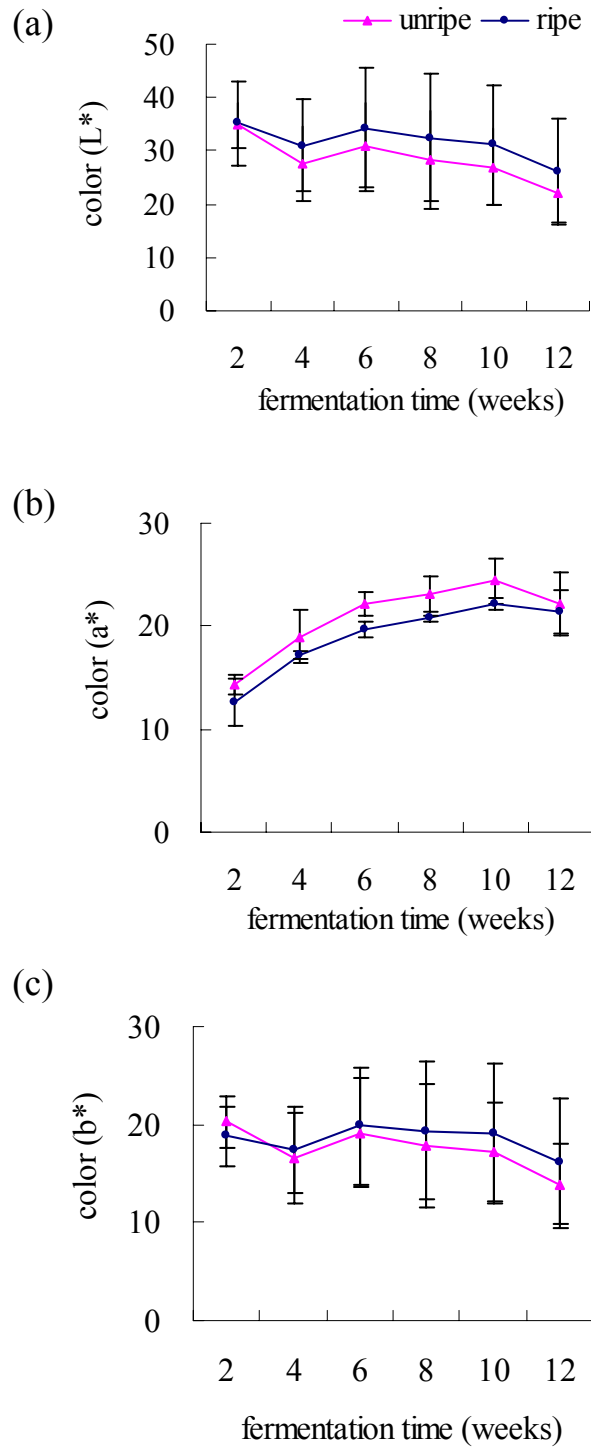
Fig.19. The pH values of noni juice.

顏色測定結果顯示，未成熟與成熟果實所得果汁之間，其 L\*、a\*、b\* 值皆無顯著差異；又成熟之果汁 a\* 值則略低未成熟之果汁。於熟成過程中，僅 a\* 值具有顯著之差異存在，且隨著熟成時間增加而增加，表紅色值越趨增加（圖二十、附錄七），而 noni 果汁於熟成過程中亦由淺褐色變成深褐色。

#### 四、生理活性

##### （一）抗氧化性

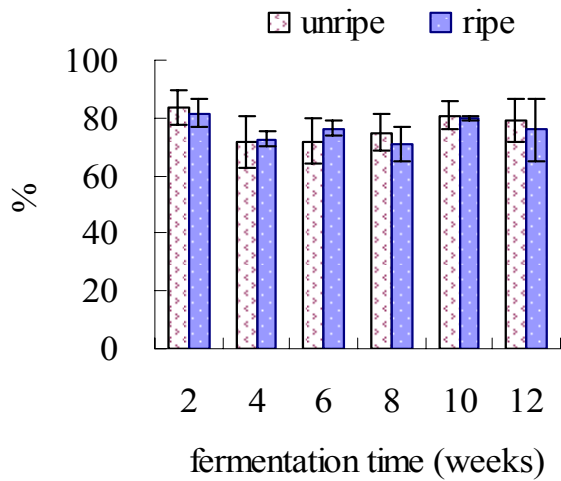
抗氧化能力分析結果顯示，noni 果汁對 DPPH 自由基與超氧陰離子皆具極佳之清除能力，分別為約 80% 及 95%。成熟與未成熟果實所得之果汁間，DPPH 自由基與超氧陰離子之清除能力皆無顯著差異；超氧陰離子之清除能力於熟成過程中有逐漸下降之趨勢（圖二十一、二十二、附錄八）。過氧化氫之消除能力於熟成過程中有顯著地增強趨勢，且成熟果實熟成所得之果汁對於過氧化氫之消除能力較未成熟果汁為佳（圖二十三）。就亞鐵離子螯合能力而言，於熟成過程中螯合能力皆有降低的趨勢，且成熟果實所得之果汁對於亞鐵離子之螯合能力略差於未成熟之果汁（圖二十四）。可見 noni 果汁之抗氧化能力主要歸功於自由基及超氧陰離子之清除能力。



圖二十、Noni 果汁之顏色變化。

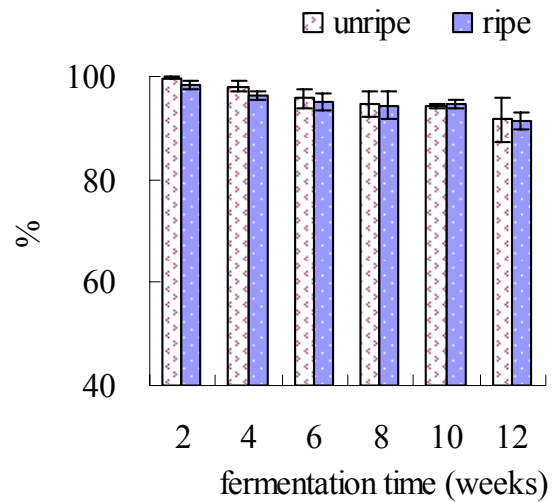
Fig.20. The color of noni juice.

(a) L\* (b) a\* (c) b\*.



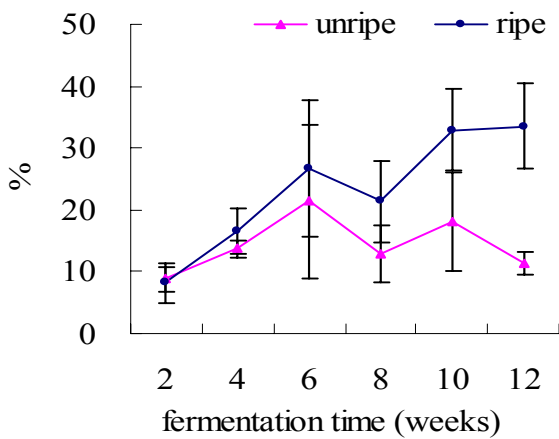
圖二十一、Noni 果汁之 DPPH 自由基捕捉能力。

Fig.21. DPPH radical scavenging activities of noni juice.



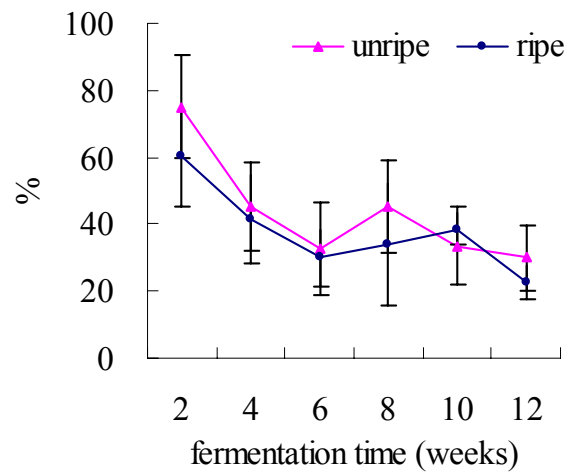
圖二十二、Noni 果汁之超氧陰離子清除能力。

Fig.22. Superoxide anion scavenging activities of noni juice.



圖二十三、Noni 果汁之過氧化氫清除能力。

Fig.23. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging activities of noni juice.



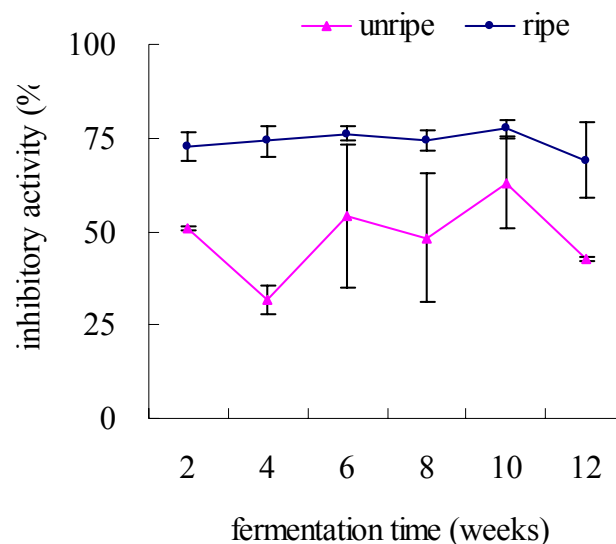
圖二十四、Noni 果汁之亞鐵離子螯合能力。

Fig.24. Fe<sup>2+</sup> chelating activities of noni juice.

## (二) 血管收縮素轉化酶抑制活性

ACE 抑制活性之測定部分顯示，noni 果汁確實具有 ACE 之抑制效果。於熟成過程中，noni 果汁對 ACE 之抑制活性並無顯著差異 (圖二十五)(附錄九)；但成熟果實所得之果汁其抑制活性皆顯著地大於未成熟之果汁 ( $P < 0.05$ )。而成熟果實所得之果汁其 ACE 抑制率可達 70% 以上。

綜觀熟成過程中之各項分析發現，noni 果汁熟成十二週之總酚類化合物含量、縮合單寧含量、超氧陰離子清除能力以及 ACE 抑制活性皆有顯著地下降。因此，推論熟成時間超過十週則功能性物質亦開始降解，同時影響其抗氧化能力與 ACE 抑制活性，故熟成十週應為 noni 果汁之最佳熟成時間。



圖二十五、Noni 果汁之 ACE 抑制能力。

Fig.25. ACE inhibitory activities of noni juice.

## 五、 數種市售 noni 果汁功能性成分及抗氧化性之比較

針對不同產地之十種市售 noni 果汁其功能性化合物含量、抗氧化性及 ACE 抑制活性進行分析。由於品種、產地、熟成時間及添加物等因素之影響，不同產地所生產的 noni 果汁之酚類化合物含量皆具有顯著地差異，其酚類化合物含量之主要差異在於類黃酮及縮合單寧之含量，尤其以類黃酮之含量差異最多 (表七)。此外，由於多數市售 noni 果汁之添加物干擾層析的結果，致使 scopoletin 之含量未能達到確實之定量，故在此並未比較各果汁中 scopoletin 之含量差異。

於抗氧化能力方面，各市售之 noni 果汁與實驗組之測定結果相近，除了對於過氧化氫之清除與亞鐵離子之螯合能力差異較明顯外，皆具有良好之自由基和超氧陰離子之清除能力，分別可達到 62% 和 83% 以上 (表八)。

ACE 抑制活性方面，市售 noni 果汁大部分皆具有良好之抑制效果，約有半數可達 60% 以上之抑制率 (表八)。少數市售 noni 果汁，如 sample I，添加其它果汁，如藍莓汁和葡萄汁等，以改善風味，因而影響其有效成分之含量，故所測得之 ACE 抑制率較低。

## 六、 Noni 果汁中 scopoletin 及其衍生物之分析與鑑定

### (一) Scopoletin 及其衍生物之分析

表七、市售 noni 果汁之功能性成分組成之比較

Table 7. Comparison on the functional compounds contents of noni juice on the market

Sample	Total phenolic compounds (mg/mL)	Flavonoids ( $\mu$ g/mL)	Condensed tannin (mg/mL)
A	$1.70 \pm 0.009^b$	$44.34 \pm 0.010^a$	$0.90 \pm 0.016^h$
B	$1.87 \pm 0.002^a$	$12.77 \pm 0.003^{cd}$	$1.15 \pm 0.013^d$
C	$1.21 \pm 0.013^f$	$10.35 \pm 0.021^{de}$	$0.94 \pm 0.003^g$
D	$1.12 \pm 0.004^g$	$17.60 \pm 0.009^b$	$0.73 \pm 0.008^j$
E	$1.74 \pm 0.009^b$	$17.16 \pm 0.009^b$	$1.53 \pm 0.021^a$
F	$1.60 \pm 0.007^c$	$10.60 \pm 0.007^{de}$	$1.39 \pm 0.012^b$
G	$1.31 \pm 0.010^e$	$9.62 \pm 0.007^{ef}$	$0.77 \pm 0.005^i$
H	$1.42 \pm 0.011^d$	$14.19 \pm 0.018^c$	$1.00 \pm 0.006^f$
I	$1.13 \pm 0.004^g$	$11.81 \pm 0.004^{cde}$	$0.72 \pm 0.004^j$
J	$1.55 \pm 0.011^c$	$18.41 \pm 0.008^b$	$1.01 \pm 0.006^f$
Exp. (unripe, 12 wks)	$1.36 \pm 0.076^e$	$6.60 \pm 1.732^g$	$1.11 \pm 0.013^e$
Exp. (ripe, 12wks)	$1.47 \pm 0.052^d$	$7.69 \pm 1.281^{fg}$	$1.20 \pm 0.030^c$

Each value is the mean  $\pm$  standard deviation (n = 3).

<sup>a-j</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

表八、市售 noni 果汁之生理活性

Table 8. Antioxidant activity and ACE inhibition of noni juice on the market

sample	DPPH scavenging (%)	O <sub>2</sub> <sup>-·</sup> scavenging (%)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> scavenging (%)	Fe <sup>2+</sup> chelating (%)	ACE inhibition (%)
A	66.47 ± 0.012 <sup>de</sup>	88.68 ± 0.002	48.65 ± 0.017 <sup>d</sup>	13.24 ± 0.006 <sup>bc</sup>	70.77 ± 1.284 <sup>ab</sup>
B	73.66 ± 0.012 <sup>abcd</sup>	98.11 ± 0.005	31.89 ± 0.003 <sup>a</sup>	37.73 ± 0.019 <sup>bc</sup>	58.69 ± 1.851 <sup>bcd</sup>
C	71.37 ± 0.022 <sup>bcd</sup>	92.45 ± 0.007	27.57 ± 0.002 <sup>de</sup>	8.36 ± 0.009 <sup>bc</sup>	20.32 ± 9.575 <sup>g</sup>
D	69.45 ± 0.039 <sup>cde</sup>	90.57 ± 0.002	24.32 ± 0.002 <sup>d</sup>	10.42 ± 0.006 <sup>bc</sup>	62.92 ± 2.887 <sup>abcd</sup>
E	79.60 ± 0.022 <sup>a</sup>	94.34 ± 0.001	32.97 ± 0.009 <sup>b</sup>	30.05 ± 0.012 <sup>bc</sup>	54.20 ± 1.540 <sup>cde</sup>
F	78.63 ± 0.014 <sup>ab</sup>	83.02 ± 0.002	91.89 ± 0.012 <sup>e</sup>	2.85 ± 0.032 <sup>a</sup>	76.39 ± 1.490 <sup>a</sup>
G	76.56 ± 0.036 <sup>abc</sup>	86.79 ± 0.004	29.73 ± 0.006 <sup>de</sup>	8.48 ± 0.007 <sup>bc</sup>	60.47 ± 0.747 <sup>bcd</sup>
H	74.10 ± 0.037 <sup>abcd</sup>	99.98 ± 0.006	31.89 ± 0.005 <sup>c</sup>	22.07 ± 0.007 <sup>bc</sup>	49.10 ± 4.896 <sup>de</sup>
I	62.57 ± 0.002 <sup>e</sup>	96.23 ± 0.002	14.05 ± 0.003 <sup>e</sup>	4.00 ± 0.017 <sup>c</sup>	31.64 ± 4.396 <sup>fg</sup>
J	71.06 ± 0.019 <sup>bcd</sup>	90.57 ± 0.001	26.49 ± 0.009 <sup>d</sup>	10.33 ± 0.004 <sup>bc</sup>	25.44 ± 4.331 <sup>g</sup>
Exp.(unripe, 12 wks)	78.93 ± 7.425 <sup>ab</sup>	91.69 ± 4.228	11.36 ± 1.874 <sup>b</sup>	30.02 ± 9.758 <sup>c</sup>	42.64 ± 0.350 <sup>ef</sup>
Exp.(ripe, 12 wks)	75.92 ± 10.669 <sup>abc</sup>	91.47 ± 1.544	33.53 ± 6.838 <sup>c</sup>	22.84 ± 5.096 <sup>bc</sup>	69.12 ± 9.910 <sup>abc</sup>

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

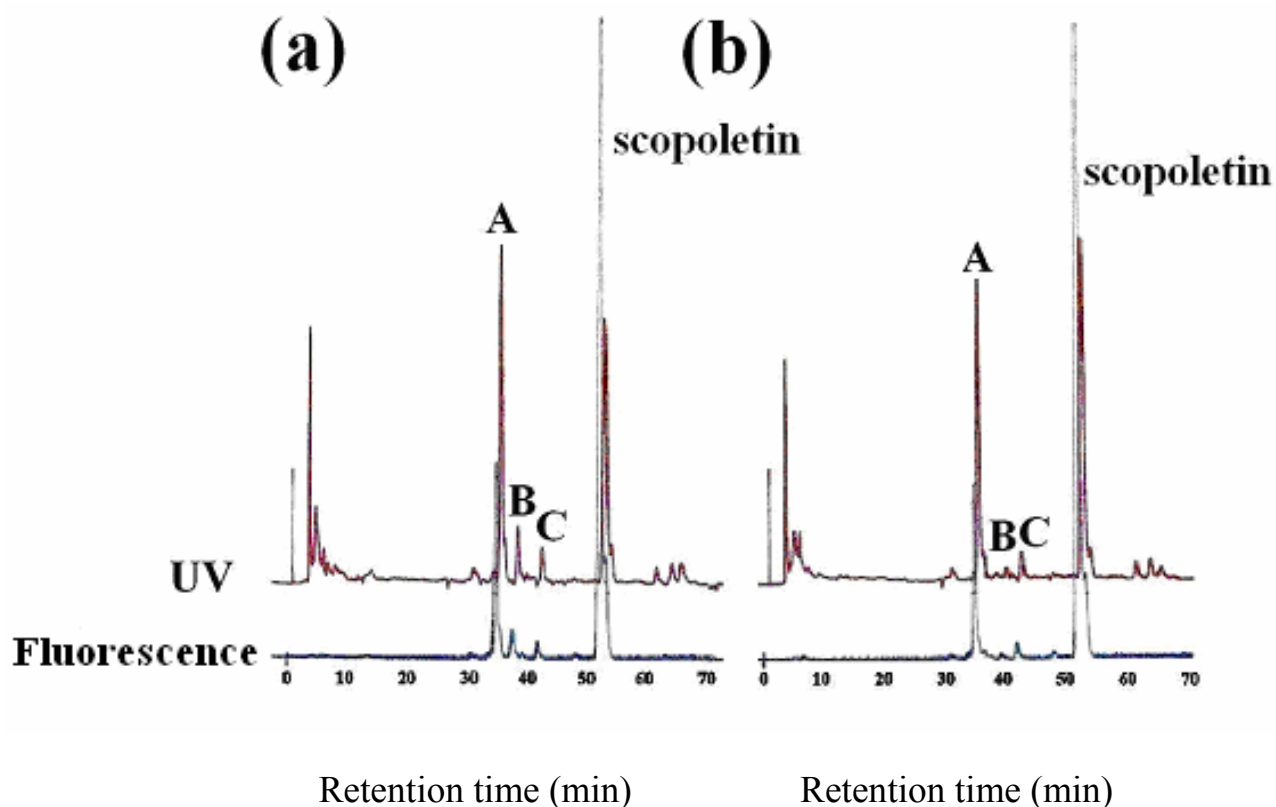
<sup>a-g</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).



Noni 果汁之高效液相層析分析，以串聯 UV 及螢光之方式進行偵測，結果如圖二十六之(a)，其中 scopoletin 之滯留時間( $t_R$ ) 約為 52.0 min，以 scopoletin 標準品添加於樣品後共層析 (co-chromatography) 而確定之。螢光偵測結果顯示，共有四個波峰具此螢光特性，故推測 noni 果汁中可能含有另外三種 scopoletin 之衍生物，分別為衍生物 A、B 與 C ( $t_R$  分別為 35.0、37.5、42.0 min)。將 noni 果汁以  $\beta$ -glucosidase 水解 24 小時，於相同條件下，利用 HPLC 分離。分析結果顯示，經  $\beta$ -glucosidase 水解後，scopoletin 衍生物 A、B、C 波峰面積皆減少並產生 scopoletin (圖二十六之(b))，故推測其為 scopoletin 以  $\beta$ -糖苷鍵 ( $\beta$ -glycosidic bond) 鍵結某種醣類而成。

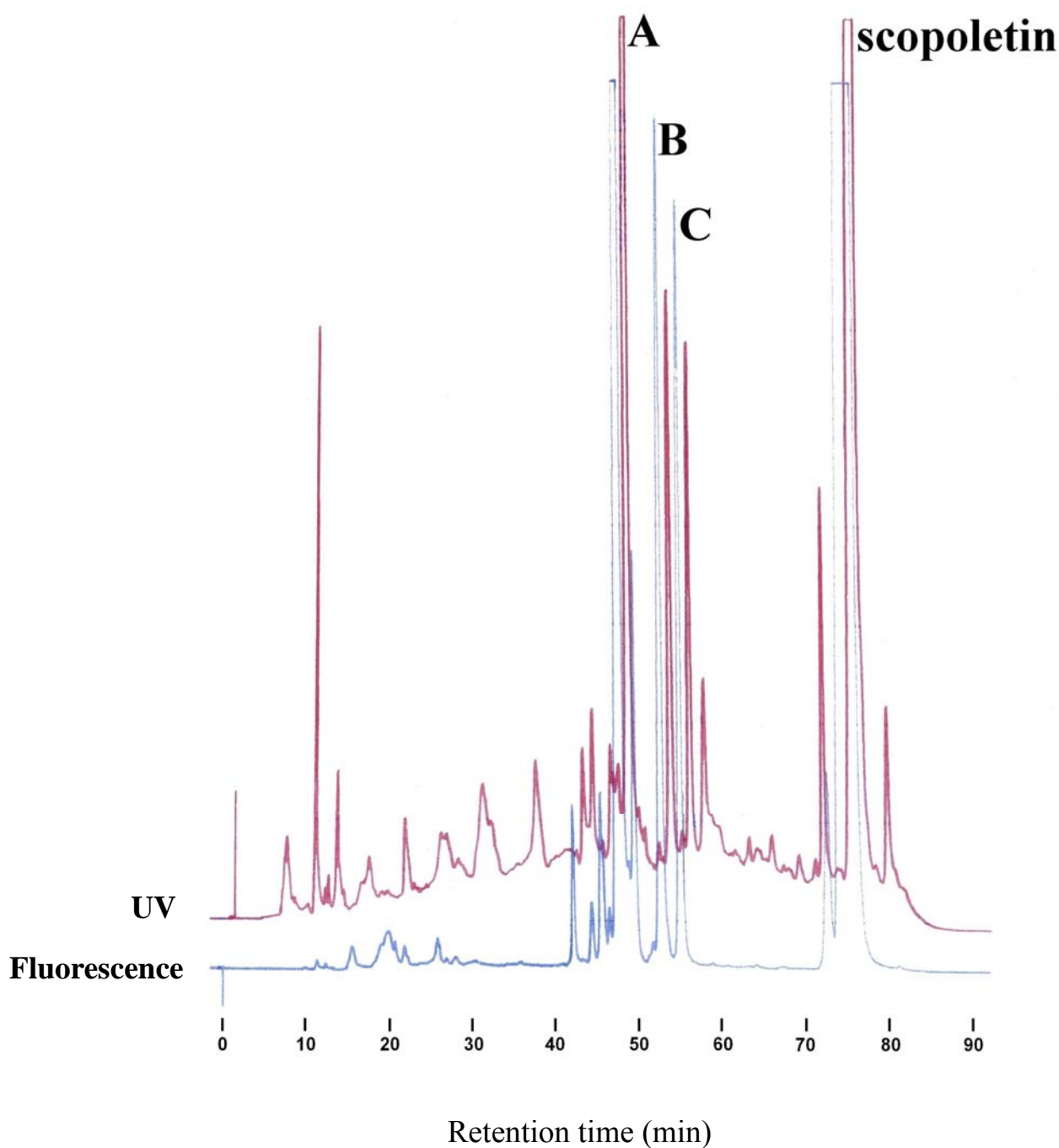
利用半製備型管柱分取與純化 scopoletin 及其衍生物 (圖二十七)。重複分離、純化步驟，並濃縮後獲得純化物質 scopoletin 及其衍生物 A、B 和 C (圖二十八)。將所得之純化物以 LC-mass 與 NMR 進行鑑定，並分別以酸進行水解，以鑑定鍵結之醣類。

經酸水解後，scopoletin 衍生物 A 和 C 可被水解並產生兩種物質(圖二十九、三十)，其中之一為 scopoletin，另一個物質則為衍生物 A 或 C 脫去一個單醣所產生，故推測其可能為 scopoletin 鍵結兩個單醣而成。然而，scopoletin 衍生物 B，經酸水解後，僅產生 scopoletin (圖三十一)，故推測其為 scopoletin 鍵結一個單醣所形成。



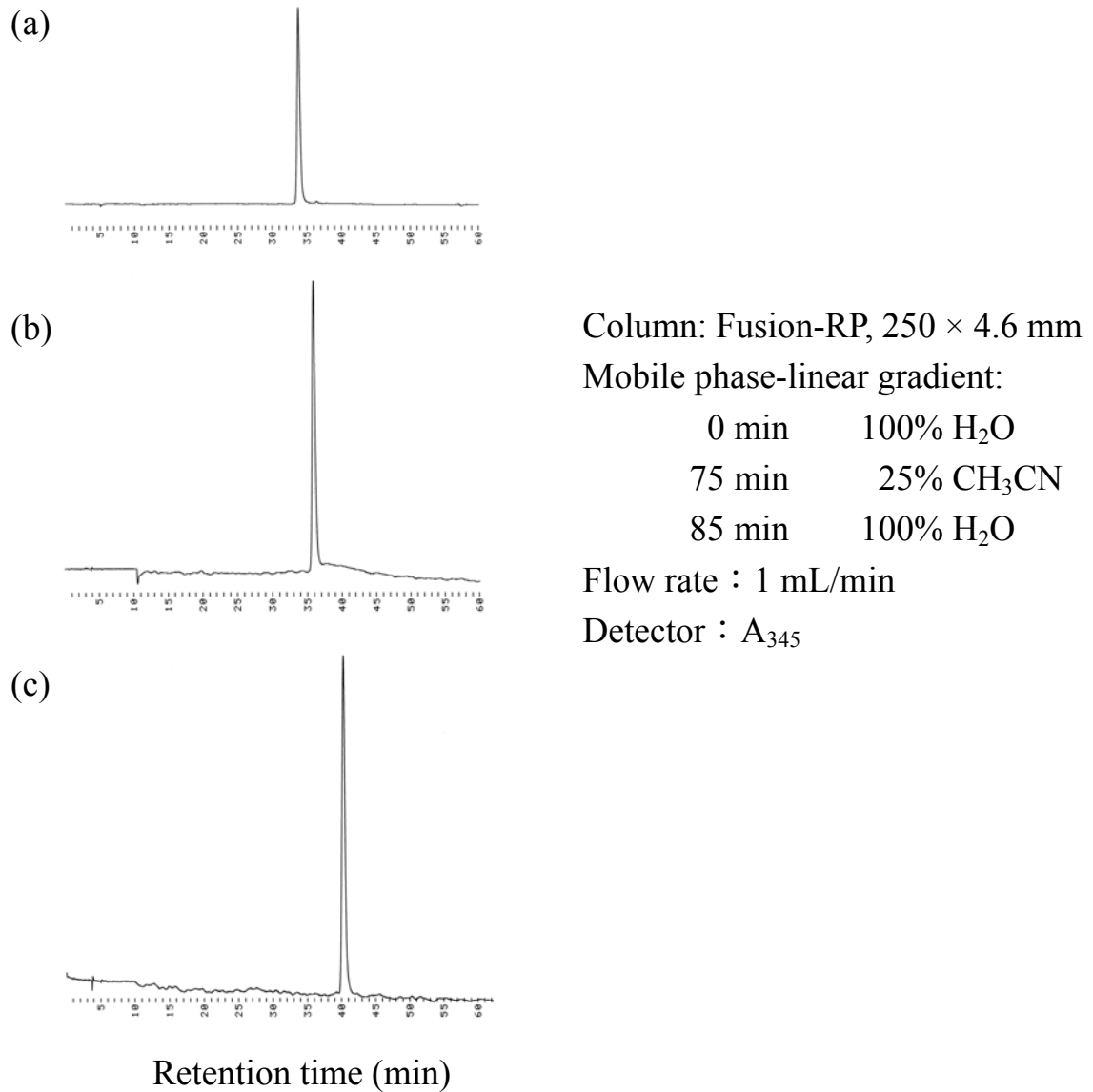
圖二十六、Noni 果汁以  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解前後之層析圖，經 HPLC 分析並串聯 UV 及螢光進行偵測。上圖為 UV 偵測圖譜，下圖為螢光偵測圖譜；左圖(a) 為酵素水解前之分析圖，右圖(b) 為水解後之層析圖。其中 A 為 scopoletin 衍生物 A；B 為 scopoletin 衍生物 B；C 為 scopoletin 衍生物 C。

Fig.26. HPLC chromatograms of noni juice before and after hydrolyzed by  $\beta$ -glucosidase. (a) is the chromatogram of noni juice before hydrolyzed; (b) is the chromatogram of noni juice after hydrolyzed. Among them peak A is scopoletin derivative A; peak B is scopoletin derivative B; peak C is scopoletin derivative C.



圖二十七、Noni 果汁之半製備型高效液相層析圖。上圖為 UV 偵測圖譜，下圖為螢光偵測圖譜。其中 A 為 scopoletin 衍生物 A；B 為 scopoletin 衍生物 B；C 為 scopoletin 衍生物 C。

Fig.27. Semi-preparative HPLC chromatograms of noni juice.



圖二十八、Scopoletin 衍生物之分析型高效液相層析圖。

(a) scopoletin 衍生物 A ( $t_R$ : 35.0 min)

(b) scopoletin 衍生物 B ( $t_R$ : 37.5 min)

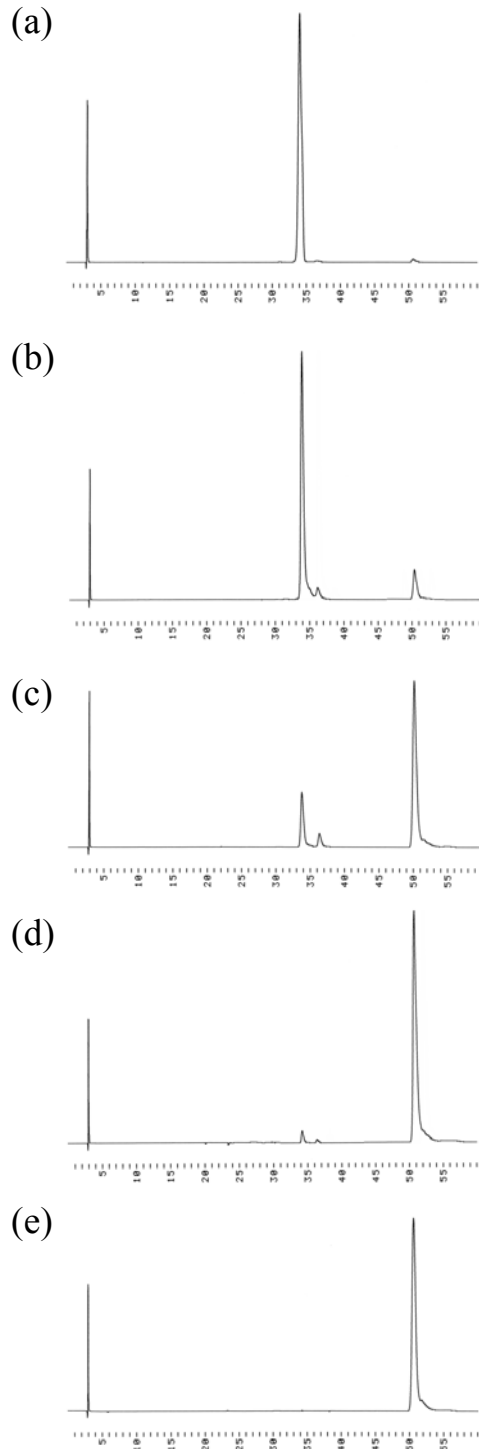
(c) scopoletin 衍生物 C ( $t_R$ : 42.0 min)

Fig.28. Analytical HPLC chromatograms of scopoletin derivatives.

(a) scopoletin derivative A ( $t_R$ : 35.0 min)

(b) scopoletin derivative B ( $t_R$ : 37.5 min)

(c) scopoletin derivative C ( $t_R$ : 42.0 min)



圖二十九、Scopoletin 衍生物 A  
酸水解物之層析圖。

Fig.29. HPLC chromatograms for

scopoletin derivative A  
acid hydrolyte.

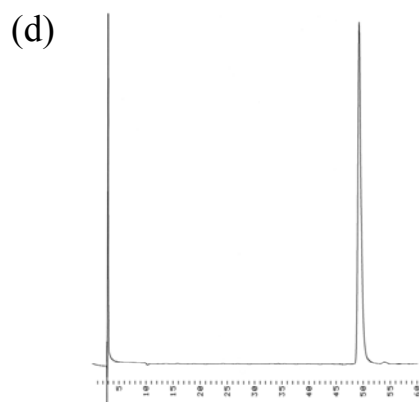
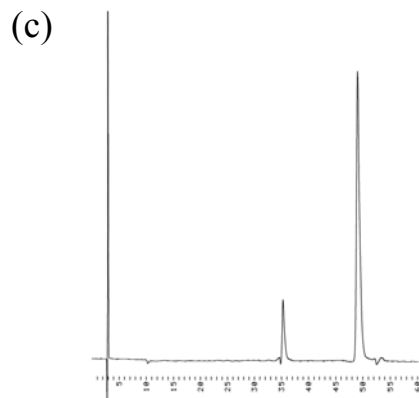
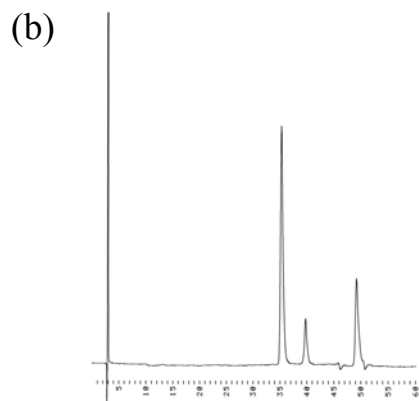
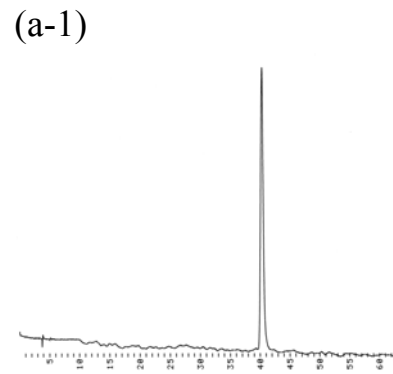
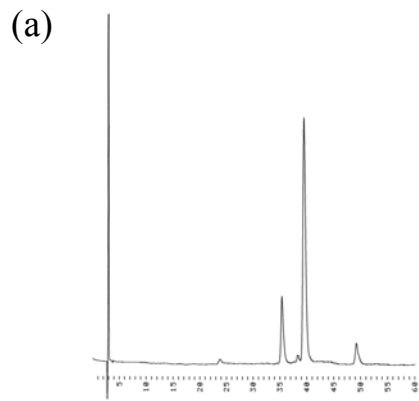
(a) hydrolysis 0 min

(b) hydrolysis 1 min

(c) hydrolysis 5 min

(d) hydrolysis 10 min

(e) hydrolysis 20 min



圖三十、Scopoletin 衍生物 C 酸水解  
物之層析圖。

Fig.30. HPLC chromatograms for  
scopoletin derivative C acid  
hydrolyte.

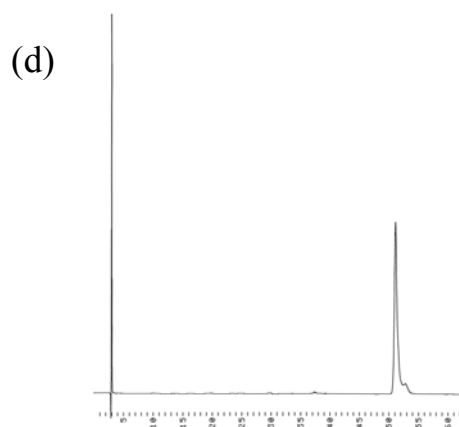
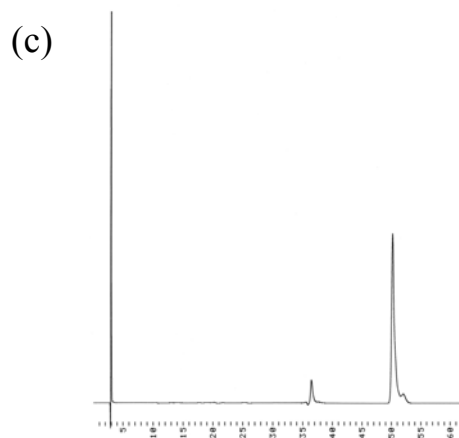
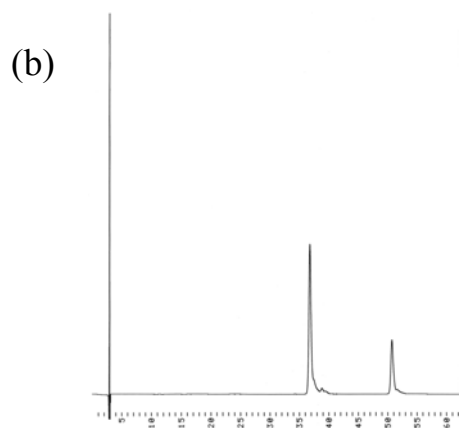
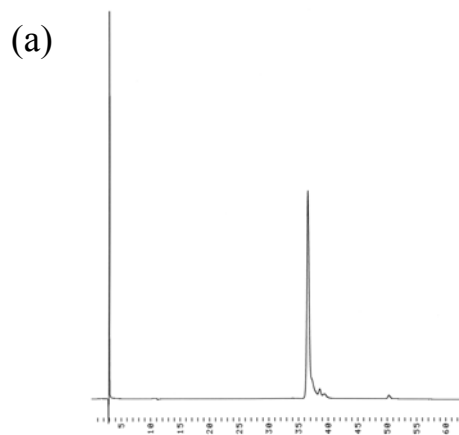
(a-1) before acid hydrolysis

(a) hydrolysis 0 min

(b) hydrolysis 1 min

(c) hydrolysis 5 min

(d) hydrolysis 10 min



圖三十一、Scopoletin 衍生物 B  
酸水解物之層析圖。

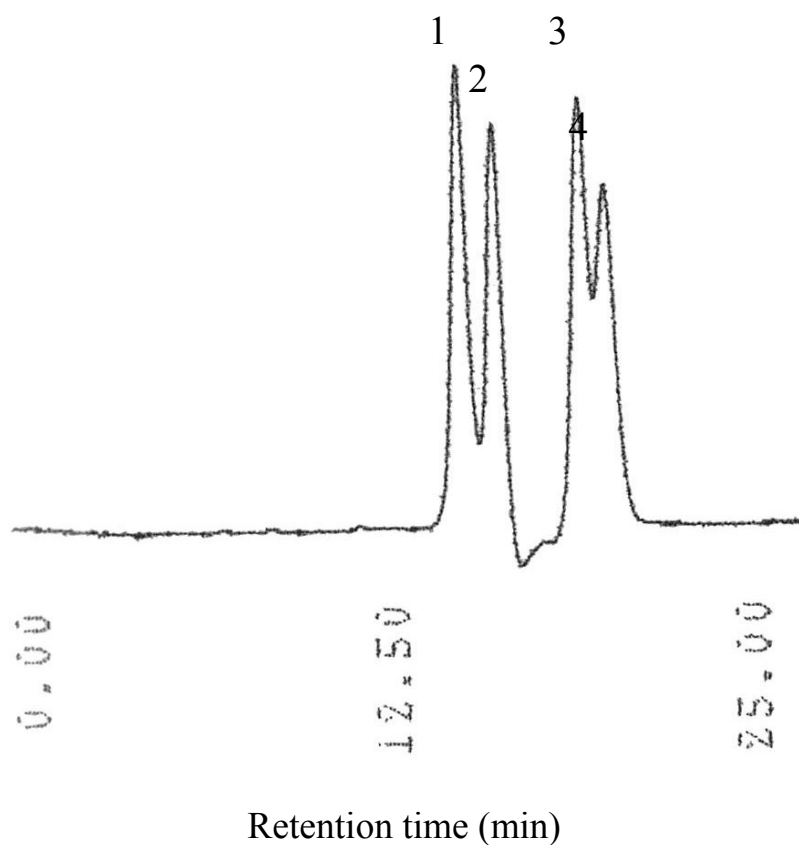
Fig.31. HPLC chromatograms for  
scopoletin derivative B  
acid hydrolyte.

- (a) hydrolysis 0 min
- (b) hydrolysis 1 min
- (c) hydrolysis 5 min
- (d) hydrolysis 10 min

又 scopoletin 衍生物 A 和 C 脫去一個單醣後，所得到之物質滯留時間與 scopoletin 衍生物 B 相符，故推測 scopoletin 衍生物 A 和 C 為 scopoletin 衍生物 B 再鍵結一個單醣所形成。

將酸水解物去除鹽酸後，利用 carbohydrate 管柱分離，以 RI 偵測器進行偵測，並以標準之 glucose、xylose、arabinose 及 mannose 作為對照，四種標準單醣共層析結果如圖三十二。經醣類分析結果顯示，scopoletin 衍生物 A 和 B 所鍵結之醣類經過分析比對得知為葡萄糖 (glucose) (圖三十三、三十四)，故推測 scopoletin 衍生物 A 係由 scopoletin 鍵結二個葡萄糖而成，而 scopoletin 衍生物 B 則由 scopoletin 鍵結一個葡萄糖而成。至於，其鍵結位置與型式則將由核磁共振分析進一步確定。Scopoletin 衍生物 C 之分析結果與所選用之標準單醣滯留時間不同 (圖三十五)，故推測其為其它種單醣。





圖三十二、四種單醣混合共層析之層析圖。

波峰 1：葡萄糖 (250  $\mu\text{g/mL}$ )

波峰 2：木糖 (250  $\mu\text{g/mL}$ )

波峰 3：阿拉伯糖 (250  $\mu\text{g/mL}$ )

波峰 4：甘露糖 (250  $\mu\text{g/mL}$ )

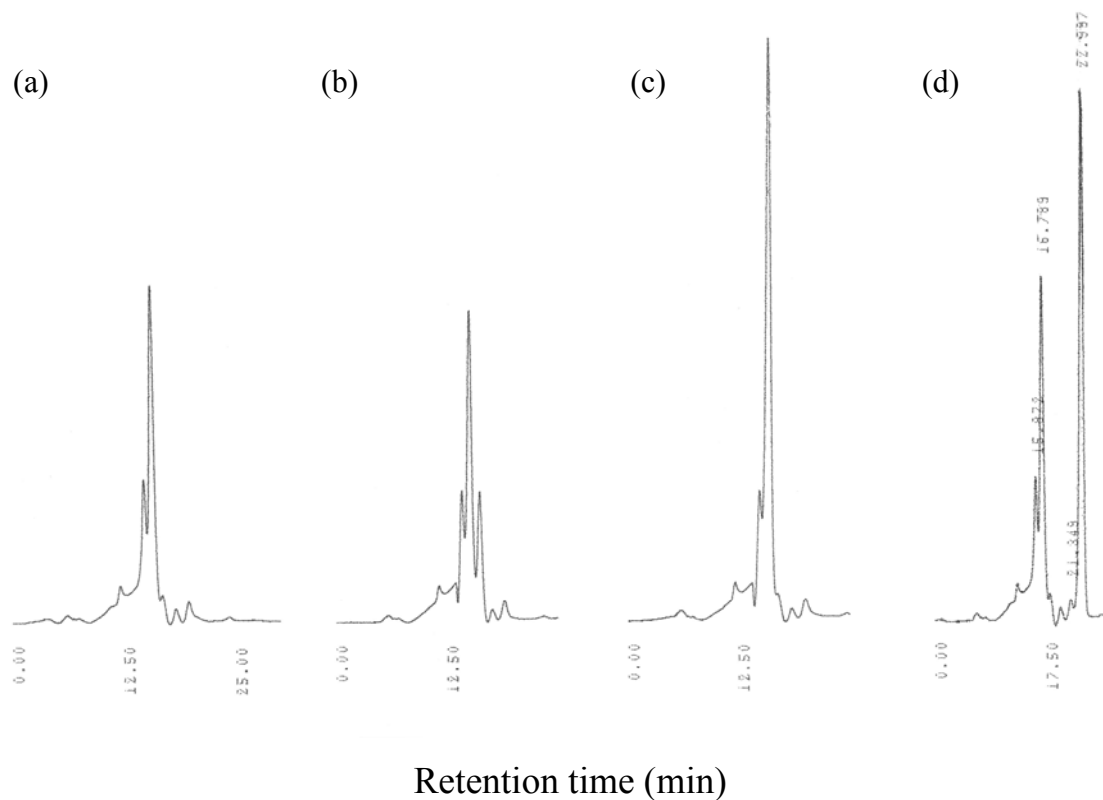
Fig.32. HPLC chromatogram for four kinds of monosaccharides co-chromatography.

Peak 1: glucose (250  $\mu\text{g/mL}$ )

Peak 2: xylose (250  $\mu\text{g/mL}$ )

Peak 3: arabinose (250  $\mu\text{g/mL}$ )

Peak 4: mannose (250  $\mu\text{g/mL}$ )

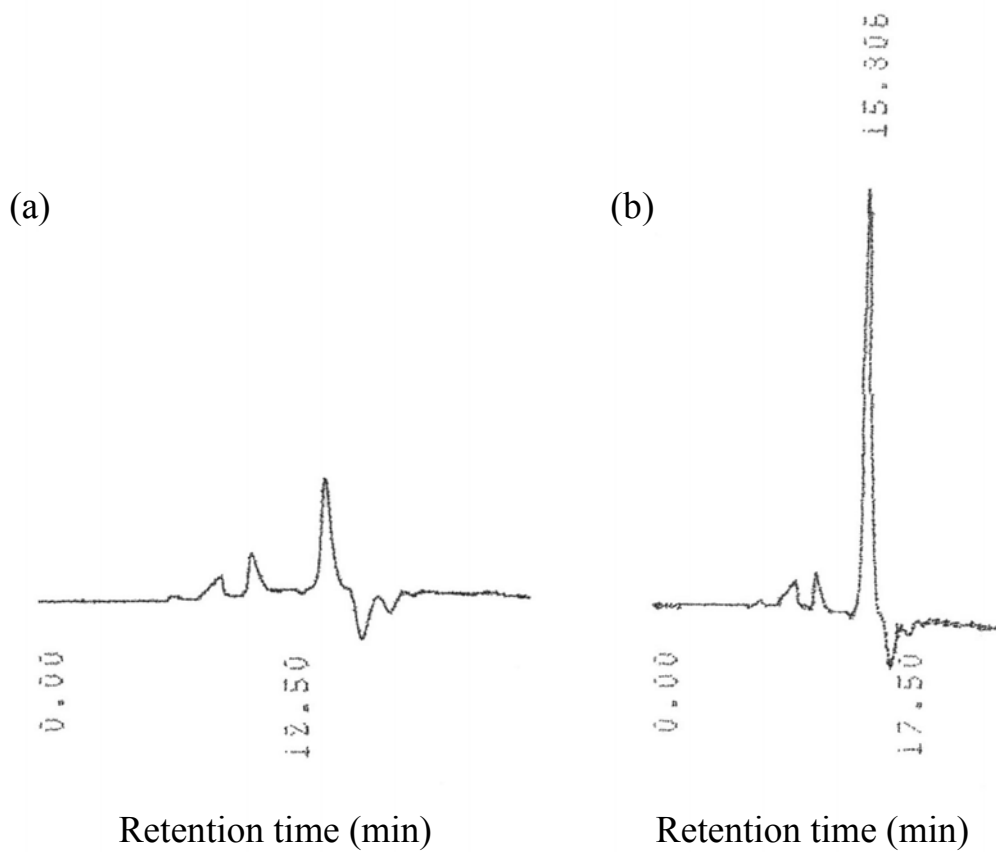


圖三十三、Scopoletin 衍生物 A 酸水解物之醣類分析。

- (a) scopoletin 衍生物 A 酸水解物
- (b) scopoletin 衍生物 A 酸水解物與 xylose 共層析
- (c) scopoletin 衍生物 A 酸水解物與 glucose 共層析
- (d) scopoletin 衍生物 A 酸水解物與 scopoletin 共層析

Fig.33. HPLC chromatograms of monosaccharide analysis for scopoletin derivative A acid hydrolyte.

- (a) scopoletin derivative A acid hydrolyte
- (b) scopoletin derivative A acid hydrolyte and xylose
- (c) scopoletin derivative A acid hydrolyte and glucose
- (d) scopoletin derivative A acid hydrolyte and scopoletin



圖三十四、Scopoletin 衍生物 B 酸水解物之醣類分析。

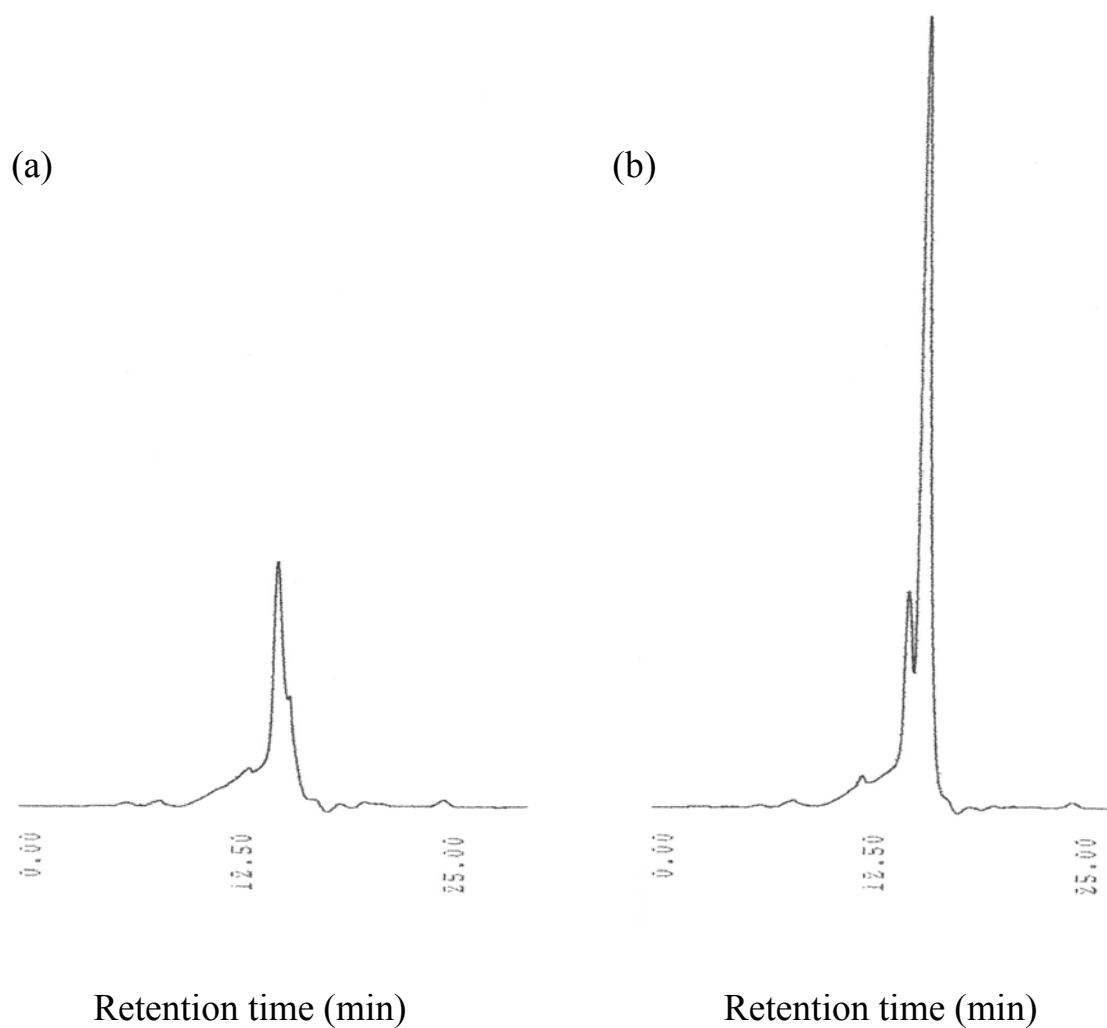
(a) scopoletin 衍生物 B 酸水解物

(b) scopoletin 衍生物 B 酸水解物與 glucose 共層析

Fig.34. HPLC chromatograms of mono-saccharide analysis for scopoletin derivative B acid hydrolyte.

(a) scopoletin derivative B acid hydrolyte

(b) scopoletin derivative B acid hydrolyte and glucose



圖三十五、Scopoletin 衍生物 C 酸水解物之醣類分析。

(a) scopoletin 衍生物 C 酸水解物

(b) scopoletin 衍生物 C 酸水解物與 glucose 共層析

Fig.35. HPLC chromatograms of mono-saccharide analysis for scopoletin derivative C acid hydrolyte.

(a) scopoletin derivative C acid hydrolyte

(b) scopoletin derivative C acid hydrolyte and glucose

## (二) Scopoletin 及其衍生物之結構鑑定

### 1. Scopoletin 之結構鑑定 (圖三十六)

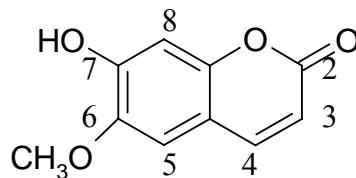
Scopoletin 為棕灰色物質，微溶於水。將純化所得之 scopoletin 進行全光譜掃描，並與文獻對照。吸光光譜圖顯示吸收波峰為 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、229.0、296.5 及 345 nm (圖三十七)，與文獻相符 (Oksuz et al., 2002)。

LC-MS 圖 (圖三十八) 顯示沖提時間約為 32.8 min，由質譜圖顯示，scopoletin 之分子離子 (molecular ion) 波訊  $[M]^+$   $m/z$  為 193 ( $C_{10}H_8O_4$ )，斷裂波訊  $[M-CH_3]^+$   $m/z$  為 177 ( $C_9H_5O_4$ )，另一斷裂波訊為 121 ( $C_7H_5O_2$ )。測定結果與 Runkel 等自葡萄柚汁中分離得到之 scopoletin 質譜圖相符 (Runkel and Moeller et al., 1997)。

核磁共振鑑定之  $^1H$ -NMR 光譜 (300 MHz) (圖三十九) 顯示  $\delta$  3.90 為苯環上  $OCH_3$  之質子波訊， $\delta$  6.20、6.77、7.11、7.85 分別為 H-3、H-5、H-8 和 H-4 之質子波訊。 $^{13}C$ -NMR 光譜 (75 MHz) (圖四十) 顯示  $\delta$  56.81 為苯環上  $OCH_3$  之碳原子波訊， $\delta$  103.95、109.94、112.54、112.61、146.11、151.42、152.91、164.04 分別為 C-8、C-5、C-10、C-3、C-9、C-7、C-6 和 C-2 之碳原子波訊。

東莨菪素 (scopoletin) :

7-hydroxy-6-methoxycoumarin



Formula : C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

UV λ<sub>max</sub> (MeOH) : 211.5 、 229.0 、 296.5 、 345 nm

LC-MS (*m/z*) : 193 [M]<sup>+</sup> 、 177 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub>) 、 121 (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ :

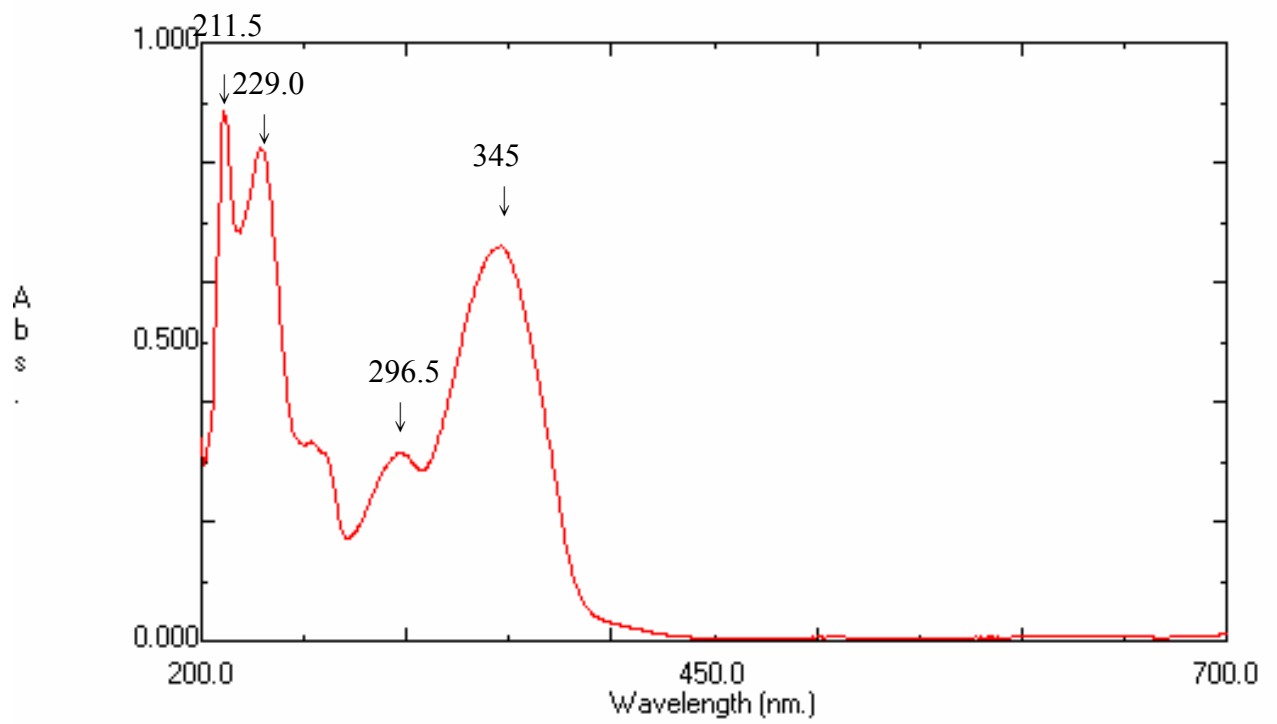
3.90 (3H, s, phenyl-OCH <sub>3</sub> )	7.11 (1H, s, H-8)
6.20 (1H, d, <i>J</i> = 9.3 Hz, H-3)	7.85 (1H, d, <i>J</i> = 9.3 Hz, H-4)
6.77 (1H, s, H-5)	

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ :

56.81 (phenyl-OCH <sub>3</sub> )	146.11 (C-9)
103.95 (C-8)	151.42 (C-7)
109.94 (C-5)	152.91 (C-6)
112.54 (C-10)	164.04 (C-2)
112.61 (C-3)	

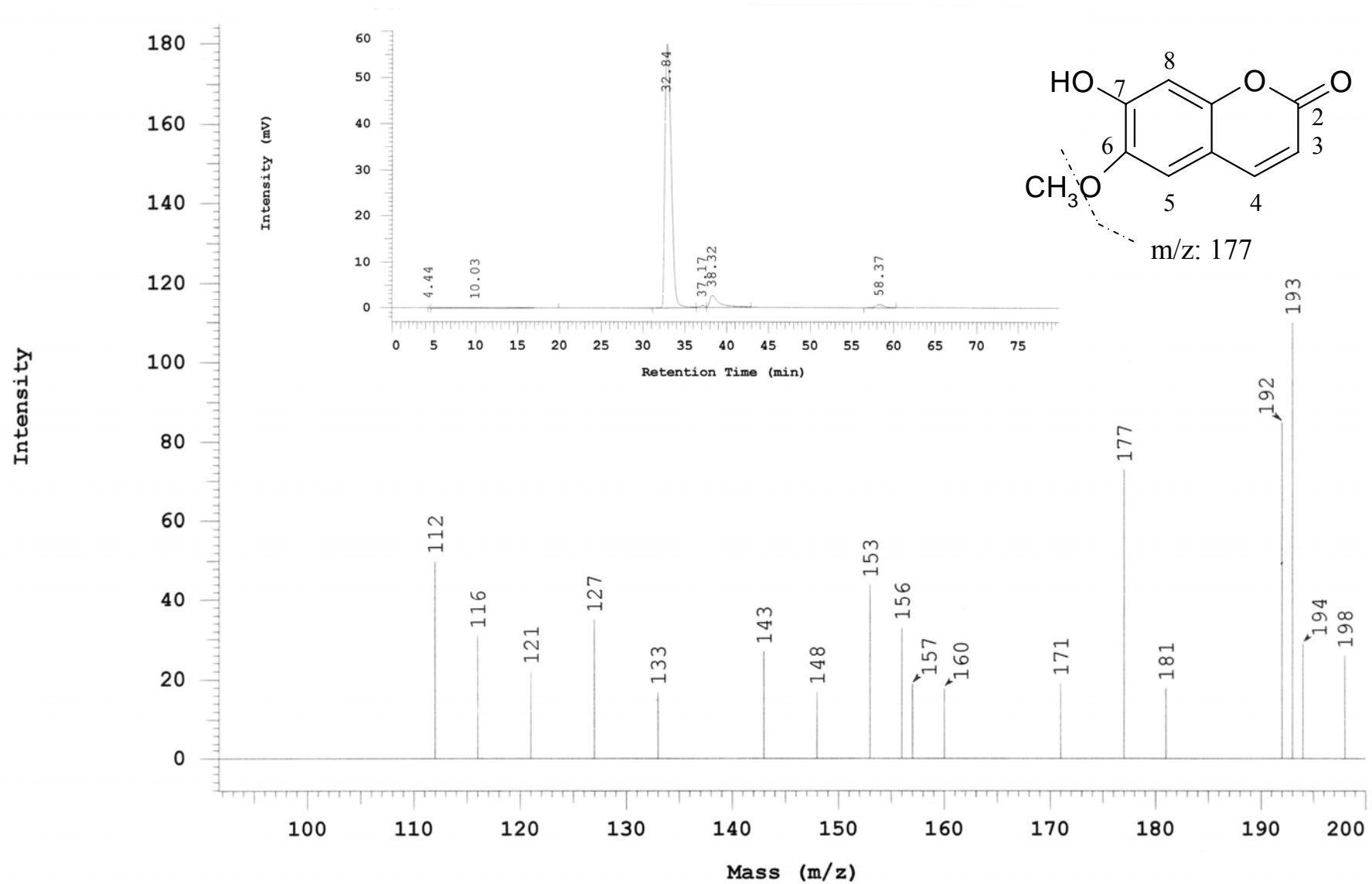
圖三十六、Scopoletin 之結構鑑定。

Fig.36. Identification of scopoletin isolated from noni juice.



圖三十七、Scopoletin 之紫外線-可見光光譜圖譜。

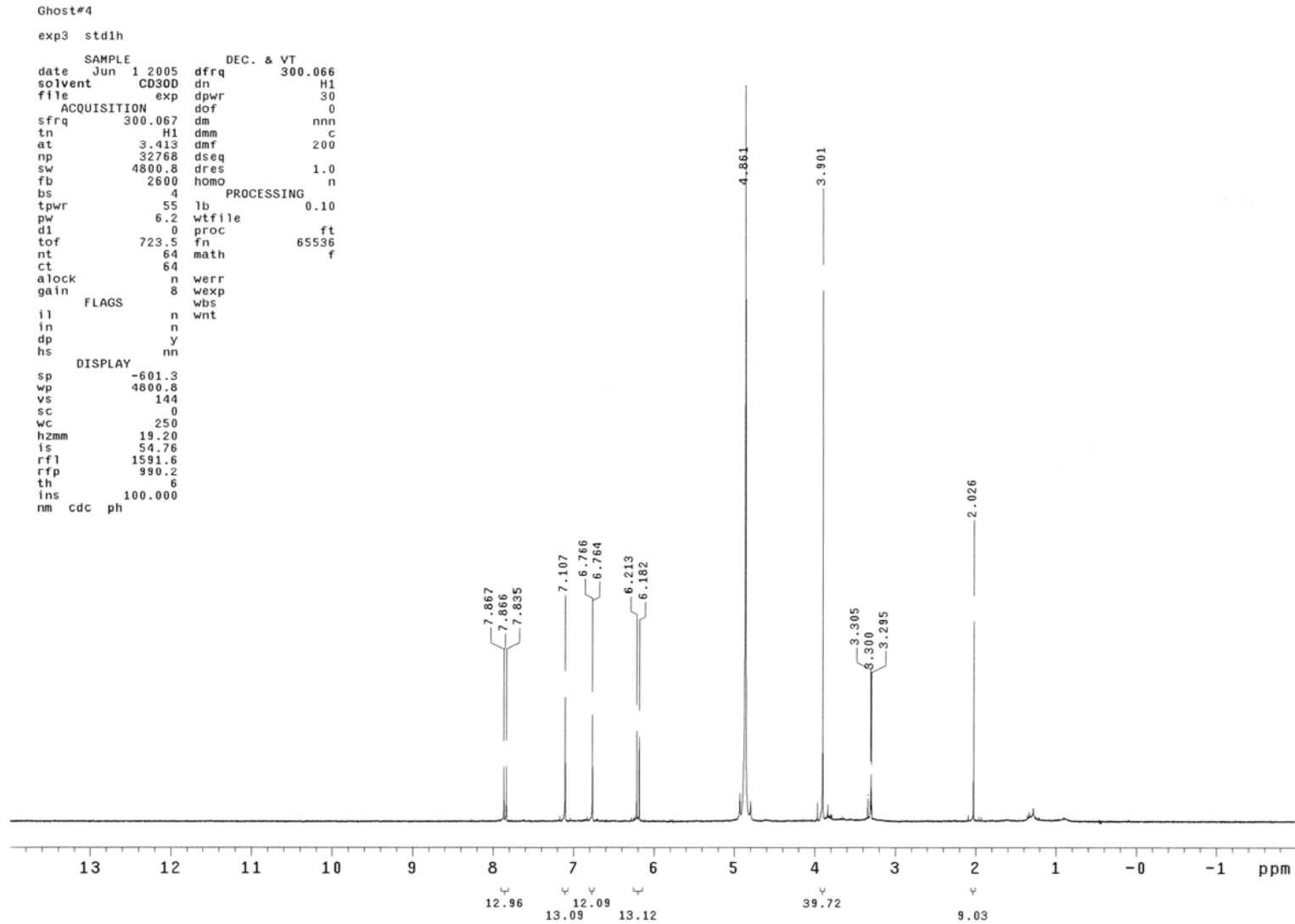
Fig.37. UV-visible spectrum of scopoletin isolated from noni juice.



圖三十八、Scopoletin 之液相層析-質譜圖。

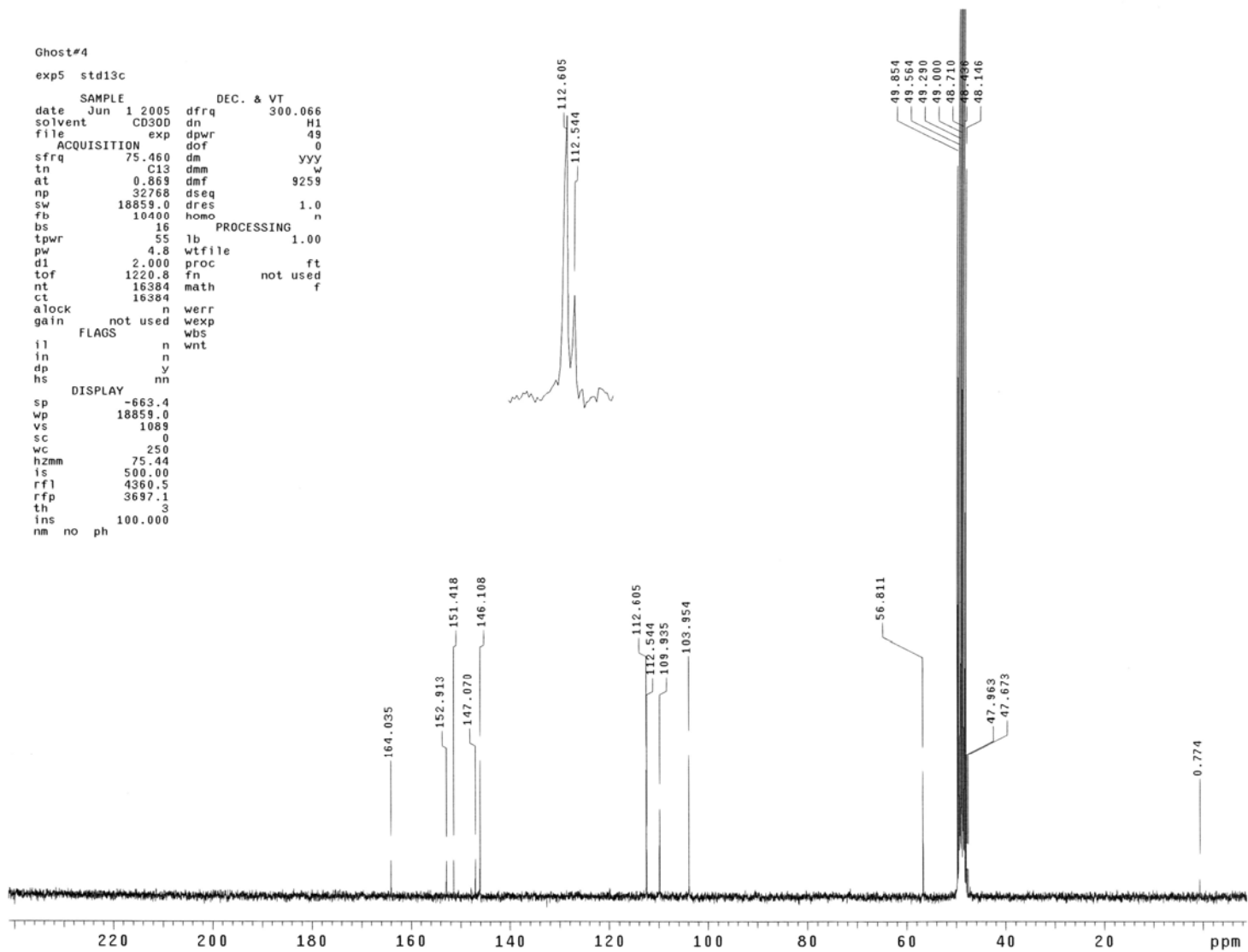
Fig.38. LC-MS spectrum of scopoletin isolated from noni juice.





圖三十九、Scopoletin 之  $^1\text{H}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.39.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of scopoletin isolated from noni juice.



圖四十、Scopoletin 之  $^{13}\text{C}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.40.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of scopoletin isolated from noni juice.

## 2. Scopoletin 衍生物 A 之結構鑑定 (圖四十一)

Scopoletin 衍生物 A 為黃褐色物質，全光譜圖顯示吸收波峰為 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、229.0、290.0 及 341.5 nm (圖四十二)。

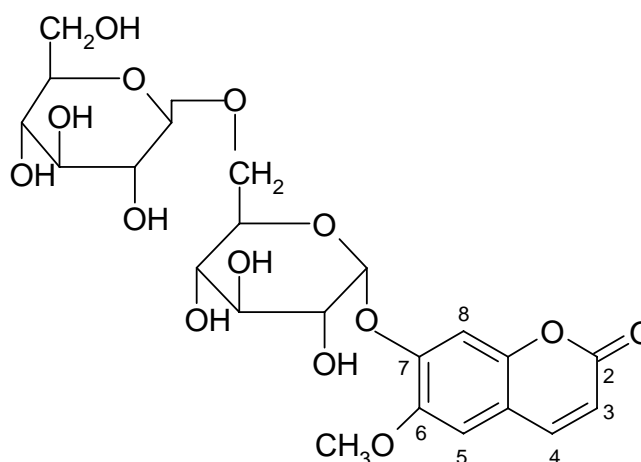
LC-MS 圖 (圖四十三) 顯示沖提時間約為 4.2 min，由質譜圖顯示，其分子離子波訊  $[M]^+$   $m/z$  為 516 ( $C_{22}H_{28}O_{14}$ )，斷裂波訊  $[M-\text{glc}]^+$   $m/z$  為 354 ( $C_{16}H_{18}O_9$ )，另一斷裂波訊  $[M-2\text{glc}+1]^+$   $m/z$  為 193 ( $C_{10}H_8O_4$ )。此測定結果與酸水解結果相符，且與醣類分析鑑定結果相符。

核磁共振鑑定之  $^1\text{H-NMR}$  光譜 (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 圖四十四) 顯示  $\delta$  3.36-4.20 為兩個葡萄糖基之質子波訊， $\delta$  3.71 為苯環上  $\text{OCH}_3$  之質子波訊， $\delta$  3.95、4.95、6.11、7.00、7.14、7.70 分別為 glc H-1''、glc H-1'、H-3、H-5、H-8、H-4 之質子波訊。

$^{13}\text{C-NMR}$  光譜 (75 MHz) (圖四十五) 顯示  $\delta$  57.07 為苯環上  $\text{OCH}_3$  之碳原子波訊， $\delta$  62.87、70.68、71.60、71.67、74.75、75.18、77.21、77.82、78.17、78.28、101.86、105.31、105.43、110.67、114.48、114.56、145.77、148.20、150.73、163.70 分別為 C-6''、C-6'、C-4''、C-4'、C-2''、C-2'、C-3''、C-3'、C-5''、C-5'、C-1'、C-1''、C-8、C-5、C-10、C-3、C-9、C-7、C-6 和 C-2 之碳原子波訊。故確認 scopoletin 衍生物 A 為 scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-glucoside。

東莨菪素衍生物 A (scopoletin derivative A) :

scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-glucoside



Formula : C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、229.0、290.0 及 341.5 nm

LC-MS (*m/z*) : 516 [M]<sup>+</sup>、354 [M-glc]<sup>+</sup>、193 [M-2glc+1]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

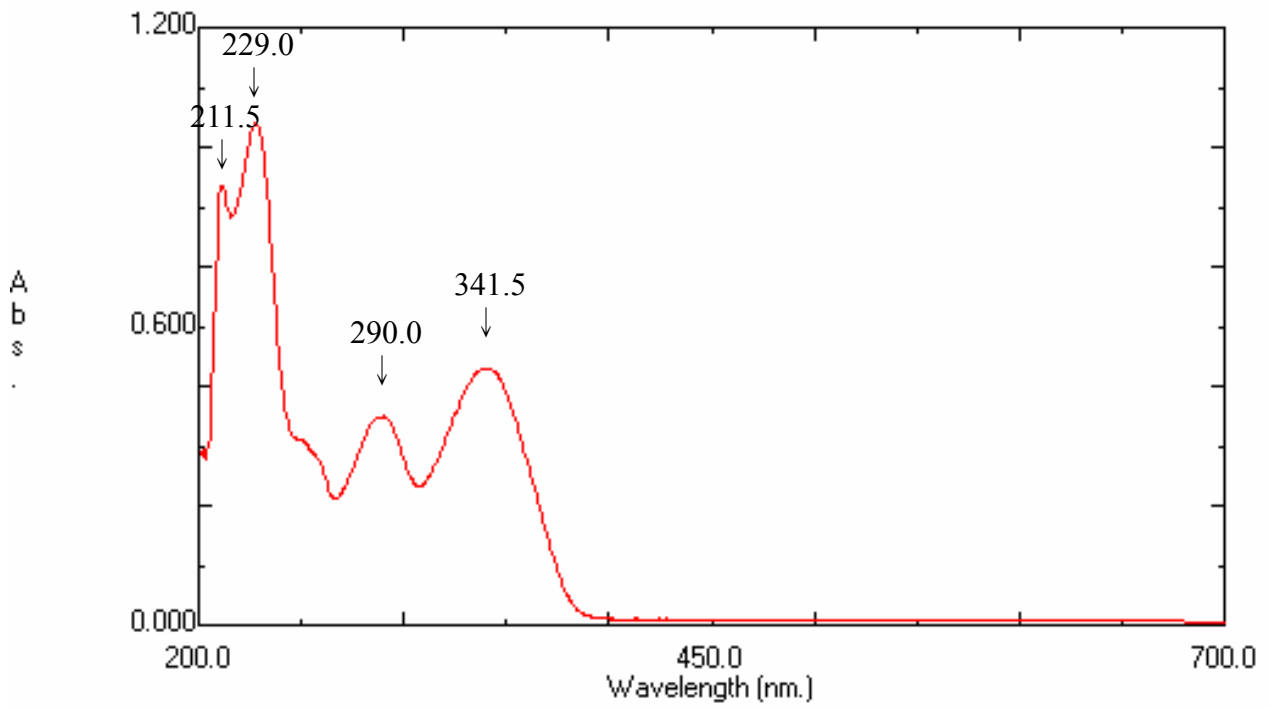
3.36 – 4.20 (10H, m, glc 10H)	6.11 (1H, d, <i>J</i> = 9.6 Hz, H-3)
3.71 (3H, s, phenyl-OCH <sub>3</sub> )	7.00 (1H, s, H-5)
3.95 (1H, d, <i>J</i> = 9.6 Hz, glc H-1'')	7.14 (1H, s, H-8)
4.95 (1H, d, <i>J</i> = 7.8 Hz, glc H-1')	7.70 (1H, d, <i>J</i> = 9.3 Hz, H-4)

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

57.07 (phenyl-OCH <sub>3</sub> )	77.21 (C-3'')	110.67 (C-5)
62.87 (C-6'')	77.82 (C-3')	114.48 (C-10)
70.68 (C-6')	78.17 (C-5'')	114.56 (C-3)
71.60 (C-4'')	78.28 (C-5')	145.77 (C-9)
71.67 (C-4')	101.86 (C-1')	148.20 (C-7)
74.75 (C-2'')	105.31 (C-1'')	150.73 (C-6)
75.18 (C-2')	105.43 (C-8)	163.70 (C-2)

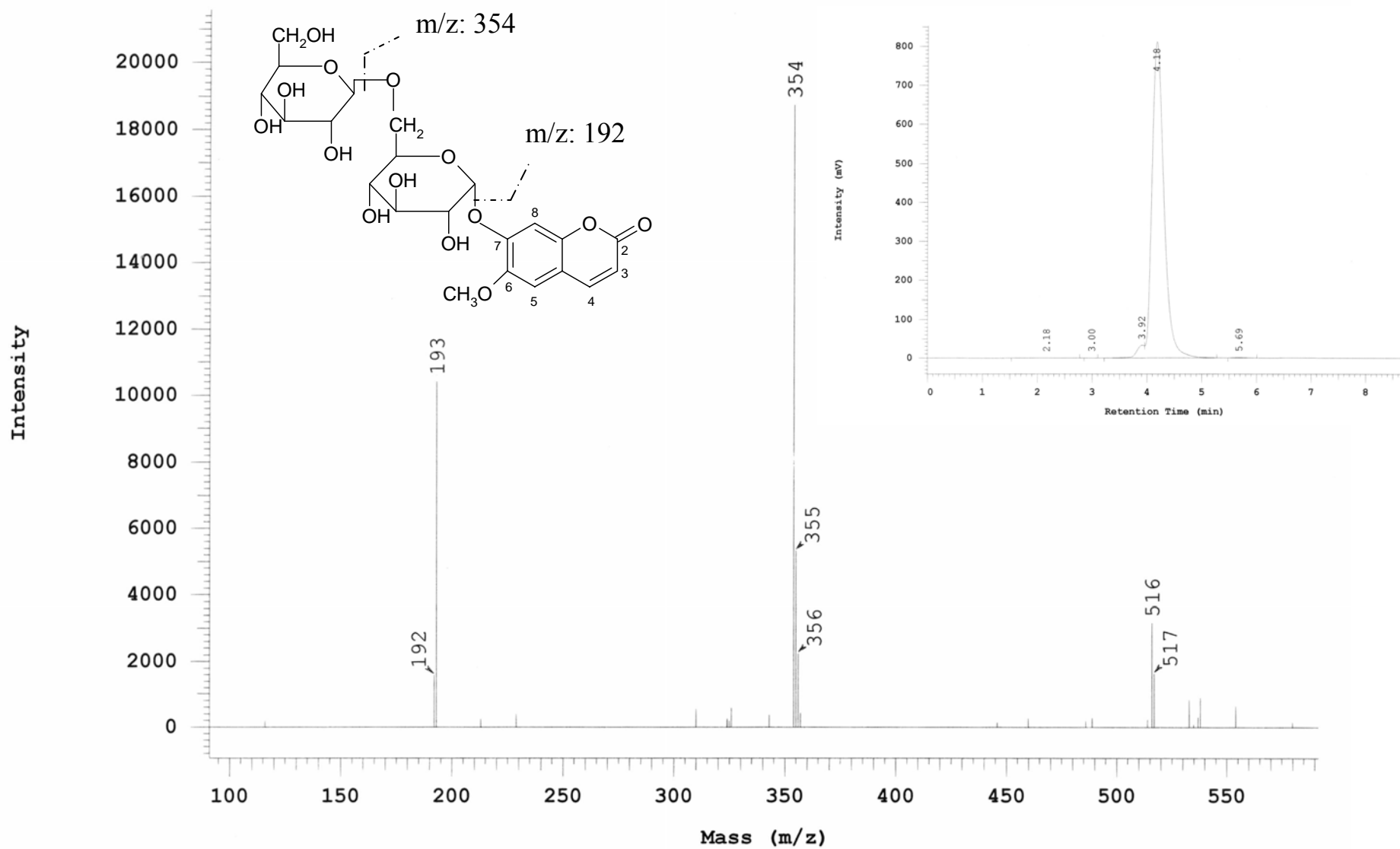
圖四十一、Scopoletin 衍生物 A 之結構鑑定。

Fig.41. Identification of scopoletin derivative A isolated from noni juice.



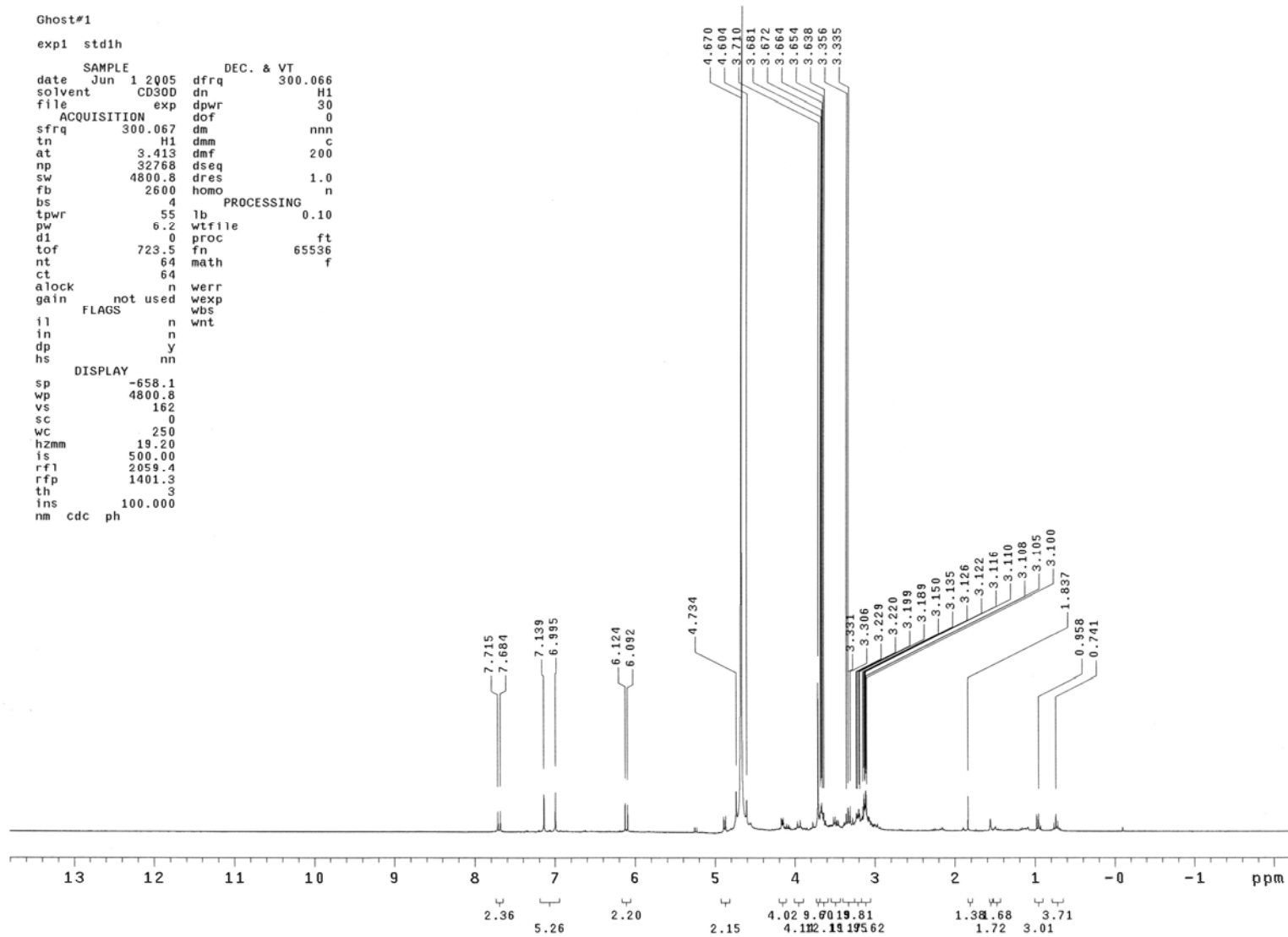
圖四十二、Scopoletin 衍生物 A 之紫外線-可見光光譜圖譜。

Fig.42. UV-visible spectrum of scopoletin derivative A isolated from noni juice.



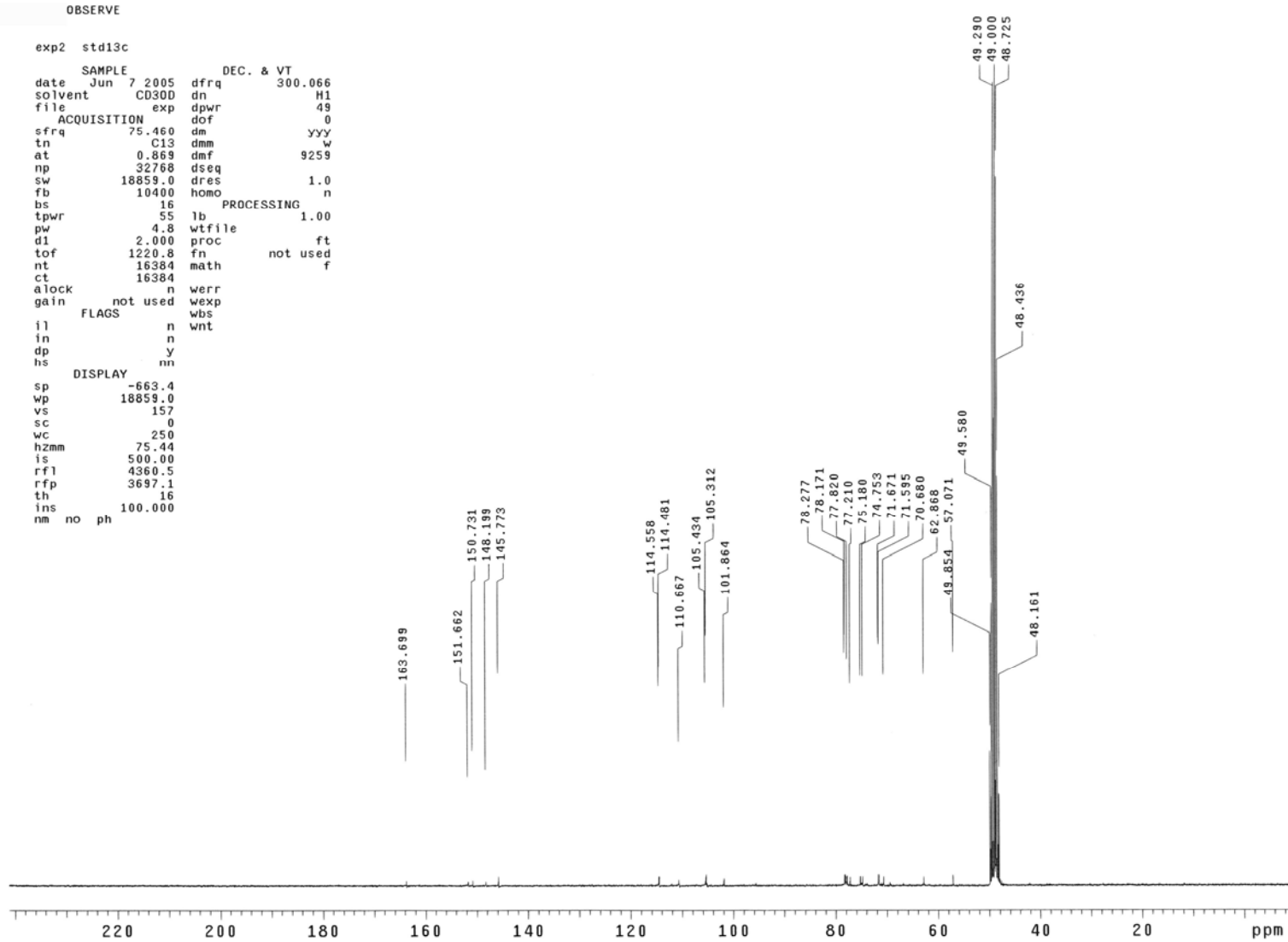
圖四十三、Scopoletin 衍生物 A 之液相層析-質譜圖。

Fig.43. LC-MS spectrum of scopoletin derivative A isolated from noni juice.



圖四十四、Scopoletin 衍生物 A 之  $^1\text{H}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.44.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of scopoletin derivative A isolated from noni juice.



圖四十五、Scopoletin 衍生物 A 之  $^{13}\text{C}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.45.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of scopoletin derivative A isolated from noni juice.



### 3. Scopoletin 衍生物 B 之結構鑑定 (圖四十六)

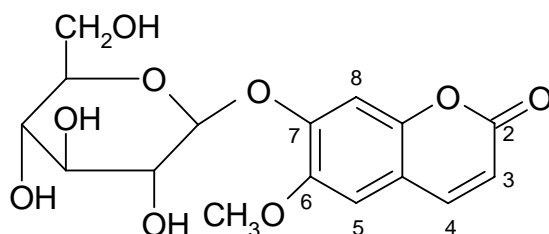
Scopoletin 衍生物 B 為褐色物質，全光譜圖顯示吸收波峰為 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、227.5、288.5 及 341.5 nm (圖四十七)。

LC-MS 圖 (圖四十八) 顯示沖提時間約為 4.5 min，由質譜圖顯示，其分子離子波訊  $[M]^+$   $m/z$  為 354 ( $C_{16}H_{18}O_9$ )，斷裂波訊  $[M-\text{glc}]^+$   $m/z$  為 192 ( $C_{10}H_8O_4$ )。此測定結果與醣類分析鑑定結果相符。

核磁共振鑑定之  $^1\text{H-NMR}$  光譜 (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 圖四十九) 顯示  $\delta$  3.36-4.20 為葡萄糖基之質子波訊， $\delta$  3.90 為苯環上  $\text{OCH}_3$  之質子波訊， $\delta$  5.06、6.30、7.17、7.20、7.89 分別為 glc H-1'、H-3、H-5、H-8、H-4 之質子波訊。測定結果與 Sibanda 等自 *Xeromphis* 中分離得到之 scopolin 相符 (Sibanda et al., 1989)。故確認 scopoletin 衍生物 B 為 scopoletin-7-*O*- $\beta$ -glucoside，又名 scopolin。

東莨菪素衍生物 B (scopoletin derivative B) :

scopoletin-7-*O*- $\beta$ -glucoside ; scopolin



Formula : C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5 、227.5 、288.5 及 341.5 nm

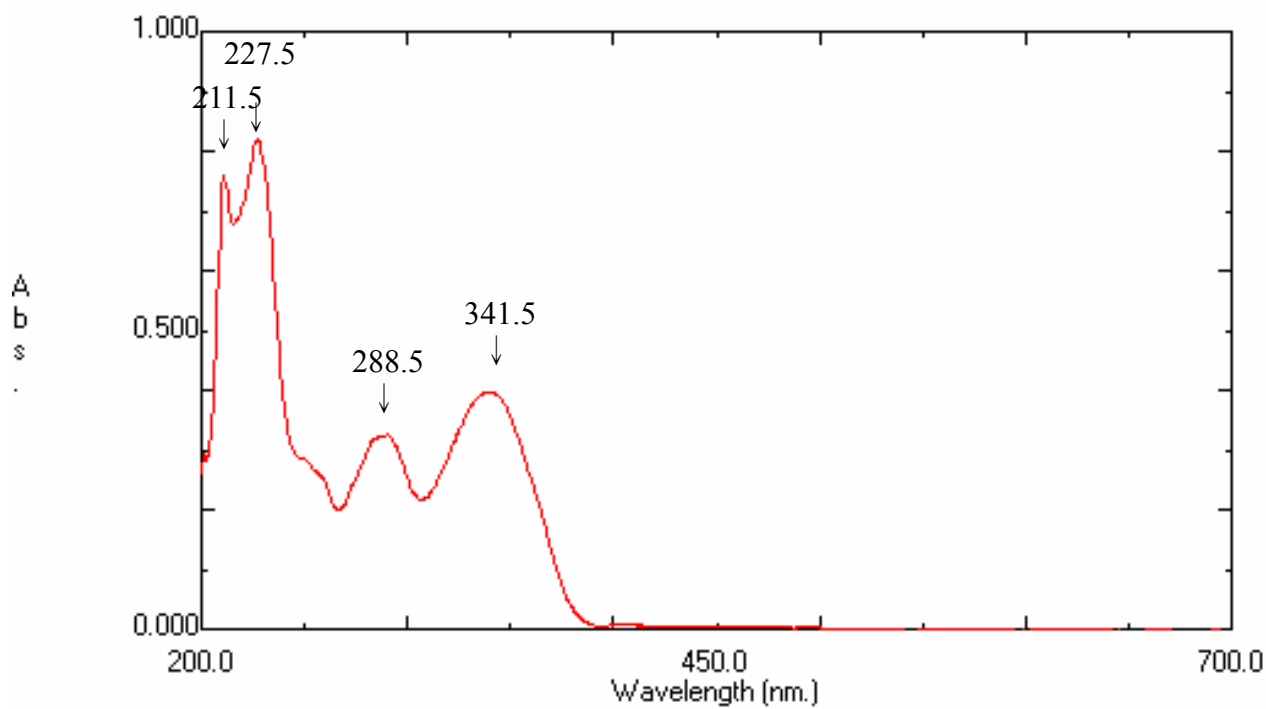
LC-MS (*m/z*) : 354 [M]<sup>+</sup> 、192 [M-glc]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

3.37 – 3.89 (5H, m, glc 5H)	7.17 (1H, s, H-5)
3.90 (3H, s, phenyl-OCH <sub>3</sub> )	7.20 (1H, s, H-8)
5.06 (1H, d, <i>J</i> = 7.2 Hz, glc H-1')	7.89 (1H, d, <i>J</i> = 9.6 Hz, H-4)
6.30 (1H, d, <i>J</i> = 9.6 Hz, H-3)	

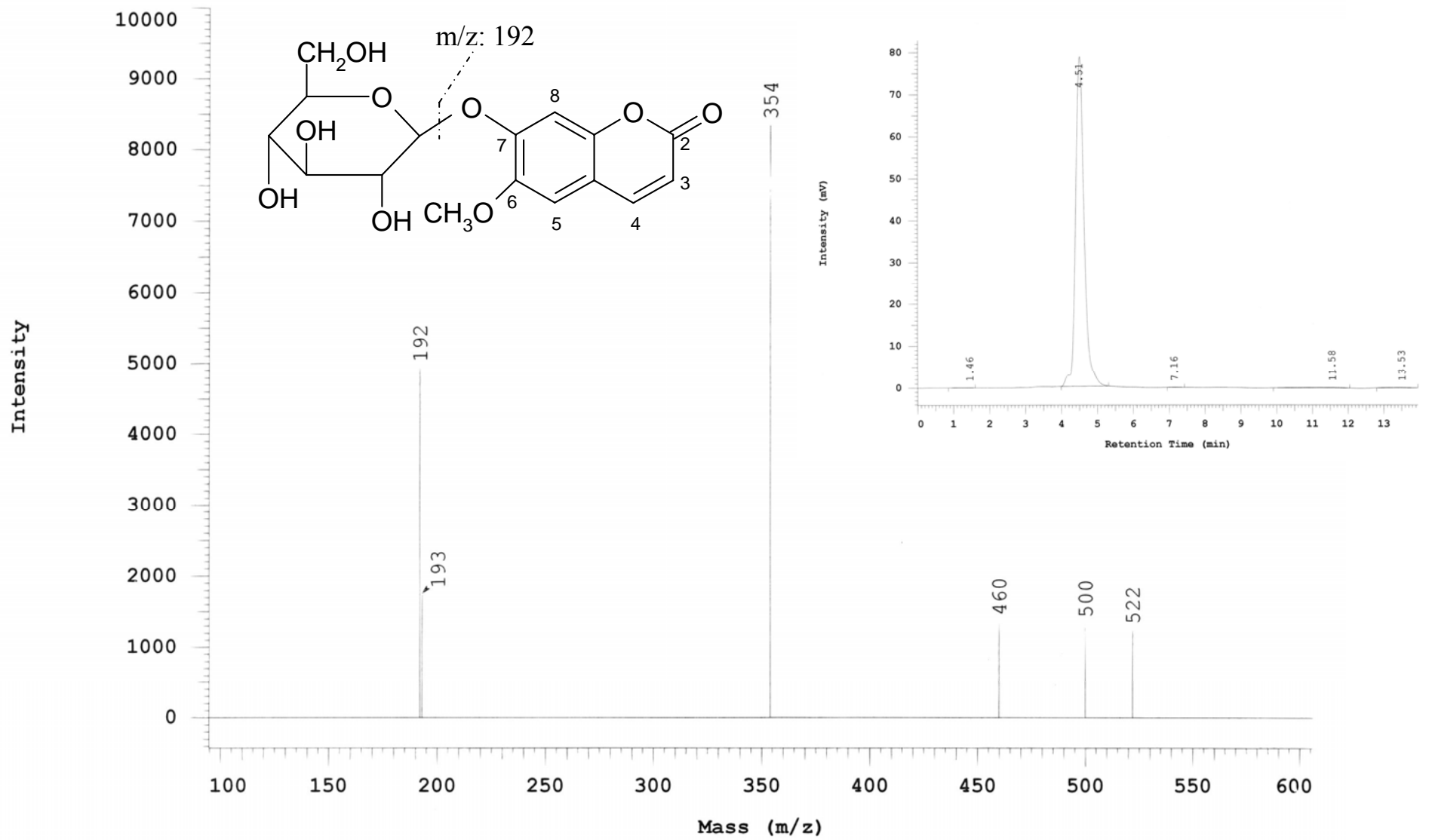
圖四十六、Scopoletin 衍生物 B 之結構鑑定。

Fig.46. Identification of scopoletin derivative B isolated from noni juice.



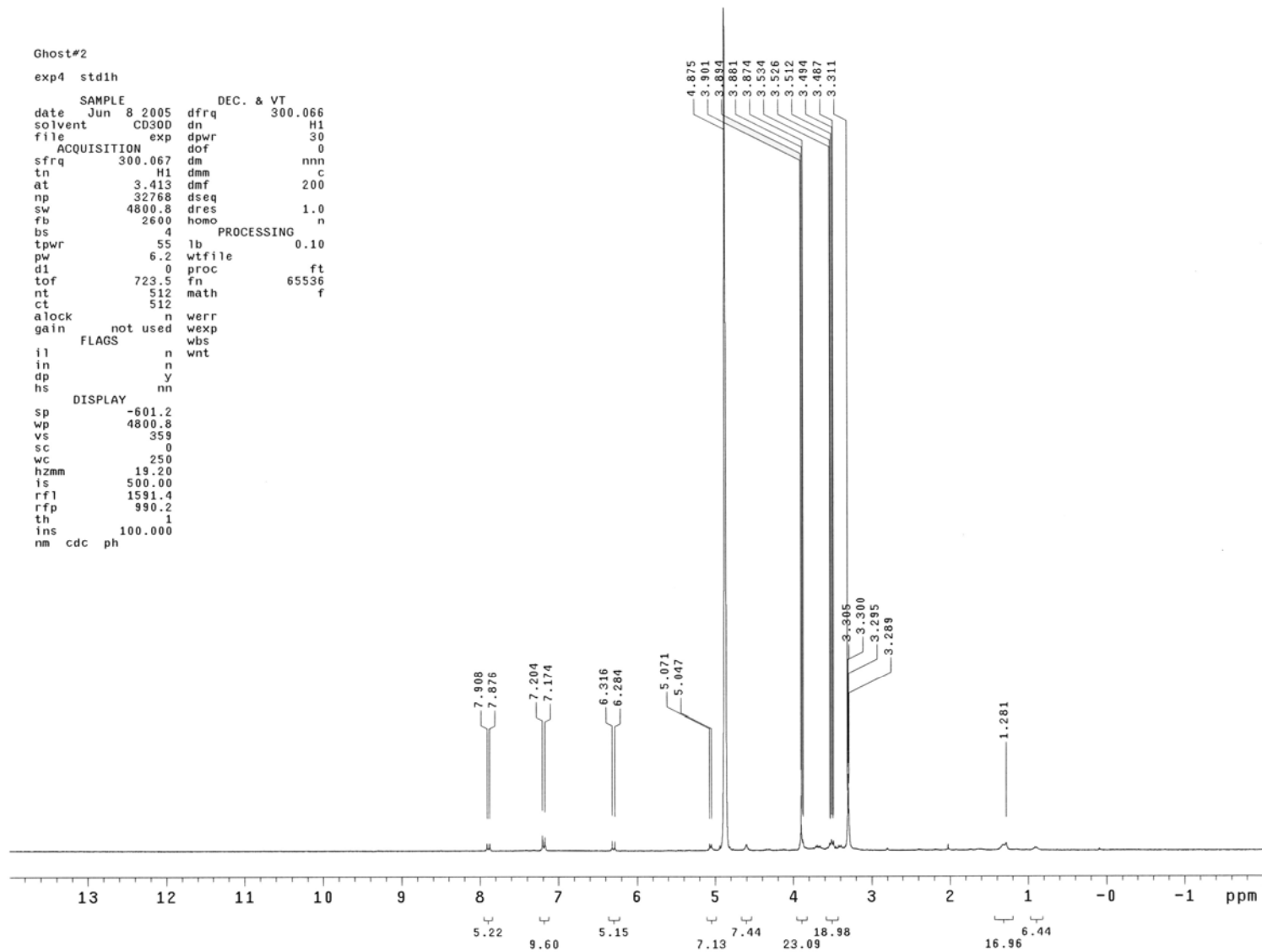
圖四十七、Scopoletin 衍生物 B 之紫外線-可見光光譜圖譜。

Fig.47. UV-visible spectrum of scopoletin derivative B isolated from noni juice.



圖四十八、Scopoletin 衍生物 B 之液相層析-質譜圖。

Fig.48. LC-MS spectrum of scopoletin derivative B isolated from noni juice.



圖四十九、Scopoletin 衍生物 B 之  $^1\text{H}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.49.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of scopoletin derivative B isolated from noni juice.

#### 4. Scopoletin 衍生物 C 之結構鑑定 (圖五十)

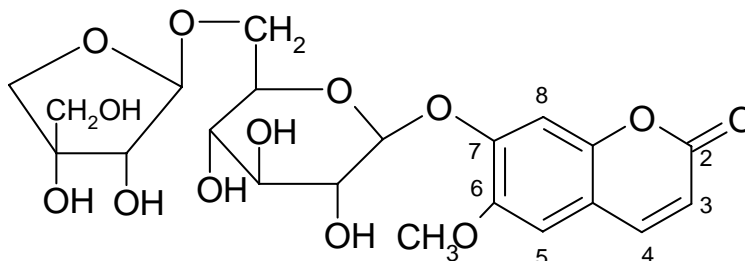
Scopoletin 衍生物 C 為棕灰色物質，全光譜圖顯示吸收波峰為 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、227.5、287.0 及 336.5 nm (圖五十一)。

LC-MS 圖 (圖五十二) 顯示沖提時間為 5.2 min，分子離子波訊為  $[M]^+$   $m/z$  : 486 ( $C_{21}H_{26}O_{13}$ )，斷裂波訊  $[M-apio]^+$   $m/z$  : 354 ( $C_{16}H_{18}O_9$ )、 $[M-apio-glc+1]^+$   $m/z$  : 192 ( $C_{10}H_8O_4$ )。此測定結果與醣類分析鑑定結果相符。

核磁共振鑑定之  $^1H$ -NMR 光譜 (300 MHz,  $CD_3OD$ ; 圖五十三) 顯示  $\delta$  3.34 – 4.08 為醣基之質子波訊， $\delta$  3.91 為苯環上  $OCH_3$  之質子波訊， $\delta$  4.94、4.99、6.31、7.21、7.23、7.90 分別為 apio H-1''、glc H-1'、H-3、H-5、H-8、H-4 之質子波訊。測定結果與 Sibanda 等自 *Xeromphis* 中分離得到之 hymexelsin 相符 (Rao et al., 1988; Sibanda et al., 1989)。故確認 scopoletin 衍生物 C 為 scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-apioside，又名 xeroboside 或 hymexelsin。

東莨菪素衍生物 C (scopoletin derivative C) :

scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-apioside ; xeroboside



Formula : C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) : 211.5、227.5、287.0 及 336.5 nm

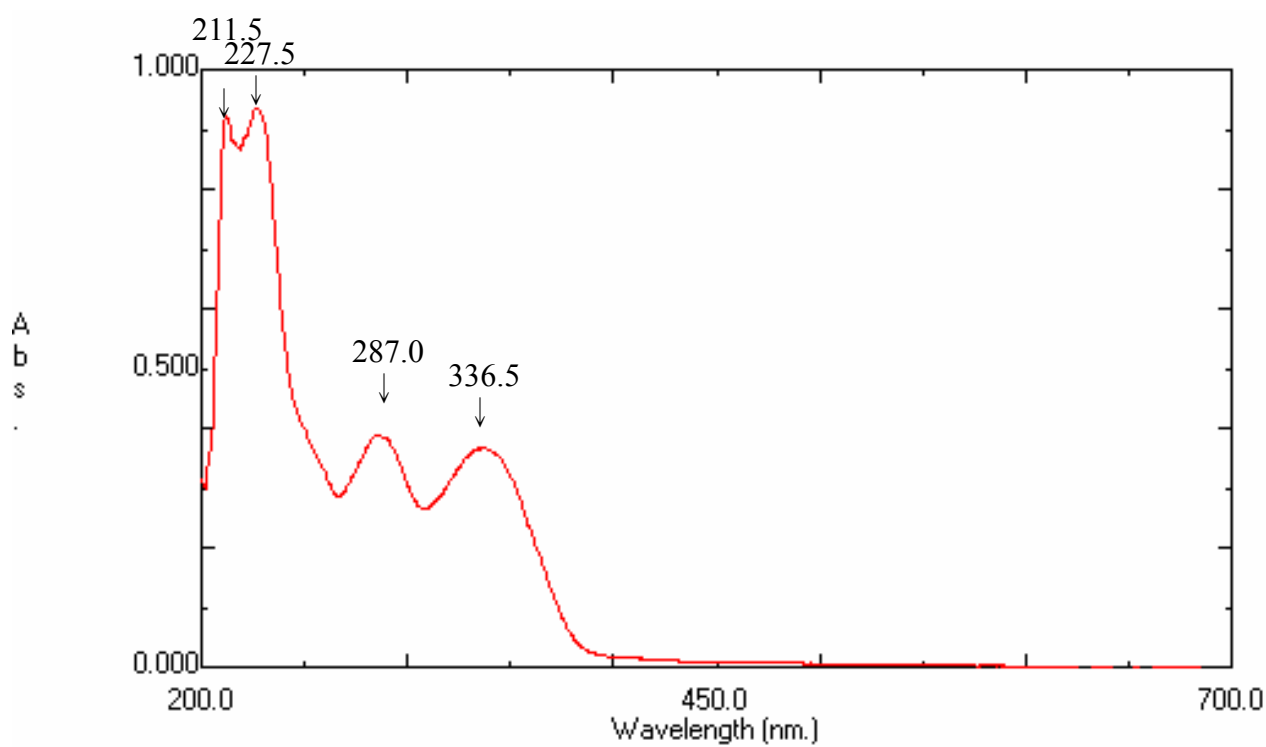
LC-MS (*m/z*) : 486 [M]<sup>+</sup>、354 [M-apio]<sup>+</sup>、193 [M-apio-glc+1]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

- 3.34 – 4.08 (9H, m, sugar 9H)
- 3.91 (3H, s, phenyl-OCH<sub>3</sub>)
- 4.94 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, apio H-1'')
- 4.99 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, glc H-1')
- 6.31 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3)
- 7.21 (1H, s, H-5)
- 7.23 (1H, s, H-8)
- 7.90 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-4)

圖五十、Scopoletin 衍生物 C 之結構鑑定。

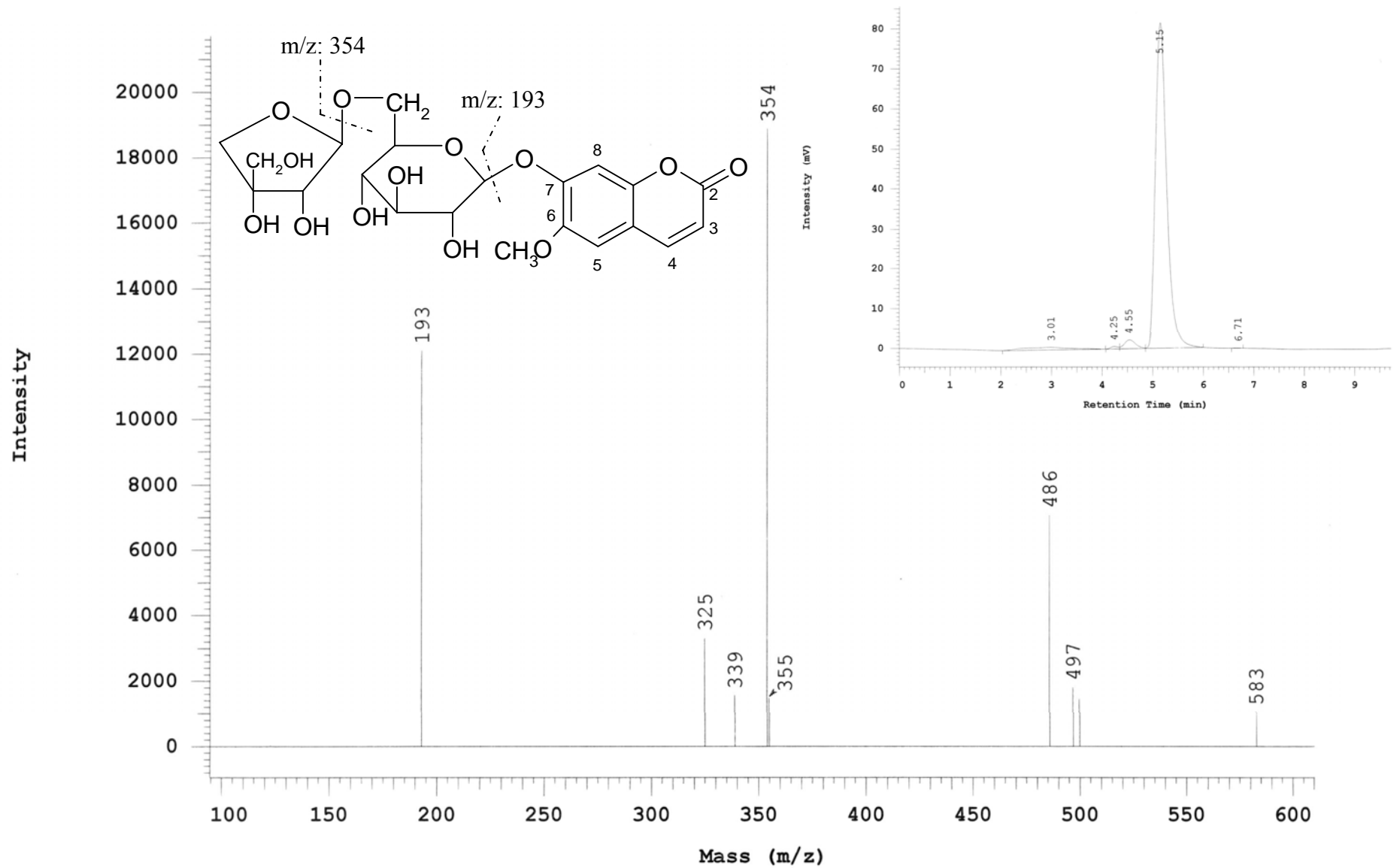
Fig.50. Identification of scopoletin derivative C isolated from noni juice.



圖五十一、Scopoletin 衍生物 C 之紫外線-可見光光譜圖譜。

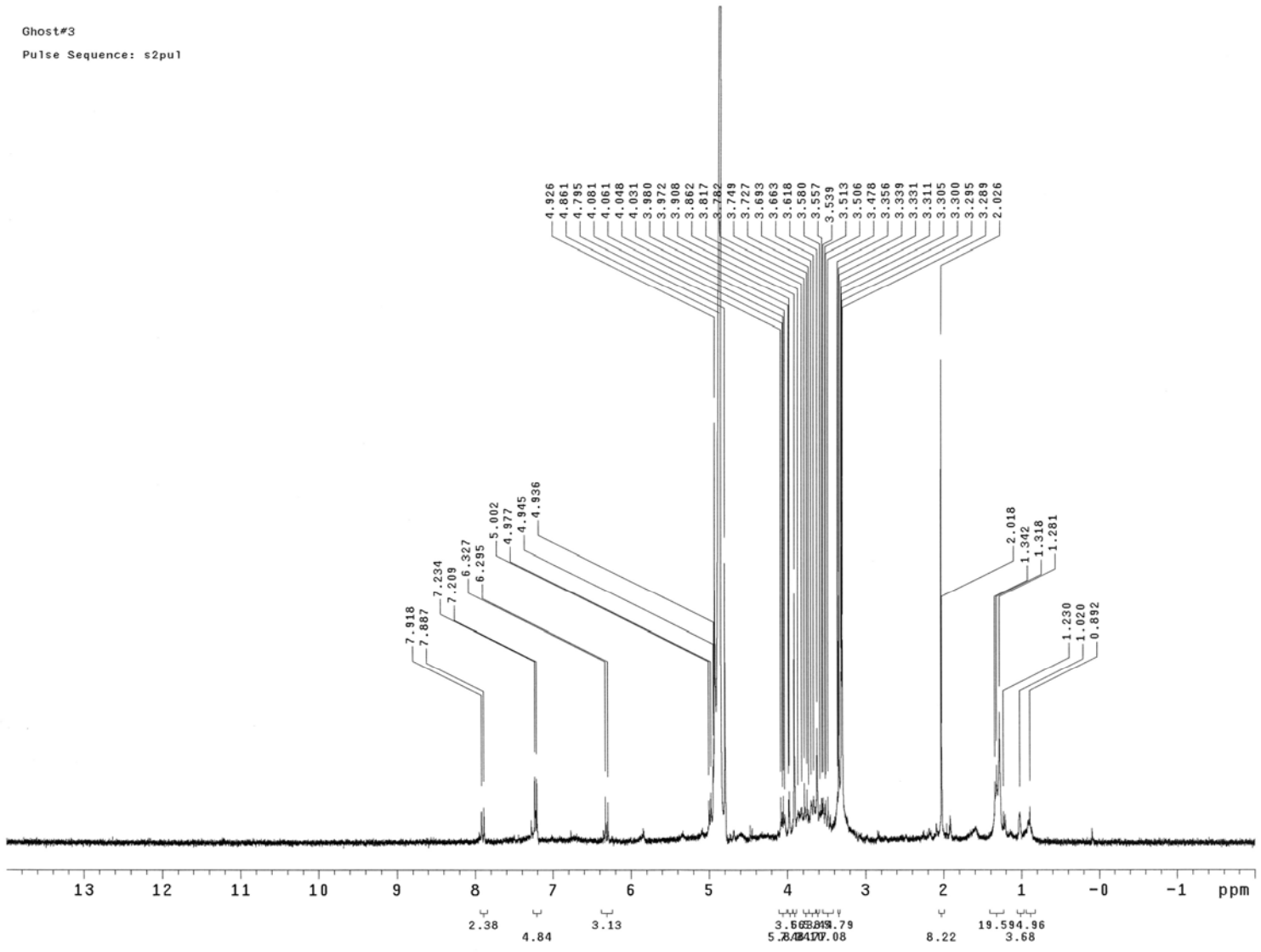
Fig.51. UV-visible spectrum of scopoletin derivative C isolated from noni juice.





圖五十二、Scopoletin 衍生物 C 之液相層析-質譜圖。

Fig.52. LC-MS spectrum of scopoletin derivative C isolated from noni juice.



圖五十三、Scopoletin 衍生物 C 之  $^1\text{H}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.53.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of scopoletin derivative C isolated from noni juice.

### (三) Scopoletin 之生理活性測定

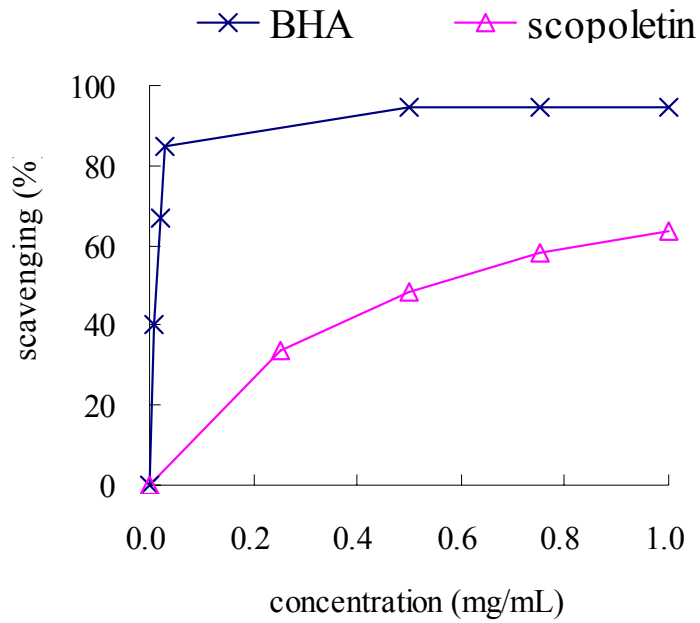
利用純化所得之 scopoletin，進行抗氧化性及 ACE 抑制活性測定。測定結果發現，scopoletin 具有清除自由基與超氧陰離子之能力 (圖五十四、五十五)，但不具螯合亞鐵離子及清除過氧化氫之能力，亦不具 ACE 之抑制活性 (數據未附)。

Noni 果汁之降血壓作用，除 ACE 之抑制作用外，已知其中富含之 scopoletin 具有舒緩平滑肌促使血管擴張而達到降血壓之功能 (Ojewole and Adesina, 1983)，此複合作用可增進 noni 果汁之降血壓功效，故值得進一步分離鑑定 noni 果汁中含存之 ACE 抑制物。

## 七、Noni 果汁中血管收縮素轉化酶抑制物之分離與鑑定

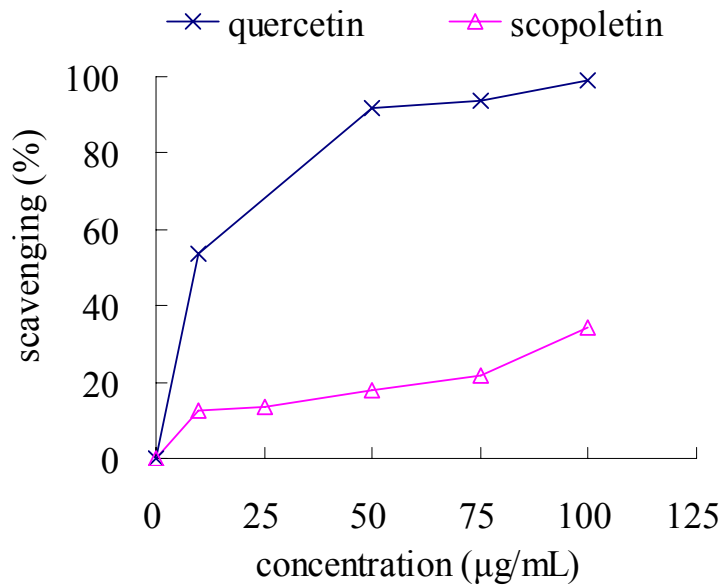
### (一) 血管收縮素轉化酶抑制物之分離

Noni 果汁經活性碳處理後，以半製備型管柱分離，並收集三個波峰分別為 ACEI-1、ACEI-2 與 ACEI-3 ( $t_R$  分別為 4.5、9.5 與 53.7 min) (圖九)。重複分離、純化步驟，經濃縮、乾燥後，分別取 3.85 mg/mL 測定其 ACE 抑制率，結果測得 ACEI-1、ACEI-2 與 ACEI-3 之抑制率分別為  $13.74 \pm 7.66\%$ 、 $90.78 \pm 1.00\%$  和  $63.34 \pm 2.76\%$ 。乾燥後獲得純化物質 ACEI-2 (圖五十六)，並測定其  $IC_{50}$  值為 2.42 mg/mL (附錄十)。將所得之純化物質 ACEI-2 以 Mass 與 NMR 進行鑑定。



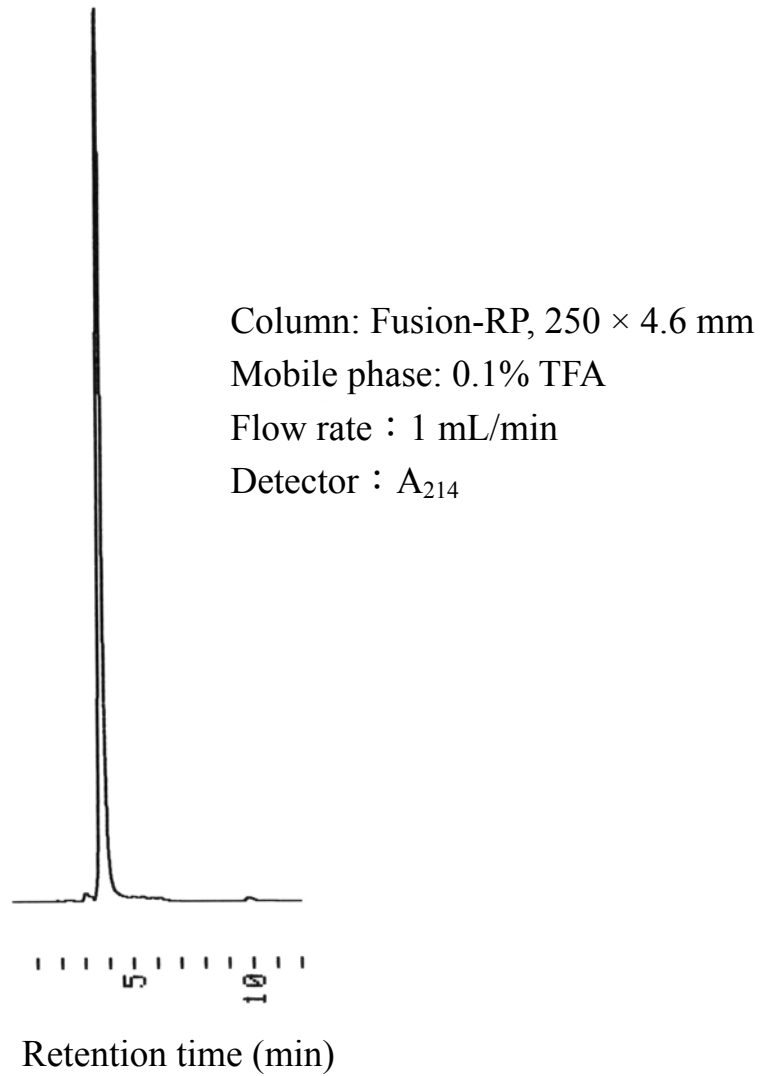
圖五十四、Scopoletin 之 DPPH 自由基清除能力。

Fig.54. DPPH radical scavenging activity of scopoletin isolated from noni juice.



圖五十五、Scopoletin 之超氧陰離子清除能力。

Fig.55. Superoxide anion scavenging activity of scopoletin isolated from noni juice.



圖五十六、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之分析型高效液相層析圖。

Fig.56. Analytical HPLC chromatogram of ACE inhibitor 2 (ACEI-2).

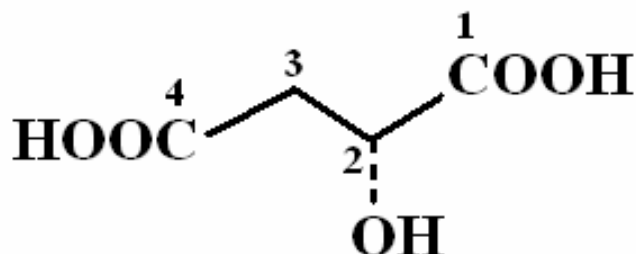
(二) 血管收縮素轉化酶抑制物之鑑定 (圖五十七)

ACEI-2 為白色物質，全光譜圖顯示吸收波峰為 UV  $\lambda_{\max}(\text{H}_2\text{O})$ : 265.5 nm (圖五十八)。由質譜圖 (圖五十九) 顯示，其兩分子鍵結之離子波訊  $[2M+1]^+$   $m/z$  為 269 ( $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_{10}$ )，分子離子波訊  $[M+1]^+$   $m/z$  為 135 ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ )，斷裂波訊  $[M-\text{OH}]^+$   $m/z$  為 117 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_4$ )，另二個斷裂波訊  $[M-\text{COOH}]^+$   $m/z$  為 89 ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ )、 $[M-\text{COOH}-\text{OH}]^+$   $m/z$  為 72 ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$ )。

核磁共振鑑定之  $^1\text{H-NMR}$  光譜 (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 圖六十) 顯示  $\delta$  2.82 為 H-3 之質子波訊， $\delta$  4.49 為 H-2 之質子波訊。 $^{13}\text{C-NMR}$  光譜 (75 MHz) (圖六十一) 顯示  $\delta$  39.91、68.30、174.21 和 176.53 分別為 C-3、C-2、C-1 和 C-4 之碳原子波訊。此外，由 NMR 圖譜得知，ACEI-2 中尚有其他化合物的存在，推測可能為一些帶有葡萄糖之化合物，故僅確認 ACEI-2 主要含有 D-malic acid。

ACE 抑制物 2 (ACE inhibitor 2) :

主要含有 D-Malic acid (hydroxylsuccinic acid)



Formula : C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

UV  $\lambda_{\max}$  (H<sub>2</sub>O) : 265.5 nm

LC-MS (*m/z*) : 269 [2M+1]<sup>+</sup>、135 [M+1]<sup>+</sup>、117 [M-OH]<sup>+</sup>、  
89 [M-COOH]<sup>+</sup>、72 [M-COOH-OH]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

2.83 (2H, d, *J* = 4.2 Hz, H-3)

4.49 (1H, t, *J* = 4.2 Hz, H-2)

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  :

39.91 (C-3)

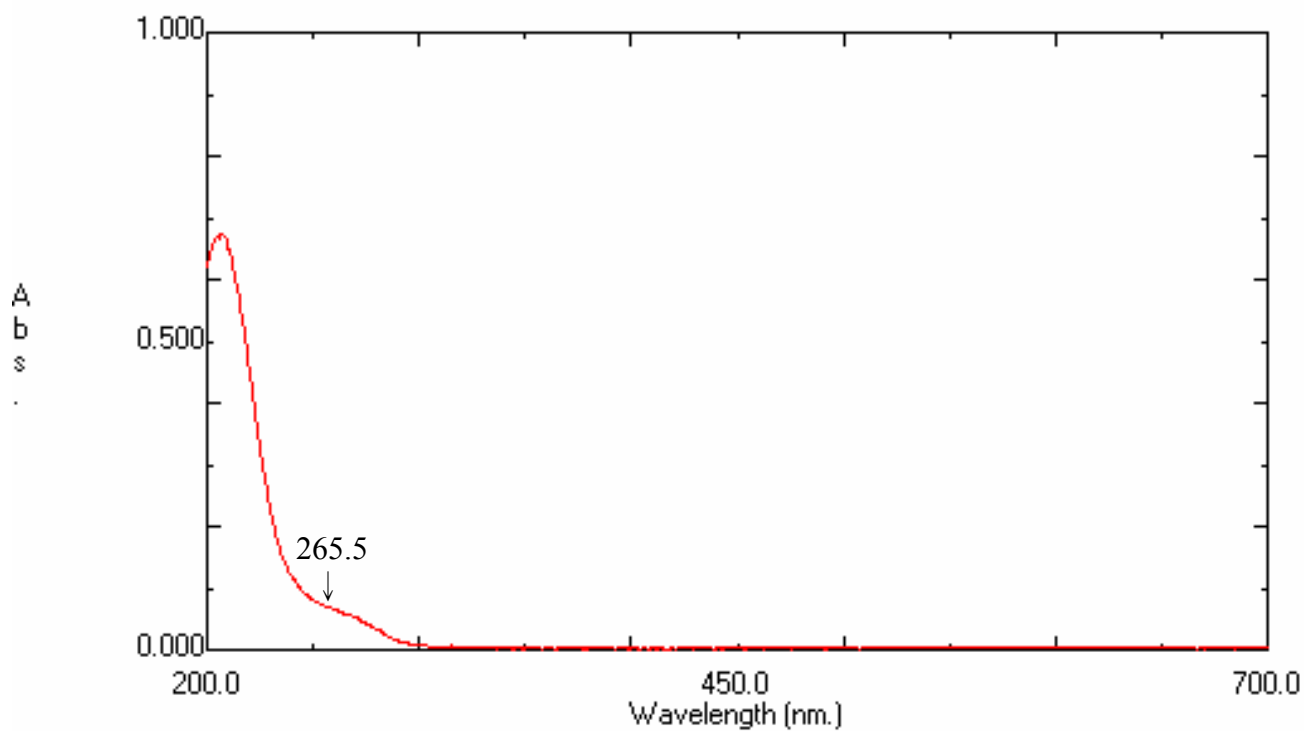
68.30 (C-2)

174.21 (C-1)

176.53 (C-4)

圖五十七、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之結構鑑定。

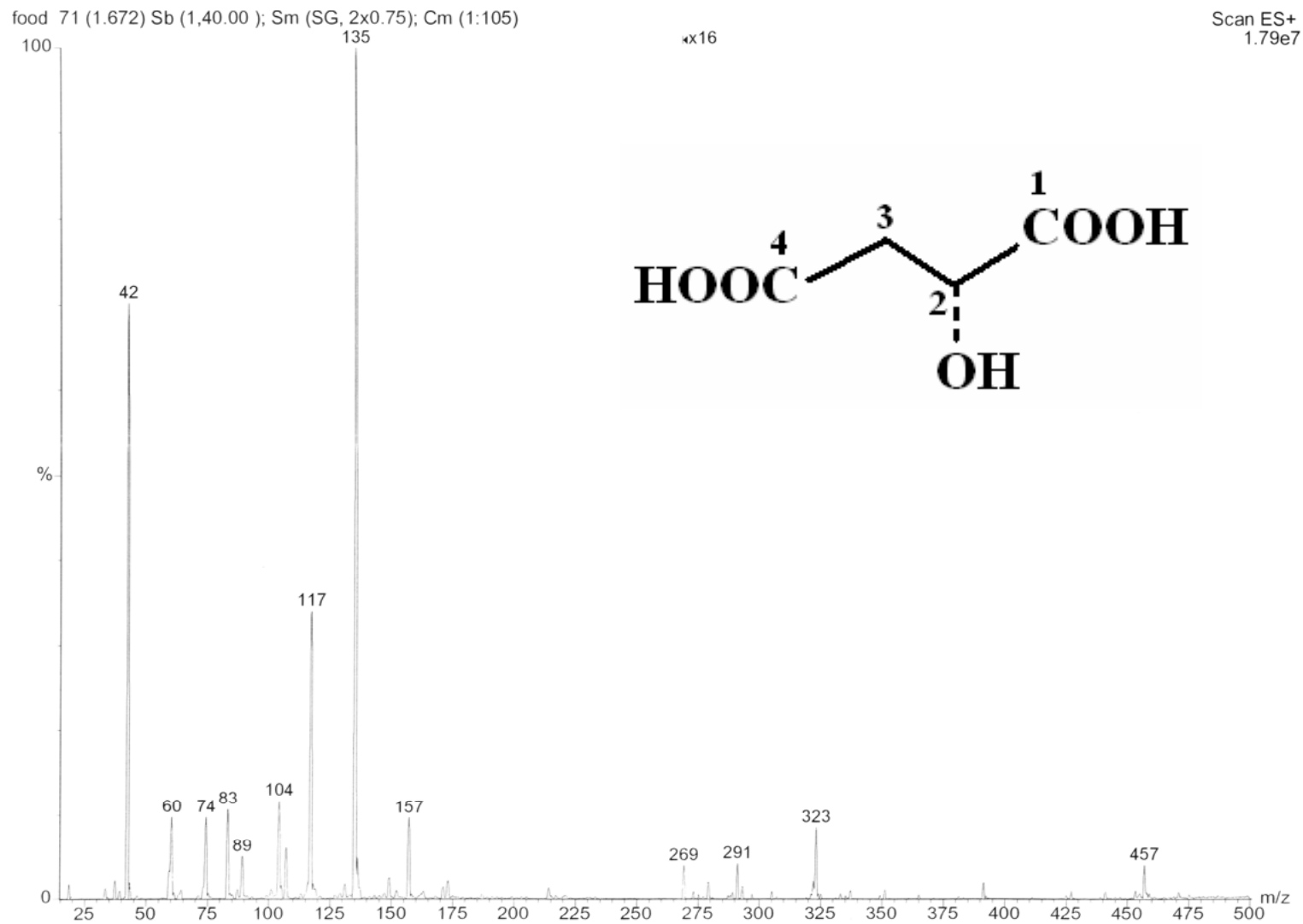
Fig.57. Identification of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) isolated from noni juice.



圖五十八、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之紫外線-可見光光譜圖譜。

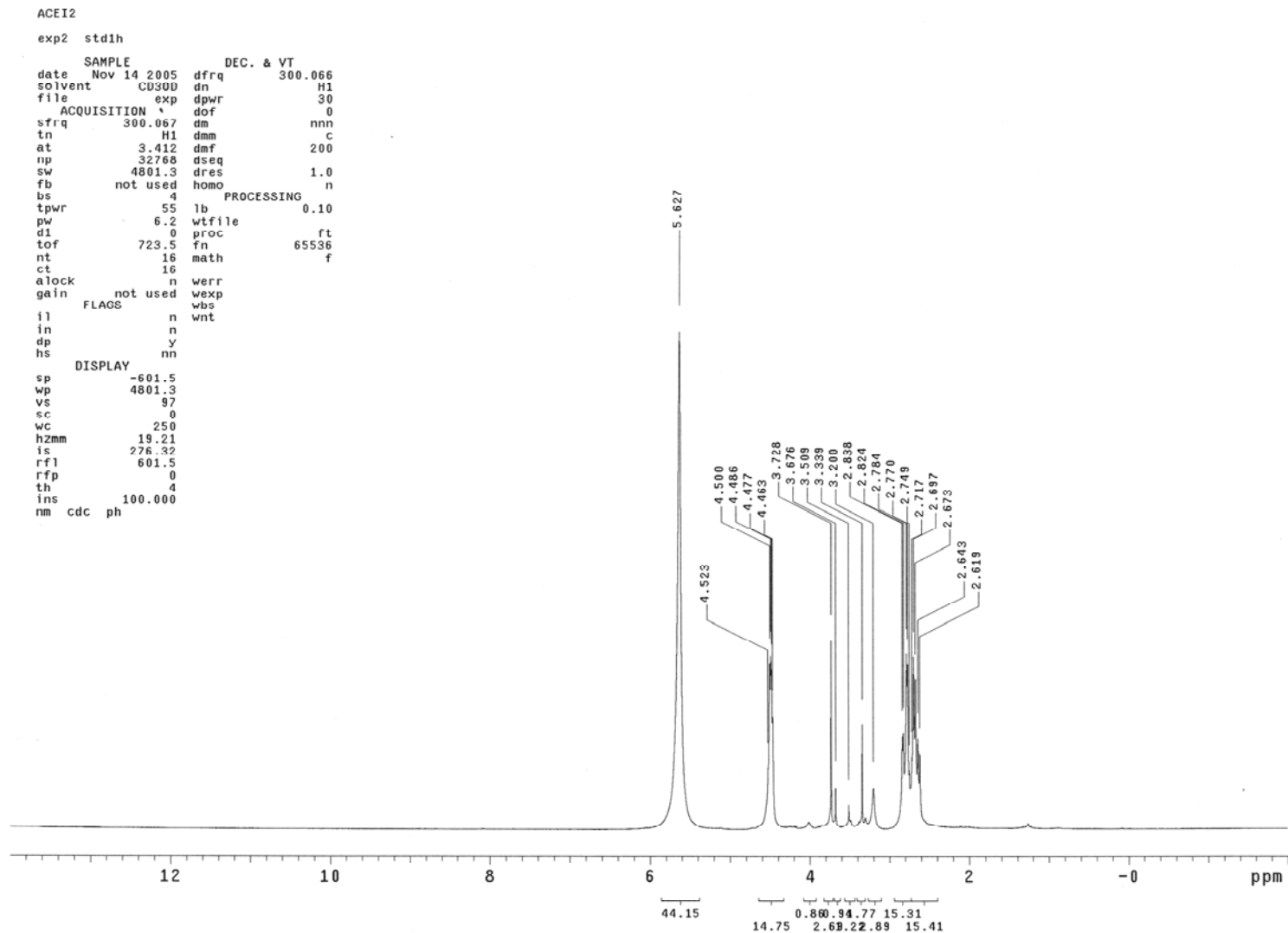
Fig.58. UV-visible spectrum of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) isolated from noni juice.





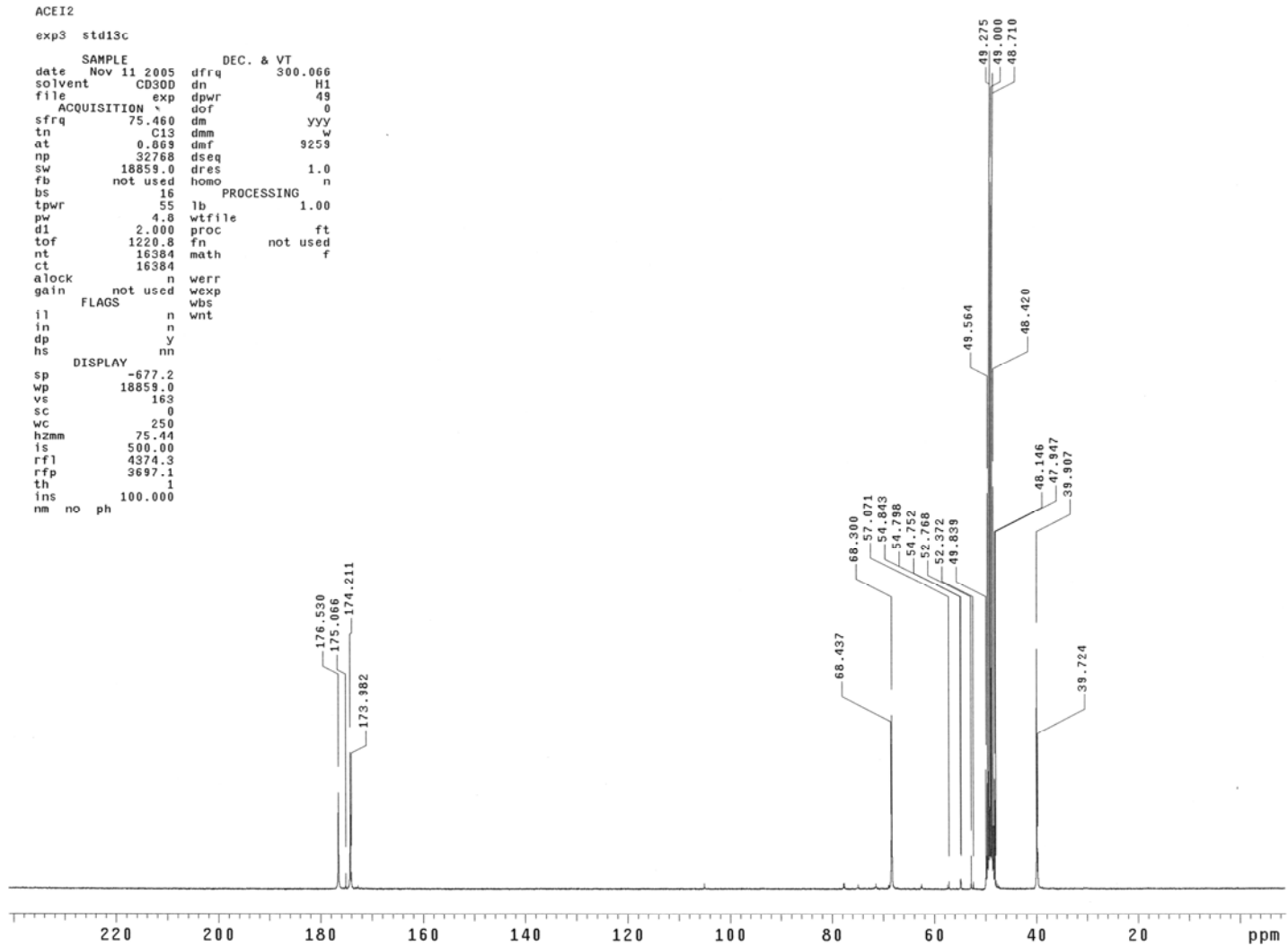
圖五十九、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之質譜圖。

Fig.59. Mass spectrum of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) isolated from noni juice.



圖六十、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之  $^1\text{H}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.60.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) isolated from noni juice.



圖六十一、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之  $^{13}\text{C}$ -核磁共振光譜圖。

Fig.61.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) isolated from noni juice.

ACEI-2 之鑑定結果為 D-Malic acid，便取標準之 D-Malic acid (購自 Sigma-Aldrich) 進行 ACE 抑制活性分析，以做進一步確認。測定結果發現，以 NaOH 調整 D-Malic acid 之 pH 值至 8.3 (與 ACE 反應緩衝液相同) 後，測得之抑制活性僅剩 9.38% (表九)；可見 D-Malic acid 之 ACE 抑制活性乃自於其酸根改變反應之 pH 值，致使 ACE 活性降低，而誤判其具 ACE 之抑制活性。

取乾燥之 noni 果汁粉末，調整其溶液條件，如直接溶於去離子水或以 NaOH 調整 pH 值至 8.3，測定其 ACE 抑制活性。結果不論是直接溶於去離子水或以 NaOH 調整 pH 值至 8.3，noni 果汁同樣具抑制活性，且以 NaOH 調整 pH 值至 8.3 更能確實表現出其抑制活性。與標準之 D-Malic acid 相較之下，得知 noni 果汁中之 ACE 抑制物質並非 D-Malic acid，其中之抑制物質可望進一步分離純化與鑑定。

表九、血管收縮素轉化酶抑制活性之分析

Table 9. Analysis of ACE inhibitory activity

sample	condition	conc. (mg/mL)	ACE inhibition (%) <sup>*</sup>
D-malic acid <sup>**</sup>	H <sub>2</sub> O <sup>***</sup>	3.85	86.54 ± 13.40
	pH 8.3 <sup>****</sup>	3.85	9.38 ± 4.19
noni	H <sub>2</sub> O	3.85	71.32 ± 1.62
	pH 8.3	3.85	81.46 ± 3.19

<sup>\*</sup> Values are the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>\*\*</sup> D-malic acid (standard, Sigma-Aldrich)

<sup>\*\*</sup> sample dissolved in d. H<sub>2</sub>O

<sup>\*\*\*</sup> sample adjusted to pH 8.3

## 伍、結論

運用傳統方法以成熟與未成熟之果實生產 noni 果汁，研究發現，於熟成過程中，成熟之果實軟化速度較快，有利於提高果汁之產量。成熟與未成熟之 noni 果經熟成後果汁之產率分別為 13.3% 和 9.5%。

隨著熟成時間之增加總酚類化合物之含量略微減少；且類黃酮之含量因聚合成縮合單寧而減少。Scopoletin 之衍生物於發酵期間會降解為 scopoletin，但 scopoletin 仍會再持續降解成其他小分子，故 scopoletin 之含量並無顯著的變化。然而，於成熟果實熟成所得之果汁中，總酚類化合物之含量顯著地高過於未成熟之果汁，尤其 scopoletin 含量更遠高過於未成熟之果汁。由此可知，由成熟果實熟成所得之果汁具有較高含量之酚類化合物，亦即具有較佳之保健潛力。

Noni 果汁呈深褐色，pH 值約為 4.0 左右。於熟成過程中，noni 果汁之 pH 值並無顯著之變化；又成熟果實熟成所得之果汁 pH 值皆略低於未成熟果實之果汁，然此酸性可有效地防制微生物生長。顏色測定結果，僅 a 值於熟成過程中具有顯著之變化，且隨著熟成時間之增加，紅色越趨增加。

Noni 果汁之抗氧化能力方面，主要歸功於自由基及超氧陰離子之清除能力。而成熟果實熟成所得之果汁其 ACE 抑制活性皆顯著地大於未成熟之果汁，且其抑制率可達 70% 左右。綜觀之，熟成十週為 noni 果汁之

最佳熟成時間，且以成熟之果實進行熟成為佳。

Noni 含有多種有益身體的特殊成份，其中含有豐富的 scopoletin 及其衍生物。本實驗為首次自 noni 果汁中分離並鑑定出 scopoletin 及其三種衍生物，分別為 scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-glucoside, scopoletin-7-*O*- $\beta$ -glucoside (scopolin) 和 scopoletin 7-*O*-glucosyl-(6'-1'')-apioside (xeroboside ; hymexelsin)。

Noni 果汁之降血壓作用，已知其中富含之 scopoletin 具有舒緩平滑肌促使血管擴張而達到降血壓之功能。然而 noni 果汁中之 ACE 抑制物質，初步分析已知為高極性物質，確實之抑制物質尚待進一步分離鑑定。

## 陸、參考文獻

- 唐孟成、賈之慎、朱祥瑞和呂順霖 (1996) 春秋桑葉中黃酮類化合物總量及提取方法比較。浙江農業大學學報 22(4)：394-398。
- 黃惠玲、李繼勇、蔣江云 (2003) 諾麗果中脂肪酸成分與含量的分析。熱帶作物學報 24(1)：73-75。
- 蔡宗堯 (2004) 酵素水解分離大豆蛋白以製備高血壓抑制胜肽。東海大學食品科學系 碩士論文。
- 鍾玉玲 (2003) 海巴戟天葉、莖及果實粗萃取物的抗氧化活性之比較。嘉南藥理科技大學 生物科技研究所 碩士論文。
- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., Keen, C. L. and Fraga, C. G. (2003) Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. FEBS Lett. 555(3): 597-600.
- Bailey, D. G., Arnold, J. M. O., Bend, J. R., Tran, L. T. and Spence, J. D. (1995) Grapefruit juice-felodipine interaction: reproducibility and characterization with the extended release drug formulation. Br. J. Clin. Pharmacol. 40: 135-140.
- Best R. J. (1944) Studies on a fluorescent substance present in plants. 2. Isolation of the substance in a pure state and its identification as 6-methoxy-7-hydroxy 1: 2 benzo-pyrone. Austral. J. Expt. Biol. Med. Sci. 22: 251-255.
- Burrowes, J. D. and Van, H. G. (2005) Use of alternative medicine by patients



- with stage 5 chronic kidney diseases. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 12(3): 312-325.
- Bushnell, O. A., Fukuda, M. and Makinodan, T. (1950) The antibacterial properties of some plants found in Hawaii. *Pac. Sci.* 4: 167-183.
- Chen, C. H. and Lin, J. Y. (1992) Inhibition of angiotensin-I-converting enzyme by tetrahydroxyxanthenes isolated from *Tripterospermum lanceolatum*. *J. Nat. Pro.* 55: 691-695.
- Chunhieng, T., Hay, L. and Montet, D. (2005) Detailed study of the juice composition of noni (*Morinda citrifolia*) fruits from Cambodia. *Fruits* 60(1): 13-24.
- Cushman, D. W. and Cheung, H. S. (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1648.
- Decker, E.A. and Welch, B. (1990) Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *J. Agric. Food Chem.* 38: 674-677.
- Ditmar, A. (1993) *Morinda citrifolia* L., use in indigenous Samoan medicine. *J. Herbs Spices Med. Plants* 1(3): 77-92.
- Duncan S. H., Flint, H. J. and Stewart, C. S. (1998) Inhibitory activity of gut bacteria against *Escherichia coli* O157 mediated by dietary plant metabolites. *FEMS Micro. Biol. Lett.* 164: 283-288.
- Elliott, S. and Brimacombe, J. (1987) The medicinal plants of Gunung Leuser National Park, Indonesia. *J. Ethnopharmacology* 19: 285-317.

- Erazo, S., Garcia, R., Backhouse, N., Lemus I, I., Delporte, C. and Andrade, C. (1997) Phytochemical and biological study of *Radal Lomatia hirsute* (Proteaceae), J. Ethnopharmacology 57(2): 81-83.
- Erdos, E. G. (1975) Angiotensin I converting enzyme. Circ. Res. 36: 247-255.
- Farah, M. H. and Samuelsson, G. (1992) Pharmacologically active phenylpropanoids from *Senra icana*. Planta Med. 58 (1): 14-18.
- Farine, J. P., Legal, L., Moreteau, B. and Quere, J.-L. L. (1996) Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. Phytochem. 41: 433-438.
- Furusawa, E., Hirazumi, A., Story, S. and Jensen, J. (2003) Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) on Sarcoma 180 ascites tumour in mice. Phytother. Res. 17: 1158-1164.
- Ganal, C. and Hokam, Y. (1993) The effect of Noni fruit extract (*Morinda citrifolia*, Indian mulberry) on thymocytes of BALB/c mouse (Meeting abstract). Nutrition and Cancer, col. II Dept of Pathology, John A. Burns School of Medicine, University of Hawaii. (49999-5002)
- Guest, P.L. (1938) Samoan trees. Appendix E. Mimeogra. The Museum, Honolulu Hawaii. From Uhe 1974.24.
- Hansen, K., Adsersen, A., Brogger Christensen, S., Rosendal Jensen, S., Nyman, U. and Wagner Smitt, U. (1996) Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Olea europaea* and *Olea lancea*.

Phytomedicine 2: 319-325.

- Hansen, K., Nyman, U., Smitt, U. W., Adersen, A., Gudiksen, L., Rajasekharan, S. and Pushpangadan, P. (1995) *In vitro* screening of traditional medicines for anti-hypertensive effect based on inhibition of the angiotensin converting enzyme (ACE). *J. Ethnopharmacology* 48: 43-51.
- Heinicke, R. M. (1983) Xeronine, an alkaloid, useful in medical, food and industrial fields. US 4409144.
- Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyano, T. and Umezawa, K. (1993) Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthol from *Morinda citrifolia*. *Cancer Lett.* 73(2-3): 161-166.
- Hirazumi, A., Furusawa, E., Chow, S. C. and Hokama, Y. (1994) Anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) in intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngeneic mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 37: 145-146.
- Hirazumi, A., Furusawa, E., Chou, S. C. and Hokama, Y. (1996) Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) fruit juice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 39: 7-9.
- Hirazumi, A. and Furusawa, E. (1999) An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. *Phytother. Res.* 13(5) : 380-387.
- Huang, L., Liu, J. F., Liu, L. X., Li, D. F., Zhang, Y., Nui, H. Z., Song, H. Y. and Zhang C. Y. (1993) Antipyretic and anti-inflammatory effects of

- Artemisia annua* L. China journal of Chinese materia medica 18 (1): 44-48; 63-64.
- Julkunen-Titto, R (1985) Phenolic constituents in the leaves of Northern willows : Methods for the analysis of certain phenolics. J. Agric. Food Chem. 33: 213-217.
- Kayser, O. and Kolodziej, H. (1997) Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoids* and *Pelargonium reinforme*. Planta Med. Dec. 63(6): 508-510.
- Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar, M. and Satake, T. (2004) Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. J. Agric. Food Chem. 52: 5843-5848.
- Lacaille-Dubois, M. A., Franck, U. and Wagner, H. (2001) Search for potential Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-inhibitors from plants. Phytomedicine 8(1): 47-52.
- Lee, M. C., Chang, Y. Y. and Yim, M. H. (1998) The chemical structure of polyphenols isolated from cacao bean and their inhibitory effect on ACE. Han'guk Nonghwa Hakhoechi 41(1): 110-117.
- Levand, O. and Larson, H. O. (1979) Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. Planta Med. 36: 186-187.
- Matsui, T., Matsufuji, H., Seki, E., Osajima, K., Nakashima, M. and Osajima, Y. (1993) Inhibition of angiotensin I-converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolyzates derived from sardine muscle.

Biosci. Biotech. Biochem. 57: 922-925.

McCuddin, C. R. (2001) Samoan medicinal plants and their usage.

Department of Medical Services, Government of American Samoa, ADAP 39-1, P. 58.

Millonig, G., Stadlmann, S. and Vogel, W. (2005) Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a noni preparation (*Morinda citrifolia*). Europ. J. Gastroenterol. Hepatol. 17(4): 445-447.

Miyoshi, S., Ishikawa, H., Kaneko, T., Fukui, F., Tanaka, H. and Maruyama S. (1991) Structures and activity of angiotensin converting enzyme inhibitors in an  $\alpha$ -zein hydrolysate. Agric. Biol. Chem. 55: 1313-1318.

Morigawa, A., Kitabatake, K., Fujimoto, Y. and Ikekawa, N. (1986)

Angiotensin converting enzyme inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. Chem. Pharm. Bull. 34(7): 3025-3028.

Morota, T., Sasaki, H., Chin, M., Sato, T., Katayama, N., Fukuyama, K. and

Mitsuhashi, H. (1987) Studies on the crude drug containing the angiotensin I converting enzyme inhibitors. I. On the active principles of *Lycium chinense* Muller. Japanese Journal of Pharmacognosy: Shoyakugaku Zasshi 41: 169-173.

Mueller, B.A., Scott, M.K., Sowinski, K.M. and Prag, K.A. (2000) Noni juice

(*Morinda citrifolia*): hidden potential for hyperkalemia? Am. J. Kidney Dis. 35(2): 310-312.

Ng, T. B., Liu, F., Lu, Y., Cheng, C. H. K. and Wang, Z. (2003) Antioxidant

- activity of compounds from the medicinal herb *Aster tartaricus*. Comp. Biochem. Physiol. Part C 136: 109-115.
- Obidoa, O. and Obasi, S.C. (1991) Coumarin compounds in cassava diets: 2 health implications of scopoletin in gari. Plant Foods Hum Nutr. 41 (3): 283-289.
- Ojewole, J. A. O. and Adesina, S. K. (1983) Mechanism of the hypotensive effect of scopoletin isolated from the fruit of *Tetrapleura tetraptera*. Planta Med. 49(1): 46-50.
- Oksuz, S., Ulubelen, A. and Barla, A. (2002) Terpenoids and aromatic compounds from *Euphorbia heteradena*. Turk J. Chem. 26: 457-463.
- Powell, T. (1969) On various samoan plants and their vernacular names. Br. Foreign J. Bot. 278-285, 342-347, 355-370.
- Randall, J. R., Cheng, S. J., Klaunig, J. E. (1989) Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication of antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis 10 (6): 1003-1008.
- Rao, P. S., Asheervadam, Y., Khaleeullah, M., Rao, N. S. and Murray, R. D. H. (1988) Hymexelsin, an apiose-containing scopoletin glycoside from the stem bark of *Hymenodictyon excelsum*. J. Nat. Prod. 51(5): 959-961.
- Robak, J. and Gryglewski, R. J. (1988) Flavonoids are scavengers of superoxide anions. Biochem. Pharma. 37: 837- 841.
- Runkel, M., Bourian, M. and Legrum, W. (1997) Scopolin and skimmin as constituents of citrus fruits. Fruit Proc. 7(6): 213-216.

- Runkel, M., Moeller, A. and Tegtmeier, M. (1997) Detection of scopolin in the grapefruit (*Citrus paradisi*). *Fresenius J. Anal. Chem.* 359: 516-520.
- Rusia, K. and Sriivastava, S.K. (1987) Antimicrobial activity of some Indian medicinal plants. *Indian Journal of Pharmacological Science.* Jan-Feb: 57-58.
- Sang, S., Wang, M. and Ho, C. T. (2000) Analysis of chemical compounds in noni fruits (*Morinda citrifolia*). 220<sup>th</sup> ACS National Meeting, August 20-24.
- Sang, S., Cheng, X., Zhu, N., Stark, R. E., Badmaev, V., Ghai, G., Rosen, R. T. and Ho, C. T. (2001) Flavonol glycosides and novel iridoid glycoside from the leaves of *Morinda citrifolia*. *J. Agric. Food Chem.* 49 (9): 4478-4481.
- Seidemann, J. (2001) Noni: questionable magic fruit from the South Seas. *Pharmazeutische Zeitung* 146(40): 36-40.
- Shaw, C. Y., Chen, C. H., Hsu, C. C., Chen, C.C. and Tsai, Y. C. (2003) Antioxidant properties of scopoletin isolated from *Sinomonium acutum*. *Phytotherapy Research* 17: 823-825.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992) Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 40: 945-948.
- Sibanda, S., Ndengu, B., Multari, G., Pompei, V. and Galeffi, C. (1989) A coumarin glucoside from *Xeromphis obovata*. *Phytochemistry* 28(5): 1550-1552.

- Su, B. N., Pawlus, A. D., Jung, H. A., Keller, W. J., McLaughlin, J. L. and Kinghorn, A. D. (2005) Chemical constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) and their antioxidant activity. *J. Nat. Prod.* 68:592-595.
- Su, C. X., Jensen, J. C., and Zhou, B. N. (2005) *Morinda citrifolia* (Noni): Its effect on insulin secretion by G-protein-coupled receptor systems. 229th ACE National Meeting, March 13-17.
- Sung, S. H., Park, J. H. and Kim, Y. C. (1998) Hepatoprotective activity of scopoletin, a constituent of *Solaumly artum*. *Archives of Pharmacological Research* 21 (6): 718-722.
- Uchida, S., Ikari, N., Ohta, H., Niwa, M., Nonaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. (1987) Inhibitory effects of condensed tannins on angiotensin converting enzyme. *Japan J. Pharmacol.* 43: 242-246.
- Ueno, H., Horie, S., Nishi, Y., Shogawa, H., Kawasaki, M., Suzuki, S., Hayashi, T., Arisawa, M., Shimizu, M., Yoshizaki, M. and Morita, N. (1988) Chemical and pharmaceutical studies on medicinal plants in Paraguay. Geraniin, an angiotensin-converting enzyme inhibitor from 'Paraparai mi,' *Phyllanthus niruri*. *J. Nat. Prod.* 51: 357-359.
- Uhe, G. (1974) Medicinal plants of Samoa. *Econ. Bot.* 28: 1-30.
- Wagner, H., Elbl, G., Lotter, H. and Guinea, M. (1991) Evaluation of natural products as inhibitors of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Pharmaceutical and Pharmacological Letters* 1: 15-18.
- Wang, M., Kikuzaki, H., Csiszar, K., Boyd, C. D., Maunakea, A., Fong, S. F.



- T., Ghai, G., Rosen, R. T., Nakatani, N. and Ho, C. T. (1999) Novel tri-saccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). *J. Agric. Food Chem.* 47: 4880-4882.
- Wang, M., Kikuzaki, H., Jin, Y., Nakatani, N., Zhu, N., Csiszar, K., Boyd, C., Rosen, R. T., Ghai, G., and Ho, C. T. (2000) Novel glycosides from noni (*Morinda citrifolia*). *J. Nat. Prod.* 63: 1182-1183.
- Wang, M. Y. and Su, C. (2001) Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 952: 161-168.
- Wei, G. J., Huang, A. S. and Ho, C. T. (2001) Chemistry and flavor of noni fruit juice. 222th ACE National Meeting, August 26-30.
- Wei, G. J., Huang, T. C., Huang, A. S. and Ho, C. T. (2004) Flavor compounds of noni fruit (*Morinda citrifolia*) juice. *ACS Symposium Series* 871: 52-61.
- Whistler, A. (1992) Polynesian Herbal Medicine. National Tropical Botanical Garden. Lawai, Kauai, Hawaii 173-174.
- Wu, J. P. and Ding, X. L. (2002) Characterization of inhibition and stability of soy-protein-derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. *Food Res. Int.* 35: 367-375.
- Yamaguchi, S., Ohnishi, J., Sogawa, M., Maru, I., Ohta, Y. and Tsukada, Y. (2002) Inhibition of Angiotensin I converting enzyme by noni (*Morinda citrifolia*) juice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 49(9): 624-627.
- Yee, G. C., Stanley, D. L., Pessa, L. J., Costa, T. D., Beltz, S. E., Ruiz, J. and Lowenthal, D. T. (1995) Effect of grapefruit juice on blood cyclosporin

concentration. Lancet 345(8955): 955-956.

Yu, H., Li, S., Huang, M. T. and Ho, C. T. (2004) Anti-inflammatory constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) fruits. IFT Annual Meeting 33F-28, July 12-16 Las Vegas, NV.

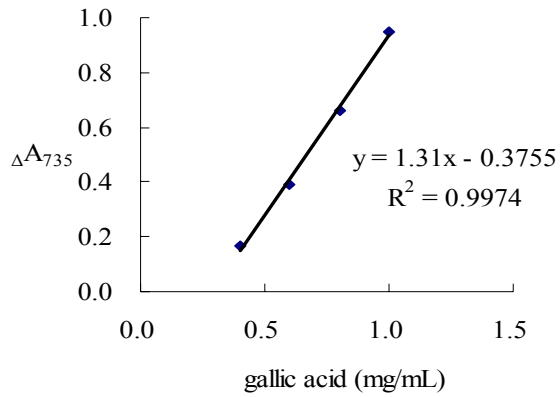
Zin, Z. M., Abdul-Hamid, A. and Osman, A. (2002) Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) root, fruit and leaf. Food Chem. 78: 227-231.

[http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit\\_juices.asp](http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit_juices.asp)

[http://www.drinkandshare.com/other\\_products.htm](http://www.drinkandshare.com/other_products.htm)

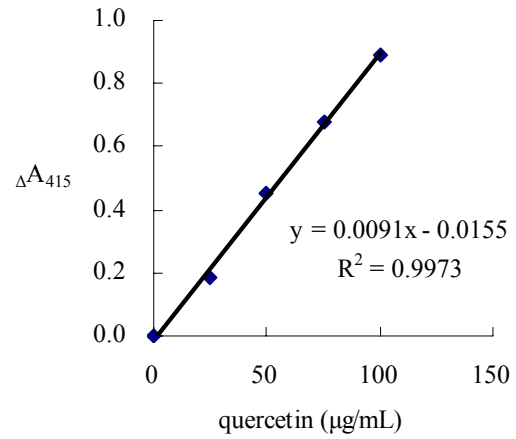
<http://www.sample.nonijade.com/index-2.htm>

## 柒、附錄



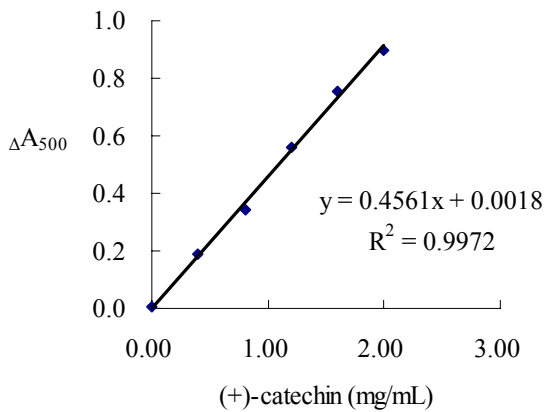
附錄一、沒食子酸之標準曲線圖。

Appendix 1. Standard curve of gallic acid for total phenolic compound.



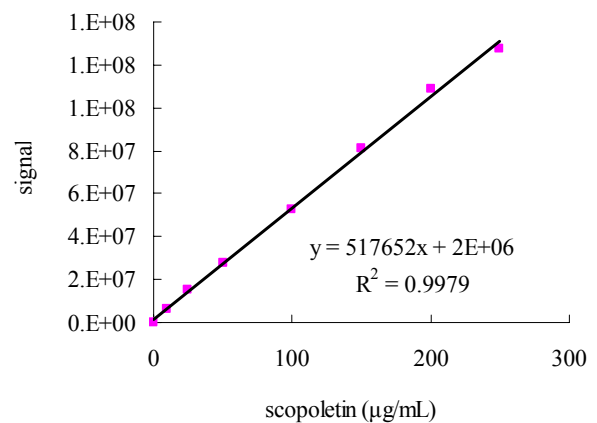
附錄二、槲皮酮之標準曲線圖。

Appendix 2. Standard curve of quercetin for total flavonoid.



附錄三、兒茶素之標準曲線圖。

Appendix 3. Standard curve of (+)-catechin for condensed tannin.



附錄四、Scopoletin 之標準曲線圖。

Appendix 4. Standard curve of scopoletin

附錄五、熟成過程中 noni 果汁之功能性成分含量

Appendix 5. The functional compounds contents of noni juice in different ripening times

Fermentation time (weeks)	total phenolic compounds (mg/mL)		flavonoids (µg/mL)		condensed tannin (mg/mL)		scopoletin (µg/mL)	
	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe
2	2.16 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.29 ± 0.10 <sup>a</sup>	23.39 ± 2.59 <sup>a</sup>	24.82 ± 3.46 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.02 <sup>d</sup>	123.02 ± 27.82	191.53 ± 47.57
4	1.95 ± 0.04 <sup>b<sup>y</sup></sup>	2.29 ± 0.11 <sup>a<sup>x</sup></sup>	13.43 ± 1.99 <sup>b</sup>	15.24 ± 0.30 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.04 <sup>d</sup>	142.46 ± 35.81	218.40 ± 44.75
6	1.87 ± 0.08 <sup>b<sup>y</sup></sup>	2.24 ± 0.06 <sup>a<sup>x</sup></sup>	10.57 ± 0.47 <sup>bc</sup>	12.81 ± 0.68 <sup>bc</sup>	1.03 ± 0.14 <sup>c</sup>	1.09 ± 0.08 <sup>c</sup>	136.63 ± 27.58	225.10 ± 52.10
8	1.92 ± 0.05 <sup>b<sup>y</sup></sup>	2.36 ± 0.05 <sup>a<sup>x</sup></sup>	6.67 ± 3.55 <sup>c<sup>y</sup></sup>	11.51 ± 2.77 <sup>c<sup>x</sup></sup>	1.15 ± 0.18 <sup>ac</sup>	1.25 ± 0.09 <sup>ab</sup>	129.93 ± 19.28 <sup>y</sup>	230.66 ± 53.45 <sup>x</sup>
10	1.95 ± 0.17 <sup>b<sup>y</sup></sup>	2.41 ± 0.19 <sup>a<sup>x</sup></sup>	8.23 ± 0.42 <sup>c</sup>	9.49 ± 1.16 <sup>cd</sup>	1.24 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.03 <sup>a</sup>	120.45 ± 25.40 <sup>y</sup>	223.50 ± 52.93 <sup>x</sup>
12	1.36 ± 0.08 <sup>c</sup>	1.47 ± 0.05 <sup>b</sup>	6.60 ± 1.73 <sup>c</sup>	7.69 ± 1.28 <sup>d</sup>	1.11 ± 0.01 <sup>ac</sup>	1.20 ± 0.03 <sup>bc</sup>	117.63 ± 34.15 <sup>y</sup>	213.95 ± 64.42 <sup>x</sup>

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>a-d</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

<sup>x-y</sup> Mean in the same row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

附錄六、熟成過程中 noni 果汁之 scopoletin 衍生物含量\*

Appendix 6. The contents of scopoletin derivatives from noni juice in different ripening times

fermentation time (weeks)	scopoletin derivative A		scopoletin derivative B		scopoletin derivative C	
	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe
2	61.88 ± 4.99 <sup>a y</sup>	71.77 ± 7.93 <sup>a x</sup>	11.89 ± 0.08 <sup>a</sup>	11.33 ± 2.28 <sup>a</sup>	7.56 ± 0.84 <sup>a</sup>	7.80 ± 0.52 <sup>a</sup>
4	26.15 ± 3.93 <sup>b y</sup>	41.01 ± 8.42 <sup>b x</sup>	7.45 ± 1.70 <sup>b</sup>	8.19 ± 1.83 <sup>ab</sup>	4.83 ± 0.33 <sup>b y</sup>	6.24 ± 0.71 <sup>b x</sup>
6	13.28 ± 3.23 <sup>c y</sup>	23.30 ± 4.73 <sup>c x</sup>	5.38 ± 0.92 <sup>bc</sup>	6.09 ± 2.91 <sup>b</sup>	3.91 ± 0.74 <sup>bc y</sup>	5.11 ± 0.66 <sup>c x</sup>
8	5.98 ± 2.10 <sup>cd</sup>	11.80 ± 3.53 <sup>d</sup>	3.91 ± 1.12 <sup>bc</sup>	5.06 ± 2.49 <sup>b</sup>	3.44 ± 0.86 <sup>c</sup>	4.38 ± 0.56 <sup>cd</sup>
10	1.95 ± 1.25 <sup>d</sup>	5.36 ± 2.37 <sup>de</sup>	2.23 ± 1.19 <sup>c</sup>	5.54 ± 1.93 <sup>b</sup>	2.64 ± 0.85 <sup>cd y</sup>	4.01 ± 0.39 <sup>d x</sup>
12	2.10 ± 1.44 <sup>d</sup>	2.30 ± 1.36 <sup>e</sup>	4.64 ± 0.52 <sup>bc</sup>	4.89 ± 1.76 <sup>b</sup>	2.05 ± 0.63 <sup>d</sup>	3.07 ± 0.16 <sup>d</sup>

\* scopoletin derivatives 之含量以 scopoletin derivative/scopoletin (%) 表示。

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>a-e</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

<sup>x-y</sup> Mean in the same row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

附錄七、熟成過程中 noni 果汁之顏色及 pH 值

Appendix 7. The color and pH values of noni juice in different ripening times

fermentation time (weeks)	L		a		b		pH	
	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe
2	34.84 ± 4.17	35.14 ± 7.93	14.30 ± 1.00 <sup>c</sup>	12.54 ± 2.30 <sup>c</sup>	20.28 ± 2.67	18.78 ± 3.06	4.21 ± 0.13	4.18 ± 0.13
4	27.45 ± 6.94	31.02 ± 8.61	18.98 ± 2.60 <sup>b</sup>	17.16 ± 0.42 <sup>b</sup>	16.63 ± 4.66	17.46 ± 4.39	4.07 ± 0.16	4.03 ± 0.12
6	30.70 ± 8.44	34.35 ± 11.19	22.17 ± 1.08 <sup>ab</sup>	19.62 ± 0.76 <sup>ab</sup>	19.15 ± 5.57	19.86 ± 5.99	4.12 ± 0.14	4.07 ± 0.11
8	28.27 ± 9.31	32.52 ± 11.87	23.20 ± 1.73 <sup>a</sup>	20.78 ± 0.33 <sup>a</sup>	17.89 ± 6.32	19.38 ± 7.01	4.13 ± 0.13	4.09 ± 0.09
10	26.93 ± 7.18	31.10 ± 11.31	24.42 ± 2.19 <sup>a</sup>	22.16 ± 0.59 <sup>a</sup>	17.19 ± 5.03	19.05 ± 7.08	4.11 ± 0.12	4.08 ± 0.08
12	21.95 ± 5.92	26.22 ± 9.63	22.20 ± 3.10 <sup>ab</sup>	21.33 ± 2.10 <sup>a</sup>	13.83 ± 4.31	16.25 ± 6.46	4.05 ± 0.08	4.03 ± 0.06

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>a-c</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

附錄八、熟成過程中 noni 果汁之抗氧化能力

Appendix 8. The antioxidant activity of noni juice in different ripening times

fermentation time (weeks)	DPPH scavenging (%)		O <sub>2</sub> <sup>-·</sup> scavenging (%)		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> scavenging (%)		Fe <sup>2+</sup> chelating (%)	
	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe	unripe	ripe
2	83.63 ± 6.09	81.61 ± 4.69 <sup>a</sup>	99.75 ± 0.07 <sup>a</sup>	98.33 ± 0.74 <sup>a</sup>	8.79 ± 2.00	8.23 ± 3.18 <sup>c</sup>	75.04 ± 15.54 <sup>a</sup>	60.19 ± 14.89 <sup>a</sup>
4	71.80 ± 9.07	72.46 ± 2.55 <sup>ab</sup>	98.10 ± 1.14 <sup>ab</sup>	96.25 ± 0.84 <sup>ab</sup>	13.72 ± 1.44	16.59 ± 3.59 <sup>bc</sup>	45.22 ± 13.36 <sup>b</sup>	41.60 ± 13.39 <sup>ab</sup>
6	71.93 ± 7.64	76.38 ± 2.55 <sup>ab</sup>	95.74 ± 1.92 <sup>b</sup>	94.91 ± 1.65 <sup>b</sup>	21.45 ± 12.42	26.70 ± 11.11 <sup>a</sup>	32.94 ± 13.88 <sup>b</sup>	29.93 ± 8.25 <sup>b</sup>
8	74.80 ± 6.39	70.64 ± 6.06 <sup>b</sup>	94.78 ± 2.42 <sup>bc</sup>	94.41 ± 2.79 <sup>bc</sup>	12.98 ± 4.59	21.35 ± 6.50 <sup>b</sup>	45.21 ± 13.94 <sup>b</sup>	34.04 ± 18.41 <sup>b</sup>
10	80.79 ± 4.85	79.73 ± 0.83 <sup>ab</sup>	94.31 ± 0.52 <sup>bc</sup>	94.68 ± 0.92 <sup>b</sup>	18.15 ± 7.94 <sup>y</sup>	32.90 ± 6.53 <sup>ax</sup>	33.51 ± 11.53 <sup>b</sup>	38.64 ± 4.74 <sup>b</sup>
12	78.93 ± 7.42	75.92 ± 10.67 <sup>ab</sup>	91.69 ± 4.23 <sup>c</sup>	91.47 ± 1.54 <sup>c</sup>	11.36 ± 1.87 <sup>y</sup>	33.53 ± 6.84 <sup>ax</sup>	30.02 ± 9.76 <sup>b</sup>	22.84 ± 5.10 <sup>b</sup>

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>a-c</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

<sup>x-y</sup> Mean in the same row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

附錄九、熟成過程中 noni 果汁之 ACE 抑制率

Appendix 9. The ACE inhibition of noni juice in different ripening times

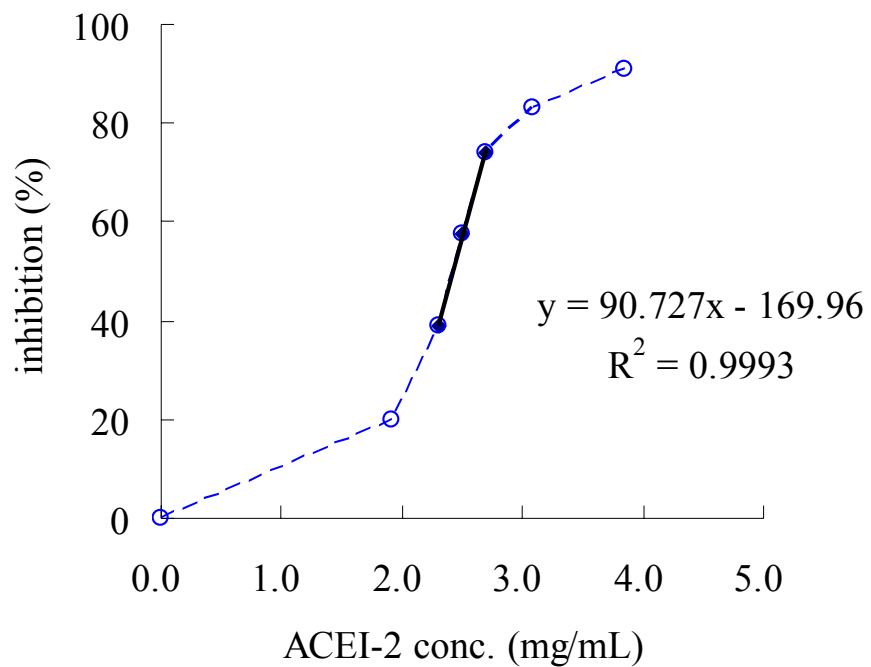
fermentation time (weeks)	ACE inhibition (%)	
	unripe	ripe
2	50.82 ± 0.35 <sup>ab y</sup>	72.57 ± 3.69 <sup>a x</sup>
4	31.80 ± 3.95 <sup>c y</sup>	74.06 ± 3.87 <sup>a x</sup>
6	53.99 ± 19.07 <sup>ab y</sup>	76.15 ± 1.81 <sup>a x</sup>
8	48.23 ± 17.21 <sup>ab y</sup>	74.37 ± 2.62 <sup>a x</sup>
10	63.03 ± 12.37 <sup>a y</sup>	77.33 ± 2.33 <sup>a x</sup>
12	42.64 ± 0.35 <sup>bc</sup>	69.12 ± 9.91 <sup>b</sup>

Each value is the mean ± standard deviation (n = 3).

<sup>a-c</sup> Mean in the same column with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

<sup>x-y</sup> Mean in the same row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).





附錄十、ACE 抑制物 2 (ACEI-2) 之 ACE 抑制標準曲線圖。

Appendix 10. Standard curve of ACE inhibitor 2 (ACEI-2) for ACE inhibition.