

第一章 前言

油脂或富含油脂的食品在貯藏過程中容易因為受到光、熱輻射、過氧化脂質及金屬離子等作用而氧化酸敗 (rancidity)，油脂氧化酸敗時不但會使食品喪失營養及商品價值，亦會對食用者的健康造成不良的影響 (五十嵐，1986)。油脂氧化的發生除了需要氧氣之外，還需要促氧化因子的存在或是能量的提供等等。在食品加工方面，物理方法以低溫、隔絕光線、排除氧氣等方式去除促氧化因子；而在化學方法上則是添加抗氧化劑消除脂質氧化過程中所產生的各種自由基 (free radical) 或衍生脂質自氧化中間產物的物質，中斷脂質氧化的連鎖反應 (chain reaction)，延緩脂質氧化的進行 (Fennema, 1985)。

自 1960 年代丁基羥基甲氧苯 (butylated hydroxyanisole, BHA) 及二丁基羥基甲苯 (butylated hydroxytoluene, BHT) 等合成抗氧化劑開發以來，因為價格低廉、效力及安定性十分優越，同時不會造成食品風味的改變，因而廣泛使用於食品工業，用以抑制食品油脂的氧化酸敗；但在 1975 年後，陸續有一些研究報告指出 BHA 及 BHT 會使實驗動物之肝、腎損傷，甚至會誘發腫瘤，其氧化產物亦會引起染色體變異 (顏，1993；Branen, 1975；Imida 等，1983；Ito 等，1983 與 1986；)，使得這些合成抗氧化劑的安全性受到質疑，以致於在歐美有些國家已經禁用或限制使用範圍。因此具強抗氧化性且安全性高的天然抗氧化劑益顯重要。目前較常見的天然抗氧化劑為 α -生育醇 (α -tocopherol)，但因其製造價格比較昂貴，而且溶解性、抗氧化性均不如人工合成之抗氧化劑，加上添加過量時反而具有促氧化作用 (prooxidation) 等因素，使得 α -生育醇在實際應用上受到限制。而在許多研究已證實各類植物中存在多種型式的抗氧化物質 (Larson, 1988)，因此由自然界中尋找更安全有效的天然抗氧化物質便成為食品研究者的重要課題之

一。

香辛植物最早用於醫療上，其主要的藥理活性為促進食慾、健胃整腸、驅風等（William and Thomson，1978）。在食品方面，由於香辛植物具有其特有的芳香氣味及辛辣味，故被用來做為賦與風味的調味品，且經長期研發後，其被推廣至使用於更多的食品中之賦香、強化、修飾等（Heath，1978）。許多有關香辛植物的抗氧化及香氣成分之研究，從1930年就已展開，例如丁香（clove）、肉豆蔻（nutmeg）、肉桂葉（cinnamon leaf）、胡椒（pipper）、迷迭香（rosemary）、鼠尾草（sage）、薑（ginger）、薑黃（curcuma）、羌活（*Notopterygium incisum*）及草果（fruit of *Amomum tsao-ko* L.）、紅豆蔻（fruit of *Alpinia galanga*）等（岩井和中谷，1989；蘇等，1991；吳和蘇，1996；林，1997）。

本實驗室對於多種中藥、農產廢棄物等抗氧化性成分研究至今多年，已稍具基礎，此次本研究以中藥篇蓄為研究對象：一方面基於嘗試開發天然抗氧化劑之目標，亦進行對篇蓄之抗氧化性溶劑萃取物中抗氧化成分之分離、純化及鑑定的工作；另一方面利用水蒸氣蒸餾溶劑萃取法(Likens-Nickerson extraction)及超臨界二氧化碳萃取法(supercritical CO₂ extraction)萃取篇蓄的揮發性萃取物進行化學組成之分析，並探討其抗氧化性，實驗流程如圖一。

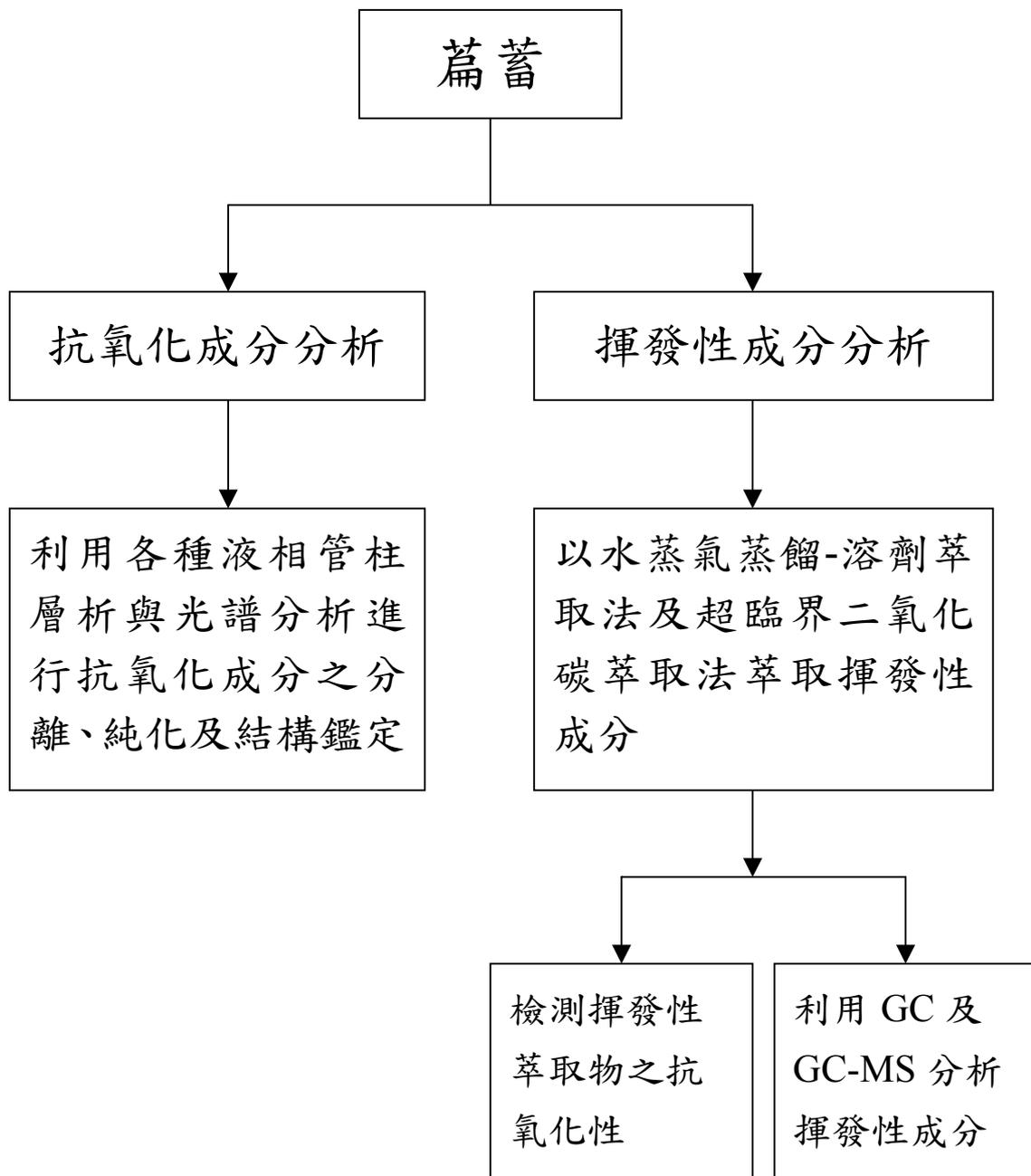


圖 1、實驗設計流程圖。

Fig 1. Scheme of experimental design.

第二章 文獻整理

第一節 油脂自氧化作用(lipid autoxidation)

油脂及含油脂食品的氧化酸敗 (rancidity)，長久以來即為食品劣化的主要原因。近年來其對人體的影響亦逐漸受到重視，這是因為油脂酸敗除了會產生低分子揮發性物質使食品產生不悅的油耗味及黏度變大、顏色加深等食品劣化現象，伴隨油脂酸敗所裂解的產物，對生物體也有不良的影響 (Kubow, 1990; Niki 等, 1991; Minetti 等, 1993)。

1. 油脂酸敗

油脂酸敗一般可分為以下三種類型 (Hudson, 1990)：

(1) 水解型酸敗(hydrolytic rancidity)或脂肪酸型酸敗(fatty acid rancidity)。

這是因為食品中含有脂解酵素 (lipase) 或黴菌所生脂解酵素時，會與三酸甘油酯或脂肪酸作用生成一些低分子脂肪酸，如丁酸、己酸、辛酸等。

(2) 酮型酸敗 (ketonic rancidity)。

這是由於微生物內酵素之作用使一些低分子脂肪酸經酮酸反應而生成碳數較少之甲基酮衍生物。

(3) 氧化型酸敗 (oxidative rancidity)。

當油脂中的多元不飽和脂肪酸受到氧氣作用所引起的氧化作用即稱為氧化型酸敗，此種氧化作用又稱油脂自氧化作用 (lipid autoxidation)。這類型酸敗是最常見且最主要的油脂酸敗。

2. 油脂自氧化作用(lipid autoxidation)

油脂自氧化作用是由於油脂所含戊二烯雙鍵中間之甲烯基（ α -methylene； $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ ）上因某種外在因素失去一個質子而形成活性極高的自由基，進一步進行過氧化連鎖反應所引起的。油脂所含雙鍵數愈多，形成自由基的機率將愈高，且更易加速油脂氧化作用的進行。此自由基會與氧分子作用形成過氧化自由基（peroxy radical），再經連鎖反應而形成不安定的氧化一級產物-脂質氫過氧化物。整個油脂自氧化作用是不飽和脂肪酸或含不飽和脂肪酸的油脂因輻射、助氧化劑或酵素的存在，促使其與氧分子結合，產生氫過氧化物，再分解成醛、酮及低級脂肪酸或是形成聚合物的過程。脂質自氧化作用可分為三個步驟：

(1) 起始反應（initiation of autoxidation）

藉由單旋態氧（singlet state oxygen， $^1\text{O}_2$ ）、過渡金屬、光、熱或是脂質氧化過程中產生的脂質自由基（ $\text{R}\cdot$ ）及脂質自氧化自由基（ $\text{ROO}\cdot$ ）等高能量物質引發起始反應，其含攻擊尚未氧化的多元不飽和脂肪酸（ RH ），使多元不飽和脂肪酸的戊二烯中間之甲烯基脫落一個氫質子，形成活性極高的脂質自由基。此步驟反應較慢，是脂質氧化速率的決定步驟。

(2) 連鎖反應期（propagation of autoxidation）

此時期的主要反應為生成其他自由基，脂質自由基在連鎖反應（圖 2）的過程中與氧反應形成過氧化自由基（ $\text{ROO}\cdot$ ），過氧化自由基再去攻擊其它不飽和脂肪酸，拔取其質子產生新的脂質自由基與脂質氫過氧化物（lipid hydroperoxides），此步驟不斷進行直到系統內所有不飽和脂肪酸全部變成自由基為止。（圖 3）為不飽和脂質自氧化反應在各階段的變化（Perkins，1967）。氧化初期會先經過氧化誘導期（induction period），先形成氫過氧化物，在氫過氧化物形成量達最高點後開始分解。

(3) 終止反應期 (termination of autoxidation)

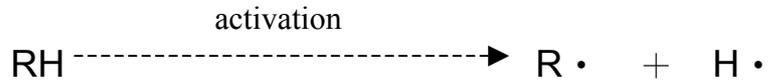
此時期主要反應為自由基之間相互結合，形成相對穩定的產物。氫過氧化脂質非常不安定，在此時期其會形成醛、酮、醇、酸及短鏈的碳氫化合物等低分子揮發性物質或聚合成非揮發性的雙聚物 (dimer)、三聚物 (trimer) 或多聚物 (polymer) 等高分子物質 (圖 4) (Allen and Hamilton, 1983; Frankel, 1984)。

脂質自氧化過程中所產生之自由基、氫過氧化物或醛、酮、醇和酸等物質會使食品中蛋白質變性、維生素等受到破壞；而一些低分子揮發性物質則使食品產生不悅的油耗味，同時在脂質自氧化過程中的最後階段會發生聚合反應，使氫過氧化物互相結合成雙聚物或多聚物，造成食品顏色加深、黏度變大、比重變大，因而降低食品營養及商品價值；對生物體亦會造成老化、肝病及癌症等疾病，近年來由動物實驗得知飲食中含有高量過氧化脂質不僅會促進膽固醇氧化，亦間接導致動脈硬化，引發種種文明病 (Yagi, 1987; 陳惠英, 1996)。

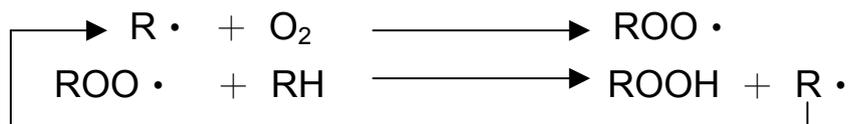
在生物體生理方面，多元不飽和脂肪酸主要含於構成粒線體小胞體膜、紅血球膜、細胞膜等生物體膜的磷脂質 (phospholipids) 中，若不飽和脂肪酸上的質子被拔除而形成自由基時，亦會誘發氧化連鎖反應，產生過氧化脂質。當體內囤積過多氫過氧化脂質時，將造成生物體膜選擇通透性及被動運輸等機能受損，使細胞機能降低並且壞死，此為造成血栓病、動脈硬化、肝臟病變、肺浮腫、皮膚病，白內障及網膜症等之直接或間接原因。此外，會導致前列腺素 (prostaglandins) 代謝、轉換之失衡以及加速衰老及致癌等 (八木和五島, 1981; Halliwell and Gutteridge, 1984; 內山等, 1985; 五十嵐等, 1986; Hudson, 1990; Kubow, 1990; Niki 等, 1991); 幸而功能正常的生物體內均有抑制、分解自由基及過氧化脂質的自然防禦系統，例如細胞內含有超氧歧化 (superoxide dismutase, SOD)，

觸 (catalase)，麩胱 過氧化 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 等酵素群均能消除其活性；細胞外主要的防禦系統則來自於一些具有抗氧化性的物質。如維生素 E (生育醇, tocopherol)、維生素 C (抗壞血酸, ascorbic acid)、類胡蘿蔔素 (carotenoids)，麩胱 、尿酸及膽汁酸等物質，皆能中斷脂質過氧化的連鎖反應 (圖 5) (五十嵐等, 1986)。在正常狀態下，自然防禦系統可完善地保護生物體，但是當人類攝取過多的不飽和脂肪酸、煙及酒，抑或是抗氧化維生素攝取量不夠、受到毒、藥物及輻射線等的侵害，甚至於生活不正常、長期處於壓力下時，這些因脂質氧化所產生的自由基便開始對身體產生傷害，引發各種疾病。

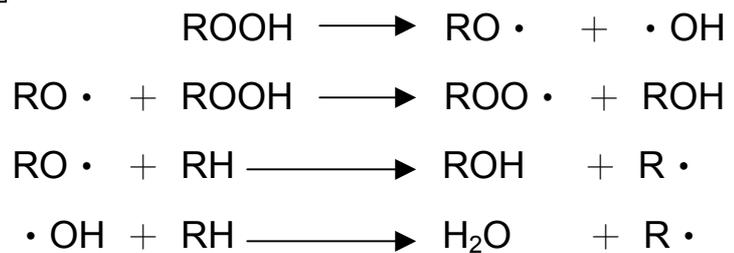
Initiation



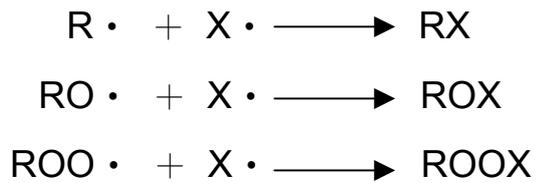
Propagation



Chain branching reaction



Termination



RH : unsaturated fatty acid, ROOX : lipid peroxide

圖2、脂質自氧化連鎖反應。

Fig 2. Autoxidation chain reaction of lipid. (Nawar, 1985)

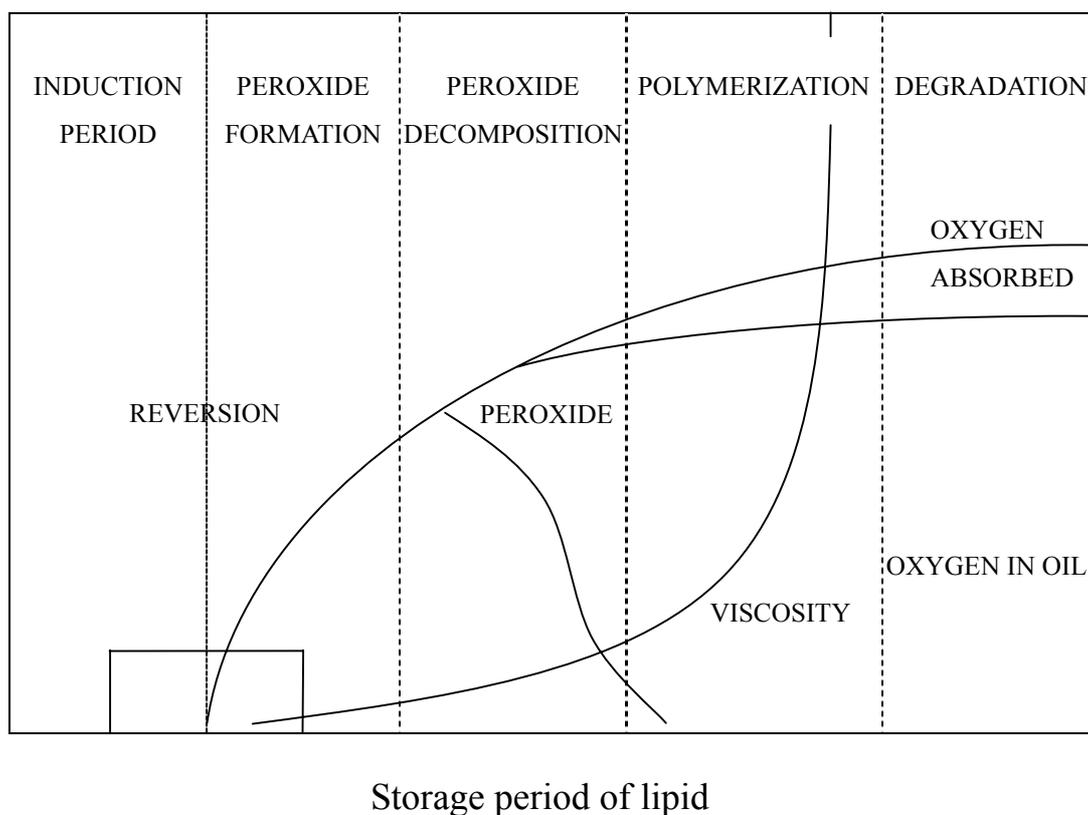


圖3、油脂自氧化的反應階段。

Fig 3. The stages of lipid autoxidation. (Perkins , 1967)

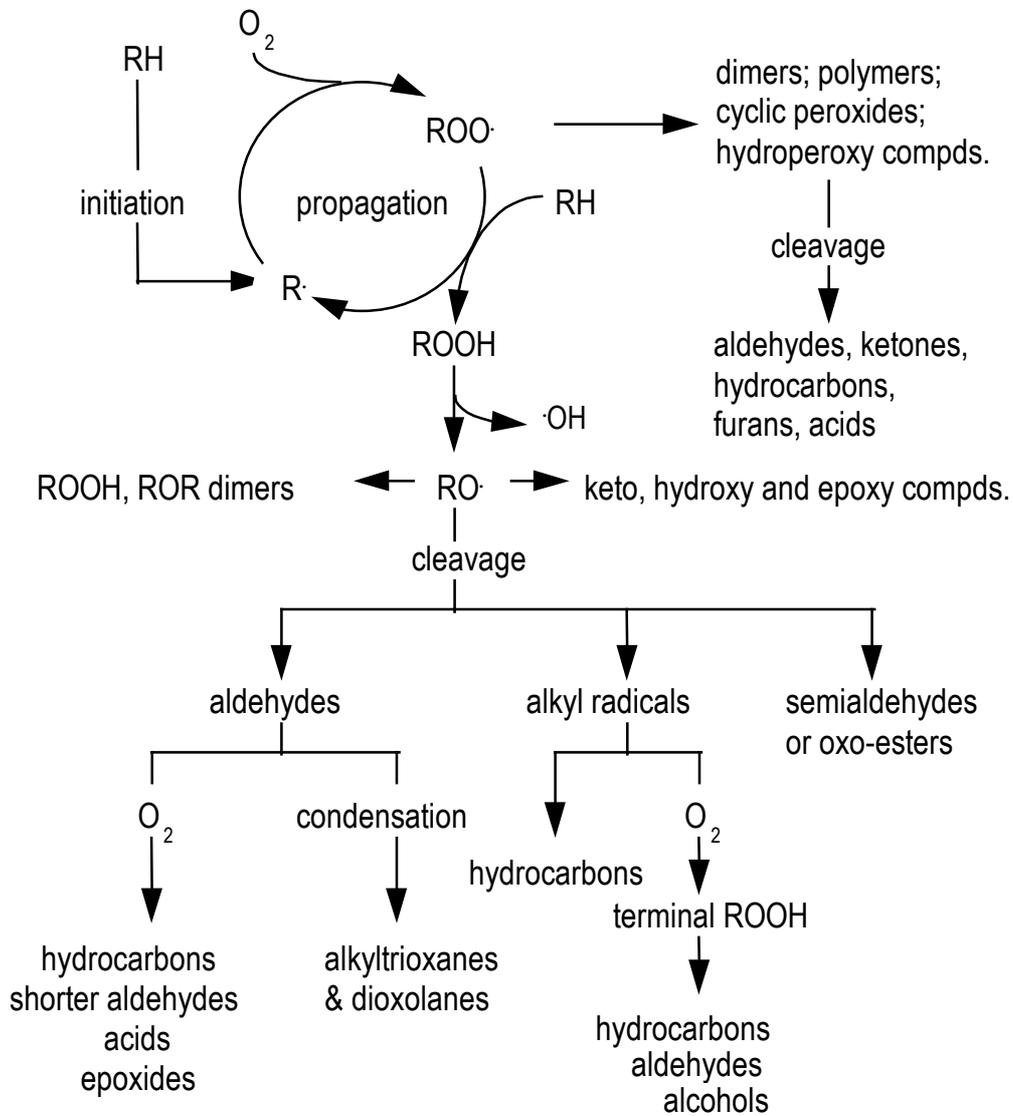


圖4、油脂二級氧化產物。

Fig 4. Terminal products by lipid oxidation. (Frankel , 1984)

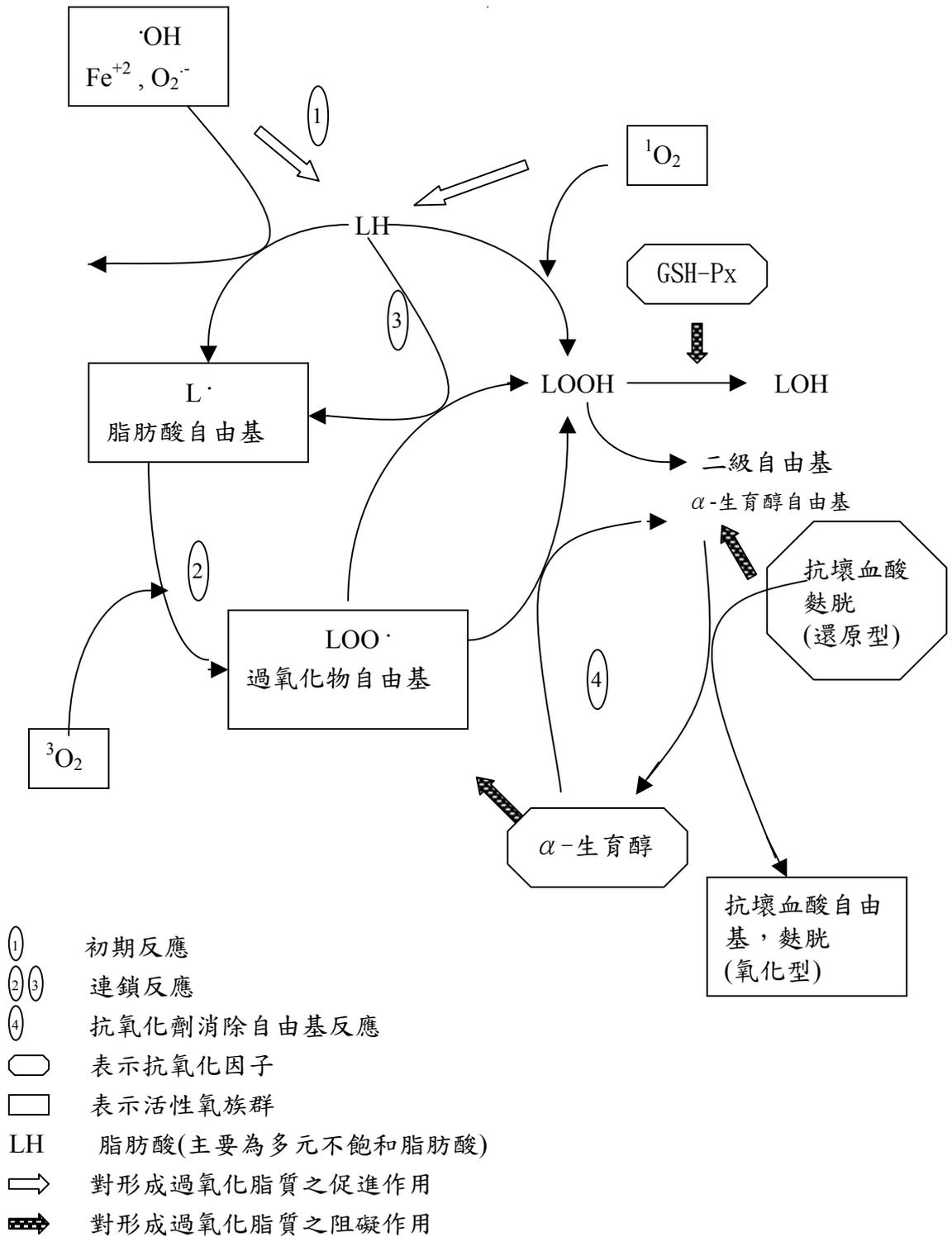


圖5、生物體中過氧化脂質之形成及抗氧化機制 (五十嵐等, 1986)。

Fig 5. Formation of lipid peroxides and mechanisms of antioxidation *in vivo*.

第二節、植物生理活性物質—多酚類與類黃酮之 抗氧化性

近年來科學家發現植物生理活性物質 (phytochemicals)，具有抗氧化、抑制癌症、降低脂質過氧化反應、降低血脂質和預防心血管疾病等功效，其中更以具有苯環及雙鍵結構的多酚類具有強的抗氧化特性，且多酚類的含量越高，清除自由基的能力也越強。

(一) 多酚類

「多酚類」(polyphenols) 是指分子內含有數個酚性氫氧基，此氫氧基與體內抗氧化有關。多酚類為植物廣泛存在的成分，其種類超過 8000 種，從單純的酚酸 (phenolic acid, C_6-C_1 , C_6H_5COOH)、類黃酮 (flavonoid, $C_6-C_3-C_6$)，到複雜的單寧等，依酚的聚合度而有各種不同的化合物，大多數以配醣體的形式存在。單寧具有抑制蛋白質消化、阻礙礦物質吸收等特性，傳統上被認為有礙營養作用。近年來多酚類的抗氧化作用、抗癌作用及缺血性心臟疾病預防作用逐漸明朗而受到矚目。

穀類及豆類含有多酚類為酚酸、類黃酮及單寧，而豆類中特別是大豆含有很多的異黃酮 (isoflavone)，堅果類則含有 lignan 及單寧。食用油主要含酚酸，橄欖油含酚酸及單寧。另一方面蔬菜為類黃酮配醣體，柑橘類與蘋果則含類黃酮及酚酸。柑橘類中所含之類黃酮、主要為黃烷酮 (flavanone)、皮的部分含量很多，特別是帶皮榨汁的柳橙汁含有很多的類黃酮。

綠茶的類黃酮為兒茶素 (catechin)，而紅茶含有氧化的多酚類，咖啡豆含 chlorogenic acid，可可豆含 epicatechin、花青素及單寧。近年來成為話題的紅葡萄酒含有很多的多酚類，其種類包括酚酸、花青素、單寧及其他類黃酮。植物性食品之多酚類含量如表 1 (Bravo, 1998)。

(二) 抗氧化作用

多酚類之生理作用最受矚目的是抗氧化作用，身體內過剩的活性氧及所衍生的自由基等，會造成細胞膜磷脂質及血液中脂質之氧化，引起動脈硬化、缺血性心臟疾病、腦中風等。多酚類具有提供氫原子，抑制自由基生成之抗氧化作用。因此儘管法國人飽和脂肪酸攝取量很多，但心血管疾病之死亡率卻很低，據說和葡萄酒中所含多酚類之抗氧化作用有關。

(三) 類黃酮

植物多酚類中抗氧化作用最強的為類黃酮作用。在高 pH 及鐵分存在下，多酚類濃度高時反而成為活性氧之供應者，藉由捕捉自由基、螯合過氧化反應之金屬離子觸媒，以抑制體內脂質之過氧化作用。類黃酮大量存在於自然植物中，從日常飲食攝取這些類黃酮的機會也相當廣泛（表 2）。

1、種類

類黃酮是眾多天然抗氧化物質中的一大類，屬於多酚類化合物（polyphenolic compounds）的一種，為植物的二級代謝產物，其主要化學結構為 2-phenyl-benzo- α -pyrones，是一種 diphenylpropane（C₆-C₃-C₆）的骨架，其基本結構如圖 6 所示（Cook et al, 1996）；其雜環上因取代基之不同而衍生出超過 4000 多種不同的基本結構，類黃酮化合物廣泛存在於植物組織中，特別是葉、花、蔬菜、種子、果實等植物組織中。植物可利用類黃酮及其它酚酸化合物以防禦因陽光照射所產生的自由基或活性氧而給予捕捉或抑制，故此類化合物

及其它酚酸化合物是植物中重要的抗氧化性成分。類黃酮依結構差異性可分成八大類，如表 3 所示：①黃酮（flavones），②黃酮醇（flavonols），③黃烷酮（flavanones），④異黃酮（isoflavones），⑤黃烷醇（flavanols），⑥黃烷酮醇（flavanonols），⑦查酮（chalcones）

及⑧花青素配基 (anthocyanidins) 等，大部分是與醣類結合形成配醣體以醣 (glycosides) 的形式存在，此配醣體經過酸、鹼及熱水解後可產生不含醣基的部分配醣基 (aglycones) 和醣基部分。

表 1、植物性食品之多酚類含量。

Table 1. The contents of polyphenols in vegetation food.

食品種類	多酚類含量
穀類 (mg/100g 乾重)	
大麥	1200~1500
玉米	30.9
稻米	8.6
小麥	22~40
高粱 (mg/100g 乾重)	
黑粒	540~120
核果 (% 乾重)	
腰果	33.7
花生	0.04
水果 (mg/100g 濕重)	
蘋果	27~298
藍莓	135~280
葡萄	50~490
葡萄柚	50
柑桔	50~100
覆盆子	37~429
草莓	38~218
蕃茄	85~130
飲料	
綠茶 (mg/100g 乾重)	20~35
紅茶 (mg/100g 乾重)	33~33
茶湯 (mg/200ml)	150~210
咖啡豆 (% 乾重)	0.2~10
可可豆 (% 乾重)	12~18
白酒 (mg/L)	200~300
紅酒 (mg/L)	1000~4000
啤酒 (mg/L)	60~100
蔬菜 (mg/100g 濕重)	
甘藍	25
洋蔥	100~2025

(Bravo, 1998)

2、抗氧化效應：

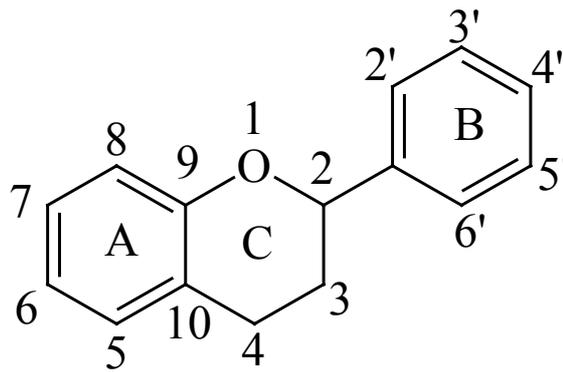
類黃酮抗氧化特性如表 3 所示 (Cook and Samman, 1996)，類黃酮有一 flavan 核心，包括兩個苯環 (A 和 B)，及含氧之 pyran 環 C 結合而成，hydroxylation 之位置及程度決定了類黃酮的抗氧化活性。而影響類黃酮清除自由基的能力可能有下列幾點要素，如圖 7 所示，(1)在 A 環上 C-5、C-7 位置有氫氧基，能延長此類結構的共軛系統。(2)B 環結構上 C-3、C-4 有鄰位雙羥基結構、對過渡金屬離子 (Cu^{2+} 、 Fe^{2+}) 具有螯合作用，可間接抑制脂質過氧化反應之發生。(3)C 環的 C-2、C-3 位置有雙鍵，以及在 C-4 有酮基，則會與 B 環形成穩定的共軛結構，故當此類結構類黃酮與自由基反應時，phenoxy radicals 會因共振效應而穩定。(4)C 環上若 C-4 有酮基及在 A、C 環上 C-2、C-5 為羥基，會形成分子內氫鍵，對自由基有很強的清除能力，同時也會使此類類黃酮具有螯合金屬的能力。另外可能因其結構上酚所帶的氫氧基可使其扮演還原劑之角色，能將 α -tocopheroxyl radical 還原再生成 α -tocopherol；且可提供電子當作抗氧化劑及清除 $^1\text{O}_2$ 。

表 2、 主要的類黃酮群化合物及富含類黃酮群的食物

Table 2. Major compounds of flavonoid and the source of food

類黃酮群	類黃酮化合物	食物來源
黃酮 (flavones)	芹素 木犀草素 山草酚 芸香 槲皮素	蘋果皮 芹菜 綠花椰菜 蔓越莓 葡萄 萵苣 橄欖 歐芹 蜂膠
黃烷酮 (flavanones)	柑果 苦柚 柚甘素	柑橘類水果 柑橘類果皮 葡萄柚
兒茶素群 (catechins)	兒茶酚 類兒茶酚 沒食子兒茶素沒食子酸 酯化合物	紅酒 茶
異黃酮 (isoflavones)	大豆異黃酮素 大豆異黃酮素 Genistein Genistin	大豆
花青素 (anthocyanins)	矢車菊素 花翠素 錦葵色素 天竹葵色素 芍藥素 矮牽牛配基	漿果類 櫻桃 葡萄 覆盆子 紅酒 草莓 茶

(Nijveldt et al., 2001)



diphenyl propane (C₆-C₃-C₆)

2-phenyl-benzo- α -pyropanes

圖 6、類黃酮的基本結構圖。

Fig 6. Structures of flavonoid.

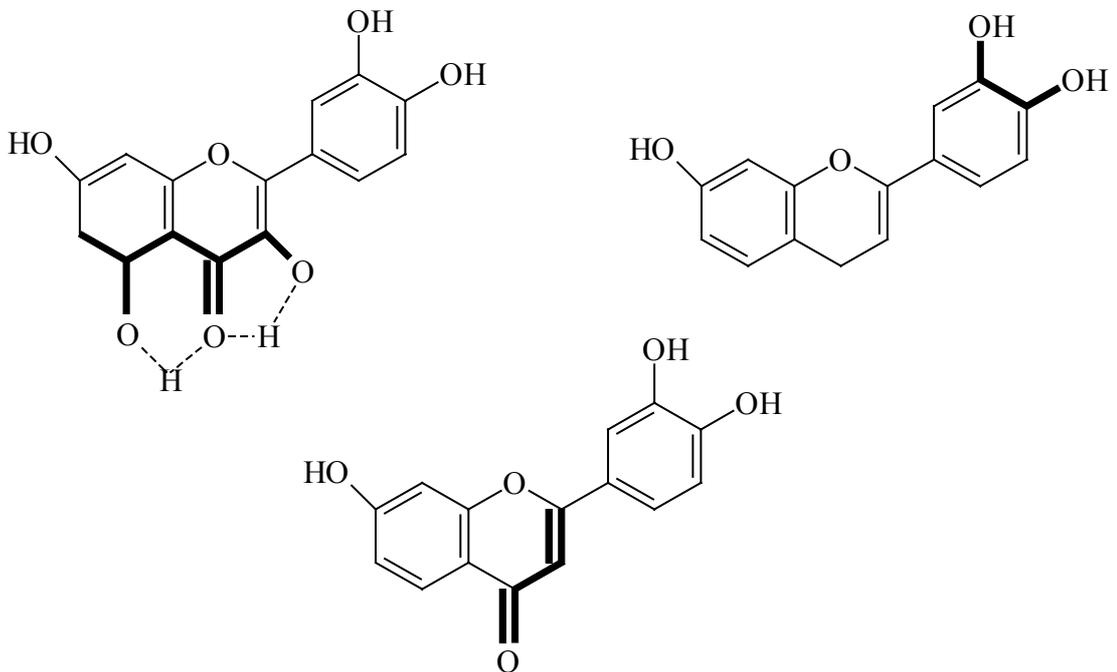
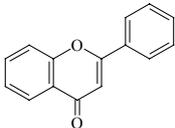
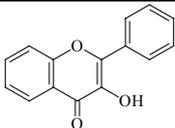
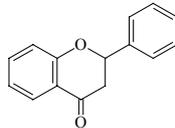
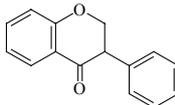
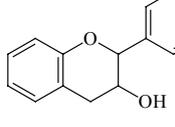
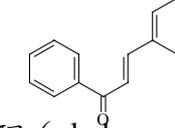
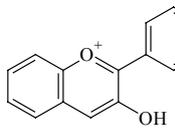
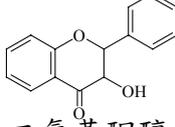


圖 7、類黃酮清除自由基的結構圖。

Fig 7. Structures of flavonoid scavenged free radical. (Cook and Samman, 1996)

表 3、類黃酮的抗氧化性
Table 3. The antioxidative activities of flavonoid

類黃酮類別	抗氧化性特性
 黃酮 (flavones)	* 此結構為在 C 有 2,3,4-oxo 但沒有 3-OH。 * B 環上-OH 越多，A 環在 C5 及 C7 上有-OH，抗氧化性越強。 * 抗氧化性：lutein > apigenin > chrysin
 黃酮醇 (flavonols)	* 此結構為在 C 有 2,3 double bond, 4-oxo 且有 3-OH。 * B 環上-OH 越多，A 環在 C5 及 C7 上有-OH，抗氧化性越強。 * 抗氧化性：quercetin > myricetin > morin > kaempferol
 黃烷酮 (flavanones)	* 抗氧化性：taxifolin > naringenin > hesperitin > hesperidin > naringin 和 OH 的數目及取代位置有關。 * 其抗氧化性小於 flavonols 及 flavanones。
 異黃酮 (isoflavones)	* genistin, daidzein 屬之。 * 抗氧化性差，因為在天然產物中此類結構較少 * orthodihydroxyl 的結構。
 黃烷醇 (flavanols)	* 此類結構由於 C 環為飽和的 heterocyclic 環，在 AB 環間無法電子非定域化，抗氧化性較具相同-OH 的 flavones 及 flavonols 較差。 * 抗氧化性：catechin-gallate > catechin
 查酮 (chalcones)	* butein, phloretin, phloridzin 屬之。 * 從甘草的成分可分離出具有抗氧化性的物質 litchalcone A。 * 具有潛在抗氧化活性，dihydrochalcone > chalcone
 花青配質 (anthocyanidins)	* Antioxidant: cyanidin > cyanidine-3-β-D-glucoside * Cyanidin 以 flavylium cation 的形式存在時抗氧化性較佳 (pH2 > pH4 > pH7)，B 環結構影響抗氧化性。 * Cyanidin=dephindin > malvidin > pelargonidin
 二氫黃酮醇 (flavanonols)	* 抗氧化性類似 flavanones，和 OH 的數目及取代位置有關。 * taxifolin, fustin 屬之。

(Cook and Samman, 1996)

第三節、抗氧化劑之介紹

在油脂的自氧化反應過程中，含多元不飽和脂肪酸油脂會先經過一段氧化誘導期（induction period），在此期間並無可察覺的反應發生，然後開始產生氫過氧化物，在氫過氧化物生成量達到最高點後開始分解，此時氧吸附量仍繼續緩慢增加，在最後階段會發生聚合反應而互相結合，生成雙聚物及多聚物而使得油脂及食品的颜色變深，黏度升高。裂解反應也同時在最後階段發生，產生一些揮發性化合物。這些由油脂酸敗所生成的產物也會與食品中的其他成分如色素、酵素、蛋白質、胺基酸等作用，造成食品營養成分的損失和食品品質的劣敗，因而降低食品的商品價值。

為了能有效抑制及延緩脂質氧化作用的進行，進而延長食品保存期限及減少營養成分的損失，抗氧化劑之添加為符合經濟條件、簡便有效的加工方法；理想的食品抗氧化劑必須具備以下幾個條件（Hudson，1990）：

- (1) 低濃度即具有抗氧化效果。
- (2) 適用性廣。
- (3) 感官上無不良影響。
- (4) 無毒性。
- (5) 價格低廉。

油脂自氧化反應除了須要有氧氣的存在，亦須外加能量或促氧化因子以誘導氧化反應的進行。所以抑制油脂自氧化的基本原理在於（Hudson，1990）：

- (1) 降低外來的促氧化因子：如保持低溫、除去光照，尤其是紫外線。
- (2) 減少內生性促氧化因子：如金屬離子（銅、鐵離子）、

色素（葉綠素、血紅素）或過氧化物（peroxide）等的存在皆會誘導油脂的自氧化反應。

(3) 儘量減少氧氣的存在。

(4) 適當的包裝。

抗氧化劑的功能依其結構有以下幾種作用型式：

1. 自由基之清除劑（free radical scavenger）

此類型抗氧化劑大部分為酚型化合物（phenolic compounds），這是因為酚型化合物易釋出氫氧基上的氫原子，提供一個電子或直接提供一個質子與脂質氧化所生成如 alkylperoxy radical（ $\text{ROO}\cdot$ ）的自由基作用而終止了脂質自氧化連鎖反應；此時由於苯環結構上的不成對電子轉移而形成共振結構（resonating structure），同時失去讓氧原子攻擊的適當位置而變得相當穩定（圖 8）（Sherwin，1978）。

食品中最常見的自由基清除劑以丁基羥基甲氧苯（butylated hydroxyanisole，BHA）、二丁基羥基甲苯（butylated hydroxytoluene，BHT）、沒食子酸丙酯（propylgallate，PG）及第三丁基氫醌（tertrarybutyl hydroquinone，TBHQ）（圖 9）等人工合成抗氧化劑為代表。

（1）丁基羥基甲氧苯（butylated hydroxyanisole，BHA）

BHA 由 2-tertiary-butyl-4-hydroxyanisole 及 3-tertiary-butyl-4-hydroxyanisole 混合而成，性質為不溶於水但溶於乙醇、油脂、石油、石蠟。耐高溫，油煎、高溫烘焙烹調皆不影響色澤、風味。同時配合冷藏則抗氧化效果加倍。與 BHT、TBHQ、PG 一起使用，產生相乘作用，使抗氧化效果更佳。添加量需低於總油脂含量之 0.02%（高及李，1998）。

(2) 二丁基羥基甲苯 (butylated hydroxytoluene, BHT)

白色粉末或結晶，不溶於水，溶於乙醇、油脂。耐高溫，適用於油煎與高溫烘焙。可與 BHT、TBHQ、PG 一起使用。添加量需低於總油脂含量之 0.02% (高及李, 1998)。

(3) 沒食子酸丙酯 (propylgallate, PG)

白色結晶粉末，不溶於脂肪，微溶於水，溶於乙醇、甘油。PG 會與銅、鐵結合形成黑紫色化合物，影響添加食品之外觀，此現象可以螯合劑(如：檸檬酸)之添加來克服。不可與 TBHQ 一起使用，但可與 BHA、BHT 合用。添加量需低於總油脂含量之 0.02% (高及李, 1998)。

2. 單旋態氧之消光劑 (singlet oxygen quencher)

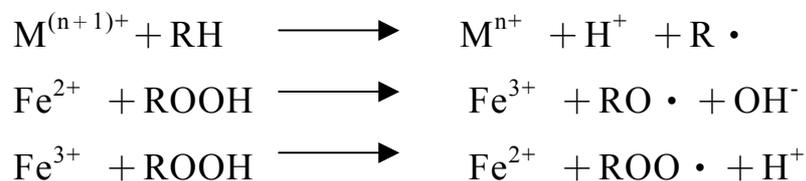
氧氣含量占空氣的 20.9%，其主要以較安定的基態三旋態氧 (triplet oxygen, $^3\text{O}_2$) 狀態存在。在油脂氧化反應中，三旋態氧只能與已脫去氫原子的脂肪酸作用或在脂肪加氧 (lipxygenase) 催化下才會與脂肪酸直接反應；不過在食品系統中常含有一些光增感劑 (photosensitizer) 如葉綠素 (chlorophyll)、血紫質 (haematoporphyrin) 及核黃素 (riboflavin) 等；這些物質會吸收光的能量，從基態提升至激發態，而當激發態降回基態時，釋放過多能量則會被三旋態氧吸收而提升至氧的激發態單旋態氧 (singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)，此單旋態氧就容易與食品系統中不飽和脂肪酸直接反應產生氫過氧化物。食品所含抗氧化成分如 β -胡蘿蔔素 (β -carotene) 等類胡蘿蔔素即為典型的單旋態氧消除劑， β -胡蘿蔔素會吸收其所含過多能量使恢復成較安定的三旋態氧型態，藉由此降低單旋態氧的含量，減少其直接與不飽和脂肪酸反應的機率 (Kellogg and Fridovich, 1975)。

3. 相乘劑 (synergist)

食品系統中的相乘劑以抗壞血酸 (ascorbic acid) 為代表。相乘劑本身並不直接與促氧化因子作用，而是可還原已失去氫原子之酚型自由基，進而達到增強酚型抗氧化劑之抗氧化能力 (Hudson, 1990) (圖 10)。

4. 金屬螯合劑 (metal chelator)

食品中大都含有過渡金屬離子，當微量的過渡金屬離子存在時即具有促進脂質氧化速率的能力；



其中以銅及鐵離子最具促進脂質氧化效果 (Bawn, 1953; Waters, 1971)。因此，當食品系統中存在具有螯合金屬能力之物質時，亦能達到延緩脂質氧化的目的，具此類型機制的抗氧化劑有檸檬酸 (citric acid)、乙二胺四乙酸 (ethylene diaminetetra acetic acid, EDTA) (圖 11) 及磷酸 (phosphoric acid) 衍生物等。

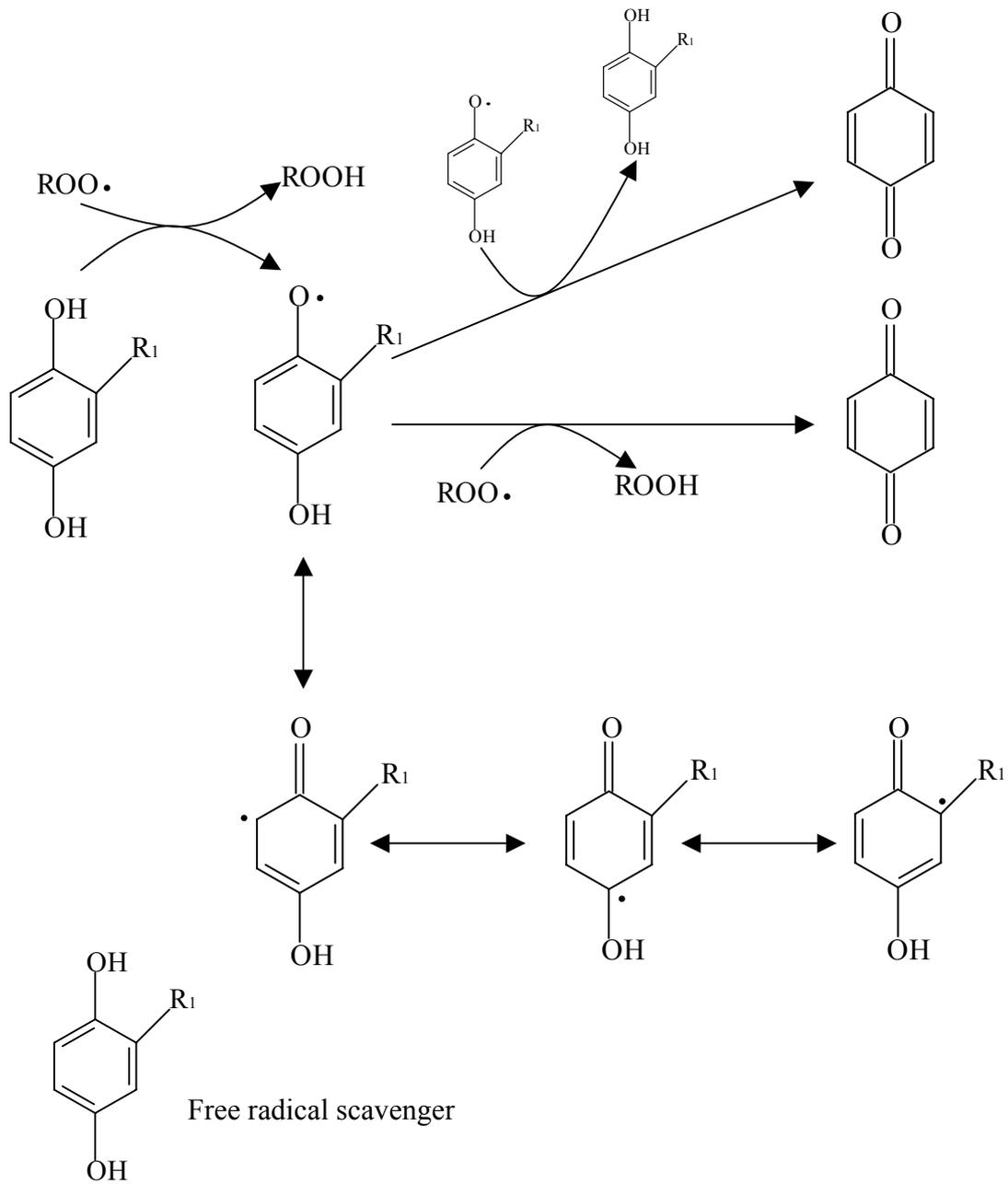
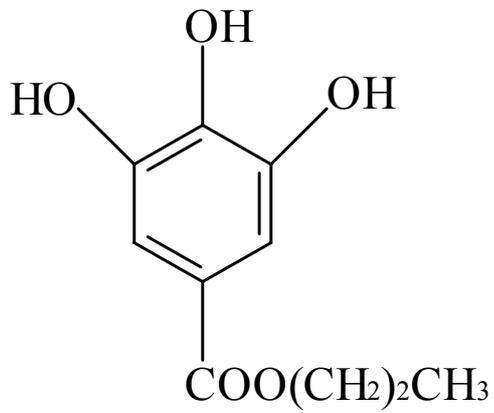


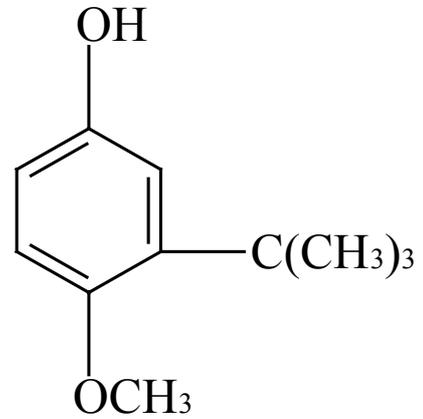
圖8、自由基清除劑之作用機制。

Fig 8. Mechanism of antioxidation for free radical scavenger.

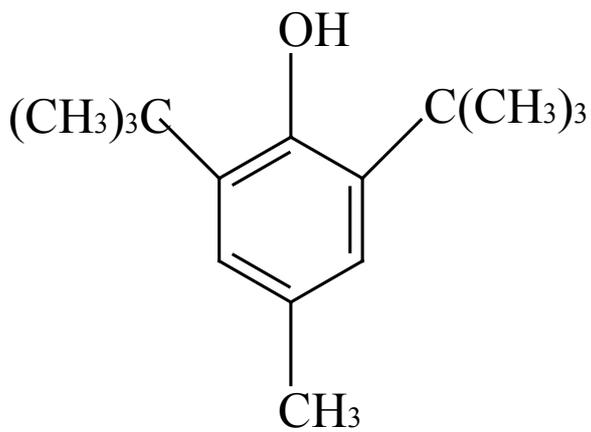
(Sherwin, 1978)



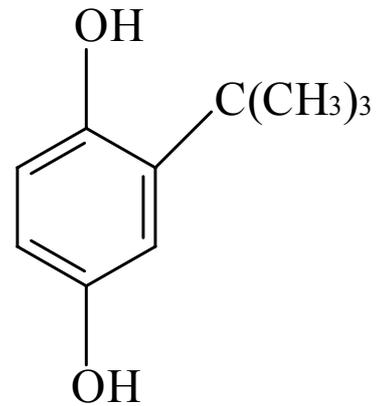
propyl gallate
(PG)



**butylated
hydroxyanisole**



**butylated
hydroxytoluene**



**tertiary butyl
hydroquinone**

圖9、常用之人工合成抗氧化劑。

Fig 9. Structures of main synthetic antioxidants. (Hudson, 1990)

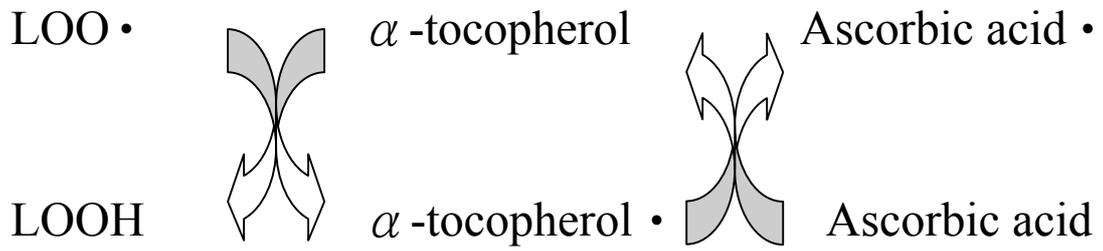


圖10、相乘劑之作用機制。

Fig 10. Mechanism of antioxidation for synergist. (Hudson, 1990)

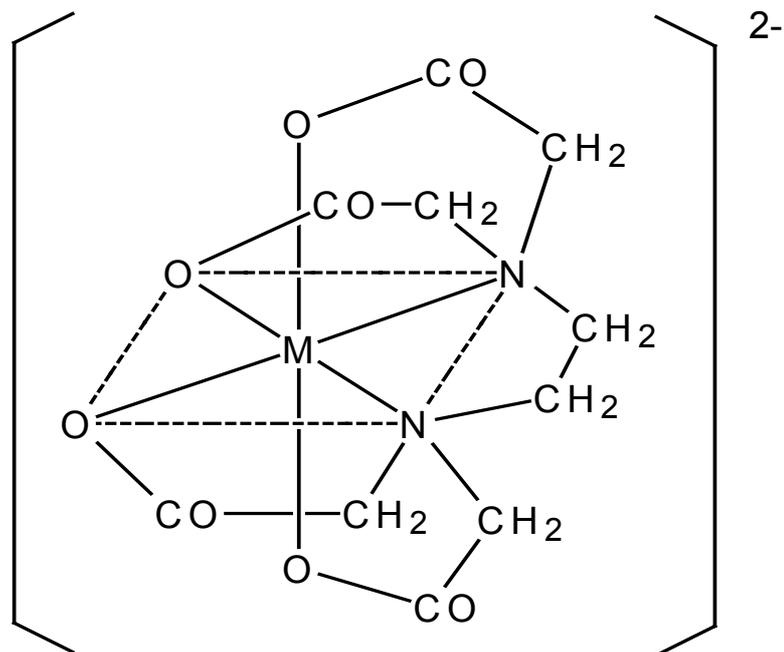


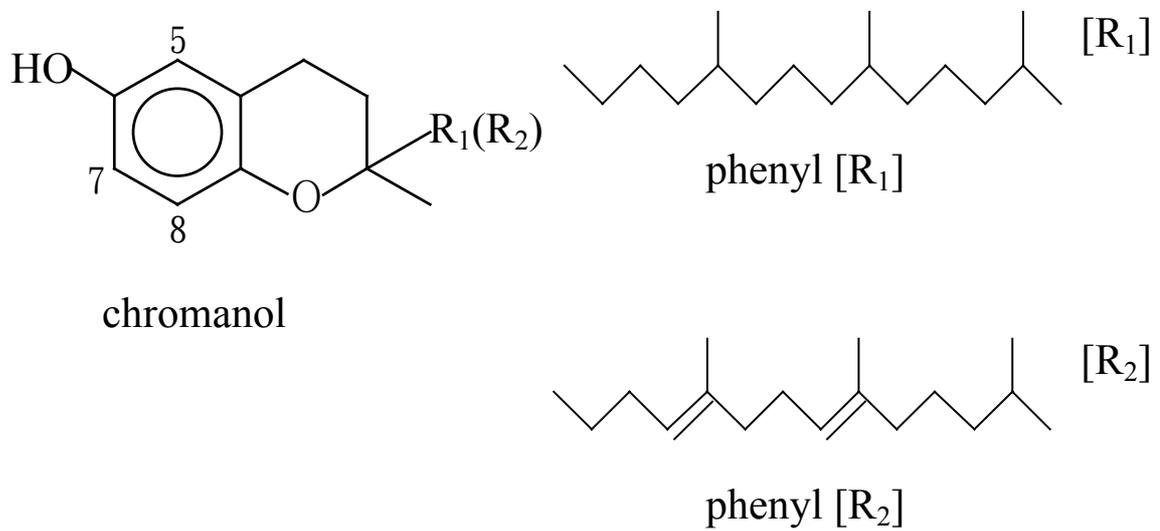
圖11、EDTA與金屬離子螯合物之結構圖。

Fig 11. Structure of chelate formed between EDTA and metal ion.
(Namiki, 1990)

第四節、天然抗氧化劑

對於防止油脂氧化的相關研究認為，於食品中添加抗氧化劑是降低油脂氧化的最好方法 (Namiki, 1990)。由於人工合成抗氧化劑 BHA、BHT 具有優異的抗氧化性及價格便宜、安定性佳等優點而被廣泛地使用於食品工業。但是自 1975 年起陸續有研究指出其可能造成動物肝、腎傷害及致癌 (Branen, 1975; 顏, 1993)，使這些人工合成抗氧化劑的安全性倍受質疑。而目前所使用天然抗氧化劑中效果較佳者為生育醇或生育三烯醇 (tocopherols 或 tocotrienols 圖 12)，不過因其製造價格稍嫌昂貴且抗氧化性不及 BHA 及 BHT，添加過量又會產生促氧化作用等缺點，而使生育醇在實際應用上受到限制，因此從自然界中尋找具有抗氧化性的天然抗氧化物質便成為食品研究上致力的目標。

近年來許多研究學者從大自然中尋找天然抗氧化劑，許多的研究證實在各類的植物中存在著多種不同型式的抗氧化物質，其主要提供抗氧化能力的化合物有下列幾種：生育醇 (tocopherols)、類黃酮素 (flavonoids)、生物鹼 (alkaloids)、葉綠素衍生物、(chlorophyll derivatives)、胺基酸及胺類 (amino acids and amines)、抗壞血酸 (L-ascorbic acid) 及類胡蘿蔔素 (carotenoids) 等 (Larson, 1988)。這些物質的存在是因植物暴露在可見光、紫外線及輻射的照射下，其對於活性氧及氧毒性 (oxygen toxicity) 的傷害特別敏感，因此植物組織中的成分便須扮演對抗氧自由基及激態分子 (excited molecules) 之角色，以防止組織受到傷害。Namiki (1990) 將天然抗氧化物質歸類如表 4，而抗氧化物質之相關研究文獻歸類如表 5。



Methyl group	Tocopherol(R ₁)	Tocotrienol(R ₂)
5,7,8-trimethyl	α -T	α -T
5,8-dimethyl	β -T	β -T
7,8-dimethyl	γ -T	γ -T
8-methyl	δ -T	δ -T

圖12、天然抗氧化劑生育醇之結構圖。

Fig 12. Structures of natural antioxidant tocopherols.

表 4、天然抗氧化物質

Table 4. Natural antioxidants

Plant	Oil seeds; Grains; Beans; Vegetables; Fruits; Leaf waxes; Barks and roots
Spices	
Medicinal plants	
Seaweeds	
Microbial products	
Animal products	
Fermented products	
Protein hydrolysates	
Maillard reaction products	

(Namiki, 1990)

表 5、抗氧化物質之天然來源

Table 5. Natural source of antioxidant compounds (Moure et al., 2001)

種類	名稱	參考文獻
水果	莓果、櫻桃、柑橘、奇異果、乾梅、橄欖	Abuja et al., 1998; Heinonen et al., 1998; Heinonen et al., 1998; Prior et al., 1998; Wang et al., 1999; Wang., 1999; Wang et al., 1999; Saleh et al., 1998; Dawes et al., 1999; Donovan, Meyer et al ., 1998; Romani et al., 1999.
蔬菜	可可豆、馬鈴薯、番茄、菠菜、豆類、紅辣椒、大蒜、薑、迷迭香、海菜	Sanbongi et al., 1998; Al-Saikhan. et al., 1995; Friedman, 1997; Ramamurthy et al., 1992; Abushita et al., 1997; Gil et al., 1999; Ganthavorn et al., 1997; Tsuda et al., 1994; Markus et al., 1999; Matsufuji et al., 1998; Aruoma et al., 1997 (rosemary) (Che Man et al., 1999; Güntensperger et al., 1998; Jaswir et al., 1999; Özcan, 1999; Nakayama et al., 1999.
酒類	威士忌、清酒、Jerezsherries、Cavas	McPhail et al., 1999; Kitagaki et al., 1999; Monedero.,1999; Stué-Gracia., 1999.

茶	紅茶、綠茶、綠茶、發酵茶、 Roibs tea、烏龍茶	Lin et al., 1998; Cao et al., 1996; Chambers.,1988; Chen et al., 1998; Frankel et al., 1997; Lin et al., 1996 ; Singh et al., 1999; Yen et al., 1997; Wanasundara et al., 1998; Yokozawa et al., 1998; von Gadow., 1997 ; Yen et al., 1998; Benzie et al., 1999; Copeland et al., 1998.
草藥 (herb)、中藥 (medical plant) 及香辛料 (spice) 萃取物	鼠尾草、薑、Ganoderma spice、 dinttany、青辣椒、菊花 (<i>Chrysanthemum</i>)、藥、Honeybush、薰衣草	Abdalla et al., 1999; Aruomq, 1999; Guillén et al., 1999; Marinova et al., 1997; Wang., 1998; Wang et al., 1999; Wang et al., 1999; Weinberg et al., 1999; Yanishlieva et al., 1999 ; Kikuzaki et al ., 1993; Yen et al., 1999; Møller et al, 1999; Bandyopadhyay et al., 1990; Chuda et al., 1996; Duh et al., 1999; Ogata et al., 1997; Ferreira et al., 1998; Al-Amier, 1999; Cuvelier et al., 1996; Houlihan et al., 1984; Wu et al., 1982; Hall., 1998
植物的葉子 植物之其它部位	綠色大麥、 <i>Thalictrum flarum</i> , <i>Nerium oleander</i> L.、數種椰樹、 桑椹、鱷梨 (樹) 根、 <i>Quercus suber</i> 的木栓層、 <i>Fraxinus ornus</i> 之樹皮、綠 豆之新芽	Osawa et al., 1992; Mallet et al.,1994; Jukunen-Tiito, 1985; Zhishen et al., 1999; Torres et al., 1987 Yan et al., 1999; Cadahia et al.,1998; Conde., 1998; Marinova et al., 1994; Sawa et al., 1999.

種子	羅望子 (tamarind)、canola、月見草 (evening primrose)、芝麻 (sesame)、亞麻仁 (flax seeds)、羽扁豆或魯冰豆 (lupinus seed)、蕎麥 (buck wheat)、向日葵 (sunflower)、 <i>Rosa rubiginosa</i> 、穀類 (cereal)、玉米粒 (corn kernel)	Tsuda et al., 1994; Krygier et al., 1982; Naczka et al., 1998; Wanasundara et al., 1994; Balasinska et al., 1998; Wettasinghe., 1999; Shahidi et al., 1997; Oomah et al., 1995; Tsaliki et al., 1999; Pryzbylski et al., 1998; Kubicka et al., 1999; Moure et al., 2000; Baublis et al., 2000; Lehtinen et al., 1998; Kurilich et al., 1999
植物種子或果實之殼	花生、綠豆、蕎麥、杜蘭小麥、羅望子種子、 <i>Phaseolus vulgaris</i> 的紅豆及黑豆胚芽、小麥	Yen et al., 1993; Yen et al., 1994; Yen et al., 1995; Duh et al., 1995 and 1997a; Xing et al., 1997; Duh et al., 1997; Watanabe et al., 1997; Shahidi et al., 1997; Onyeneho et al., 1992; Tsuda et al., 1994; Muanza et al., 1998; Baublis et al., 2000.
農業及工業之廢棄物	馬鈴薯皮、橄欖菜籽、橄欖研磨後之廢水、葡萄籽、葡萄果渣、蘋果渣、葡萄渣、柑橘種子及皮、胡蘿蔔果肉廢棄物、老茶葉、可可副產品、柳橙精油之非揮發性成	Rodríguez de Sotillo et al., 1994; Sheaber et al., 1988; Visioli et al., 1999; Gabrielska et al., 1997; Karakaya et al., 1999; Pekić, Kovač et al., 1998; Pietta et al., 1998; Saint-Cricq de Gaulejac et al., 1999; Saura-Calixto, 1998; Wulff, 1997; Yamaguchi et al., 1999; Bonilla et al., 1999; Larrauri et al., 1998; Lu et al., 1999; Meyer., 1998; Koga et al., 1999; Lu et al., 1997; Lu et al., 1999, 2000; Bocco et al., 1998; Chen et al., 1998; Zandi et al., 1999; Azizah et al., 1999; Vargas-Arispuro et

	分、黃豆糖漿、磨碎之咖啡 豆渣得到之咖啡油、蝦殼之 廢棄物	al., 1998; Hosny et al., 1999; Bertholet., 1998. Li et al., 1998; Seymour et al., 1996; Wang et al., 1999
其他化合物	雙、肌 (β -alanyl L-histidine)、蛋白質、蛋白 質水解物 (protein hydrolysates)、水溶性彈性 蛋白 (soluble elastin peptide)、水溶性蛋白質 (water soluble protein)、壓 力處理之乳球蛋白 (pressure treated β -lactoglobulin)	Kansci et al., 1997; Lee et al., 1997; Hendricks et al., 1998; Roch et al., 1998; Amarovicz., 1997; Hattori et al., 1998; Okada et al., 1998; Møller et al., 1998
精油 (essential oil)	結合亞麻油酸 (linoleic acid) 及磷脂質 (phospholipid)	Zygadlo et al., 1995; Chen et al., 1997; Bandarra., 1999; Chu et al., 1999; Saito et al., 1997
紅辣椒 (hot chilli pepper) 辛辣作用	棕櫚油 β -胡蘿蔔素 (palm oil β -carotene) 及辣椒	Farombi et al., 1999; Henderson et al., 1999)

的物質	(capsaicin)	
梅納 (Maillard) 反應產物		Alfawaz et al., 1994; Bersuder et al., 1998; Lingnert et al., 1983; Nakamura., 1998; Pischetsrieder et al., 1998; Tubaro et al., 1996; Wijewickreme et al., 1998; Wijewickreme et al., 1999.
釀造種子 (brewing seeds)、穀粒、胚 芽		Niwa et al., 1991, 1999.
某些微生物		Lin et al., 1999; Shimoni., 1998
木質素 (lignin) 或 阿拉伯木糖聚合 物(arabinoxylans)		Cruz et al., 1999; Lehtinen et al., 1998; Ohta et al., 1994.

1、製油種子

與其他植物油相比之下，芝麻油之氧化安定性特別高。Fukuda 等（1986 及 1988）在芝麻（sesame seed）及炒焙芝麻油中發現除含 γ -生育醇外，尚有 sesamol、P₁、sesamolinol、pinoresinol、sesamol dimer 等 lignans 類及 syringic acid、ferulic acid 等抗氧化物質(圖 13)。

Pratt 與 Miller（1984）從 Spanish peanuts 分離出具抗氧化性的類黃酮素（flavonoids）—槲皮酮（quercetin）。

2、蔬果

Igarashi 等（1989）在野生日本葡萄（*Vitis coignetiae*）內分離鑑定出 malvidin-3, 5-diglucoside 的強抗氧化物質(圖 14)。

Igarashi 等（1993）在茄子（*Solanum melongena* L.）中純化 delphinidin-3-(*p*-coumaroyl-L-rhamnosyl-glucosyl)-5-glucoside 抗氧化率頗強的抗氧化劑(圖 15)。

Ramarathnam et al.（1995）指出紅色或黃色蔬菜含有較豐富的花青素與類黃酮，因此比綠色或無色蔬菜抗氧化能力佳。

Wang et al.（1996）探討十二種水果的果汁及果肉部分對自由基之消除效果，結果指出果汁部分的清除效果較果肉佳，作者認為水果之抗氧化活性除了來自維生素 C、E、 β -carotene 之外，尚還有類黃酮提供其抗氧化能力。

Tsuda 等（1996）從豌豆（*Pisum sativum* L.）種子外皮萃取花青素色素 cyanidin 3-O- β -D-glucoside、pelargonidin 3-O- β -D-glucoside 及 delphinidin 3-O- β -D-glucoside，具有捕捉 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 之能力且能降低大白鼠肝臟中脂質過氧化物-MDA 之生成量。

Saito（1998）研究發現葡萄子萃取物及其所含之 procyanidin 具有防止胃潰瘍的生理功能，此可能因 procyanidin 低聚合物具有清除自由基的抗氧化性，可使胃壁不受自由基之氧化傷害，同時

procyanidin 可與蛋白質緊密結合而具保護胃壁之功能 (Saito et al., 1998)。

Lu 與 Foo (2000)等發現在蘋果渣中含有多酚類具有比 α -tocopherol 抗氧化性強數倍的抗氧化物質。

陳 (2001) 自青花菜正己烷萃取物純化出 vanillic acid-4'-decenyl ester、1-methoxy-naphthalene-6,7-dihydrofuran、dilinoic acid-1-methoxy-naphthalene-6,7-dihydroxymethyl ester 三種抗氧化物質。

3、香辛料

Inatani 等 (1982、1983) 在迷迭香 (rosemary) 乾燥葉的正己烷萃取層中分離 carnosol、rosmanol、epirosmanol 及 isorosmanol 等四種強抗氧化物。

Houlihan 等 (1984、1985) 在迷迭香乾燥葉的甲醇萃取物中分離鑑定出 rosmaridiphenol 及 rosmariquinone，其抗氧化率可媲美 BHA(圖 16)。

Toda 等 (1985) 在鬱金 (*Plantago asiatica* L.) 中發現具消炎功用的化合物 curcumin 亦有強抗氧化性。Kikuzaki 及 Nakatani (1993) 從薑的二氯甲烷萃取層分離出 5 種 gingerol 類的化合物及 8 種 diaryl-heptanoid 衍生物，其中有 12 種優於 α -生育醇。

Kikuzaki 與 Nakatani (1987) 及 Nakatani 與 Kikuzaki (1989) 於披薩草 (oregano) 葉片的甲醇萃取物中分離、純化出抗氧化力高於生育醇的水溶性抗氧化物(圖 17)。

Nakatani 等 (1989) 從百里香 (thyme) 分離 thymol 的 biphenol 衍生物及三種類黃酮素 (flavonoids) 之抗氧化物質。

中谷等 (1989) 由辣椒 (capsicum) 中分離 capsaicin dihydrocapsaicin 辣味物質及不具辣味的 capsaicin dihydrocapsaicin 衍生物抗氧化物。

Cuvelier 等 (1994) 亦在同科 (紫蘇科) 的鼠尾草 (sage)

中分離出與迷迭香抗氧化成分相同之化合物。

劉 (1996) 自肉豆蔻乙酸乙酯萃取物純化出抗氧化成分為 eugenol 和 isoeugenol 及 6-methoxy eugenol 等 eugenol 之衍生物 (圖 18)。

百里香 (*Thymus vulgaris* L.) 中純化分離出黃酮類-methylated flavonoids 及 eruodicytol (Haraguchi et al, 1996)。黑胡椒中含有五種抗氧化活性成分，其中 ferulic acid amide 有較強的抗氧化能力 (Rice-Evans et al, 1997)。洋蔥 (onion) 所含的抗氧化物質為類黃酮 quercetin，且紅蔥中含量比白蔥多；而以大蒜或洋蔥粉末餵食倉鼠會增加其血漿中 HDL-C 濃度及有較佳之總抗氧化能力，顯著較高之血漿 GSH-Px、SOD 活性，及顯著較低的肝臟脂質過氧化產物 MDA 含量 (Dogru- Abbasoglu et al, 1997)。

4、茶葉

Hara 與 Kubota(1984)、Matsuzaki 與 Hara(1985)、Lee(1988) 從茶葉中分離純化並鑑定出強於 α -生育醇的抗氧化物 catechins 及 theaflavins。

蘇等 (1991) 亦分析各種茶葉之 catechins 含量，並比較其抗氧化性與 catechins 之相關性。

5、大麥葉子

Osawa 等 (1992) 從大麥葉子 (young green barley leaves) 的乙醇萃取物中分離出具有與 α -生育醇相當的抗氧化性物質 2''(3'')-*O*-glucosyl isovitexin，可抑制亞麻油酸過氧上反應。

6、樹臘及蜂蜜

Osawa 與 Namiki (1985) 從尤加利葉 (eucalyptus leaves) 的葉臘分離鑑定出 *n*-tritriacontan-16, 18-dione 的抗氧化物質。

蜂蜜含有 α -tocopherol、ascorbic acid、catalase、flavonoids 等抗氧化物質 (Mckibben and Engeseth,2002)，蜂蜜的抗氧化性與蜜

源有關，如蕎麥蜜之抗氧化性遠高於刺槐蜜。

7、農產廢棄物及庭園植物

Ramarathnam 等 (1988、1989) 由稻穀 (rice hulls of *Oryza sativa* L.) 中發現強抗氧化物 isovitexin。

Duh 等 (1992) 從農產廢棄物花生殼 (peanut hull) 分離鑑出主要抗氧化物質 luteolin。

宋與蘇 (1994) 自翠玉茶梗純化出 myricetin-3-*O*-glucoside 及 quercetin-3-*O*-(2-glucosyl-6-rhamnosyl-glucoside) 等二種非兒茶酚抗氧化成分(圖 19)。

樊和蘇 (1996) 從山竹果殼分離出 γ - mangostin 及 α - mangostin。樊和蘇 (1996) 亦從鳳凰花分離出 2' - (3'',4'',5'' - trihydroxyphenyl) - ethyl - margarate、isorhamnetin - 3 - *O* - β - D - glucopyranoside、quercetin - 3 - *O* - β - D - xylopyranoside 和 quercetin；樊和蘇 (1996) 亦利用自山竹果殼及鳳凰花分離、純化的抗氧化成分探討各種活性氧消除作用之探討， γ - mangostin 幾乎在所有檢測系統中都呈現抗氧化性(圖 20)。

山竹果殼及鳳凰花同時並進行花青素分析，前者純化出 cyanidin - 3 - *O* - β - D - sophrose，後者純化出 cyanidin - 3 - *O* - β - D - rutinoside，及 cyanidin - 3 - *O* - β - D - glucoside 等二種花青素，三者皆具抗氧化性 (圖 21)。

簡 (2000) 自馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物中純化出 2' - (3'',4'',5'' - trihydroxyphenyl) -ethyl-stearate 抗氧化物質 (圖 22)。

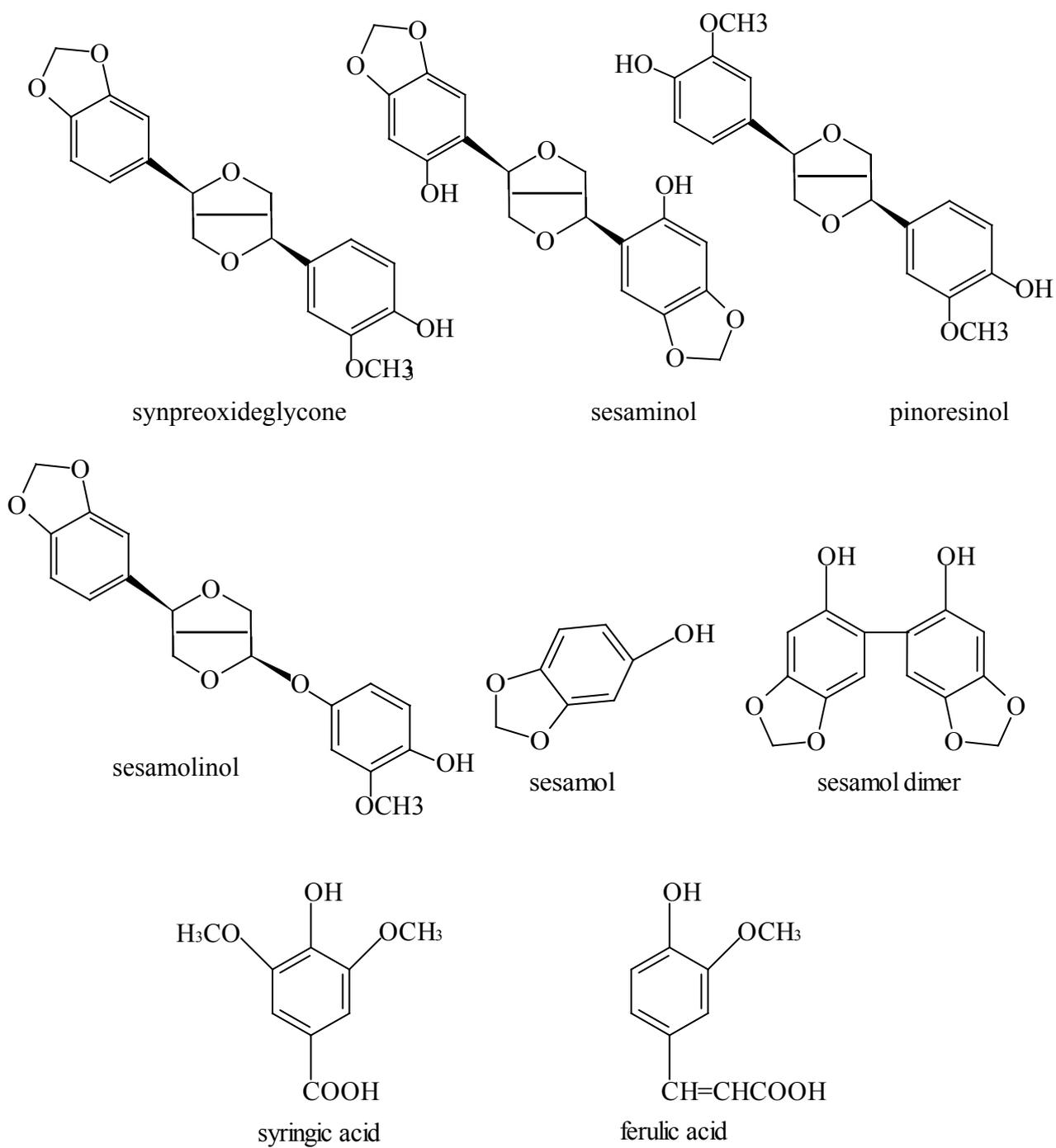


圖13、芝麻之抗氧化成分。

Fig 13. Structures of antioxidants in sesame seed
(*Sesamum indicum* L.).

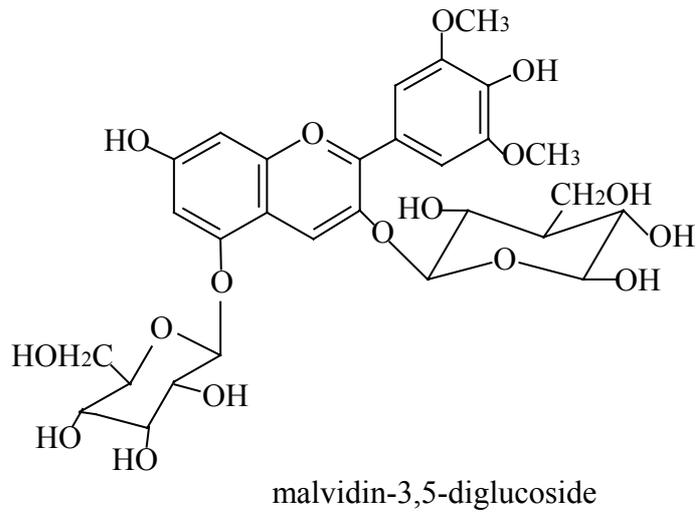


圖14、日本野生葡萄之抗氧化成分。

Fig 14. Structure of antioxidant in *Vitis coignetiae*.

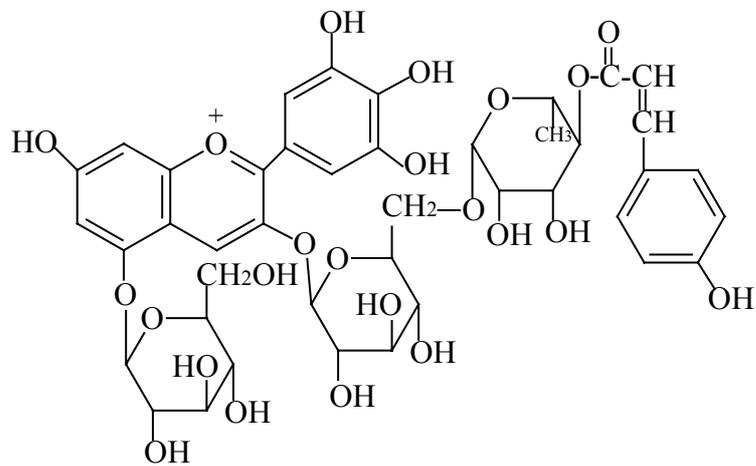


圖15、茄子之抗氧化成分。

Fig 15. Structure of antioxidant in *Solanum melongena* L.

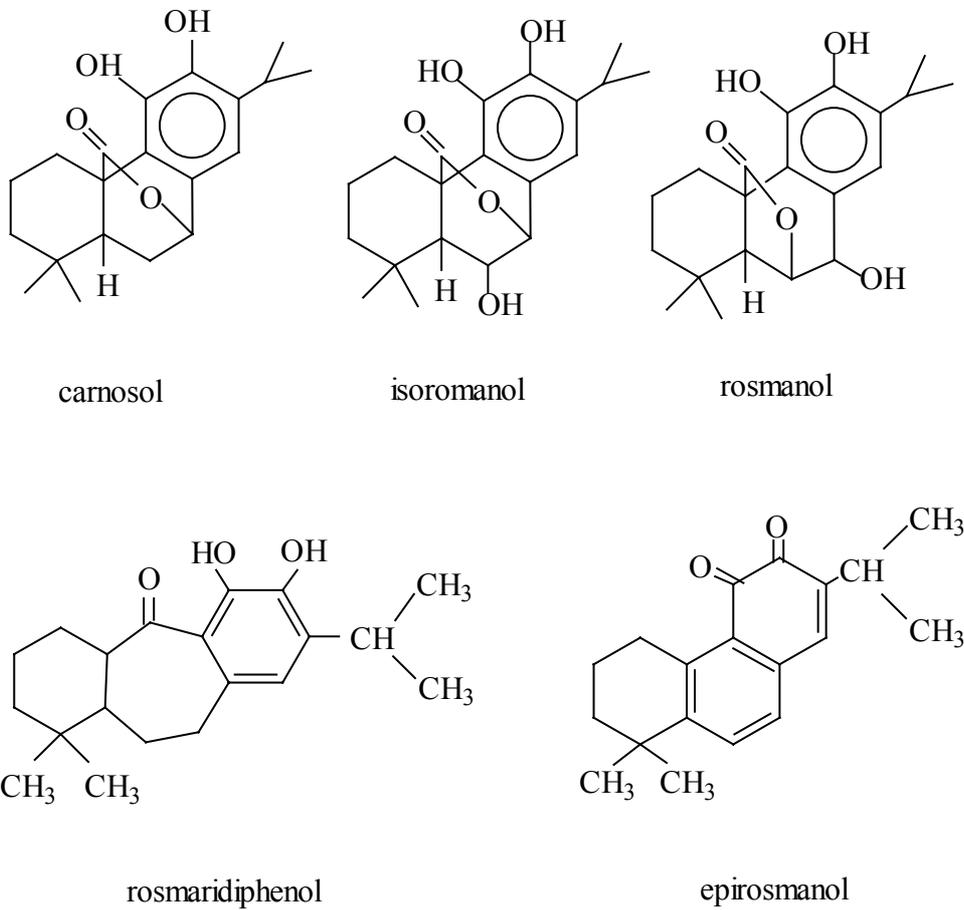
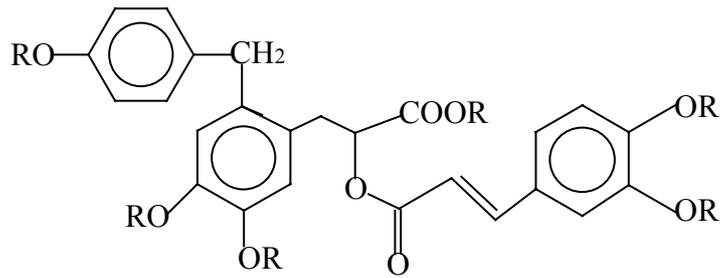
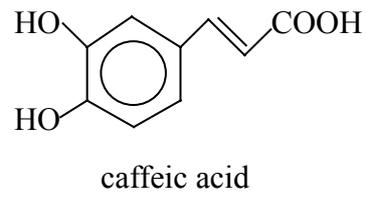
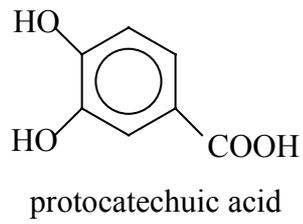
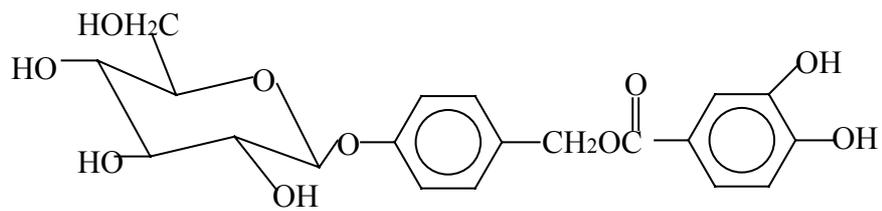


圖16、迷迭香之抗氧化成分。

Fig16. Structures of antioxidants in rosemary
(*Rosmarinus officinalis* L.).



2-caffeoyloxy-3[2-(4-hydroxybenzyl)-4,5-dihydroxyl]phenylpropionic acid



4-(3,4-dihydroxybenzoyloxymethyl)phenyl - β -D-glucopyranosine

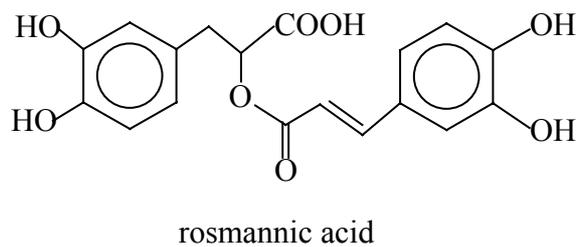
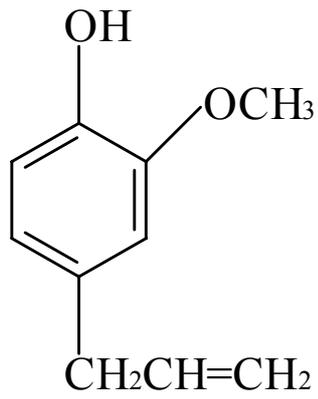
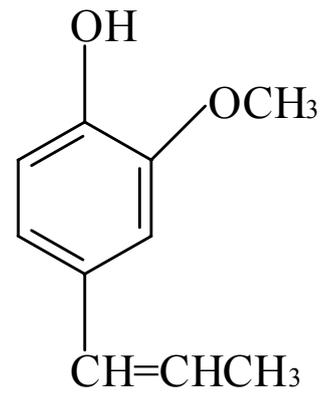


圖 17、披薩草之抗氧化成分。

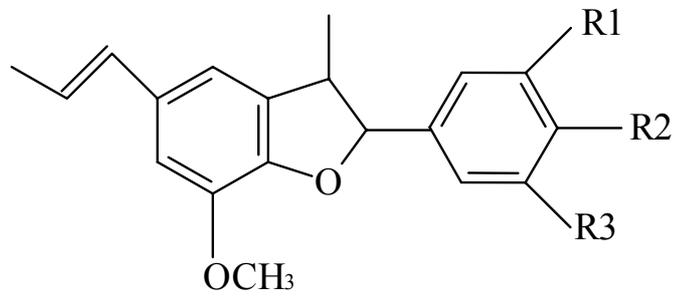
Fig 17. Structures of antioxidants in oregano
(*Origanum vulgare* L.).



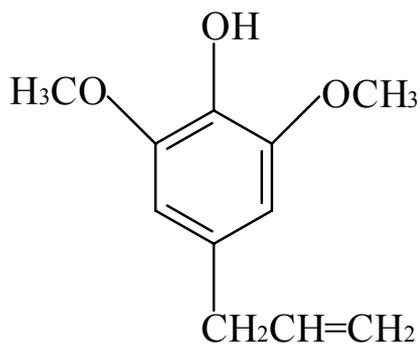
eugenol



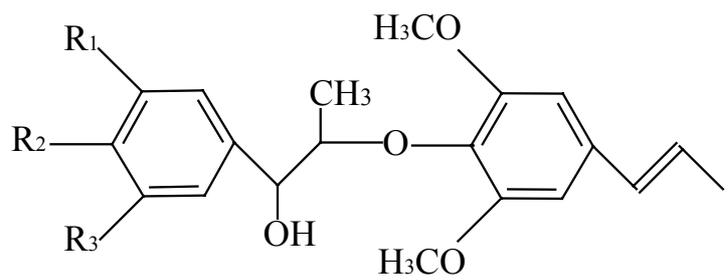
isoeugenol



diphenylpropanoid



6-methoxyeugenol



diphenylpropanoid

圖18、肉豆蔻之抗氧化成分。

Fig 18. Structures of antioxidants in nutmeg.

Hirosue 等 (1978、1988)、Toda 等 (1985) 發現許多中草藥具強抗氧化性。

Su 等 (1986) 篩選 230 種中藥檢測其抗氧化性，其中有 22 種具很強抗氧化性。同時選取紫地丁 (*Osbeckia chinensis* L.) 以溶劑萃取、分離純化數種類黃酮素及水解型 tannins 類的強抗氧化物 (Su 等, 1987a、1987b、1988)。(圖 23、圖 24)

孔 (1991) 從羌活氣仿萃取物中純化出強於 α -生育醇之抗氧化劑 phenethyl ferulate。

葉和蘇 (1993) 從補骨脂 (*Psoralea corylifolia* L.) 分離純化出抗氧化性較 α -生育醇強許多且效果趨近 BHA 的抗氧化物質 bakuchiol。(圖 25)

洪 (1994) 從香薷 (*Mosla formosana* Maxim) 水層萃取物中分離純化出四種酚型化合物，其中 luteolin-7-*O*-rutinoside 強於 α -生育醇之抗氧化性。同年亦鑑定出槐花 (flower buds of *Sophora japonica* L.) 甲醇萃取物中之主要抗氧化物質為 rutin (圖 26、圖 27)。

吳 (1996) 從草果 (fruits of *Amomum tsao-ko* L.) 甲醇萃取物中分離較 α -生育醇強之抗氧化物 caffeic acid、1-(4-hydroxy-5-methoxyphenyl) ethanone、1, 7-bis-4-hydroxyphenyl-3, 5-dihydroxy(3R,5S)-heptane 及抗氧化能力相當於 α -生育醇的 1, 7-bis-4-hydroxyphenyl-3, 5-dihydroxy(3S, 5R)-heptane(圖 28)。

張和蘇 (1996) 從茵陳蒿 (*Artemisia capillaris* Thunb) 甲醇萃取物中純化出相當 BHA 的黃酮素型抗氧化劑 quercetin-3-*O*-D-robinoside 及 isorhamnetin-3-*O*-D-robinoside(圖 29)。

林 (1997) 從紅豆蔻 (fruit hulls of *Alpinia galanga*) 甲醇萃取物

中純化出較 α - 生育醇之抗氧化物 methyl paraben (4-hydroxybenzoic acid methyl ester)、4-(hydroxymethyl)-1,2-benzenediol、3,4-dihydrobenzaldehyde、*trans*-*p*-coumaric acid、*trans* 3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenal 及 3-(4-hydroxyphenyl)-propene (圖 30)。

吳 (1998) 從高良薑 (rhizoma of *Alpiniae officinarum*) 乙酸乙酯萃取物中純化出 1,7-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxy phenyl)-3,5-diketo-2-heptene、1,7-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxy phenyl)-5-hydroxy-3-keto-heptane 及 1-(4'-hydroxy-3'-methoxy)-phenyl-7-phenyl-3,5-dihydroxy-heptane 等四種抗氧化物質(圖 31)。

簡 (2000) 自沙苑子 (seeds of *Astragalus*) 乙酸乙酯萃取物中純化出 3,5-dihydroxy-4'-methoxy-1,1-(1'2-ethylenediyl) bis[benzene]、6'-methoxy-7-methyl formononetin 及 *p*-coumaroyl triterpenoidyl ester 等三種抗氧化物質 (圖 32)。

蔡 (2001) 自細辛 (*Asiasarum heterotropoides* var. *mandshuricum*) 乙酸乙酯萃取物中純化出 methyl paraben (4-hydroxybenzoic acid methyl ester) 及 *trans p*-coumaric acid [3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenoic acid] 兩種抗氧化物質 (圖 33)。

洪 (2001) 自雷丸 (nucleoid of *Polyporus mylittae*) 甲醇萃取物中純化出 7-(4'-dihydroxy flavanone-7-O- β -D-glucopyranoside)、4-hydroxymethyl-benzaldehyde 及 4-hydroxybenzaldehyde 等三種抗氧化物質 (圖 34)。

柯 (2002) 自廣藿香 (nucleoid of *Pogostemon chablin* (Blanco) Benth) 甲醇萃取物中純化出 4-hydroxyethyl-catechol-1-O-(2'- α -L-rhamno pyranosyl)- β -D-glucopyranoside、adenosine 及 *O*-coumaroyl- β -D-glucopyranoside 等三種抗氧化物質 (圖 35)。

陳 (2003) 自女貞子 (*Ligustrum lucidum* Ait) 甲醇萃取物中純

化出 1-(4-hydroxy phenyl) ethyl acetate, 4-hydroxy-3,5-methoxy-benzoic acid methyl ester, 3-[4-hydroxy-3-methoxy phenyl]-2-propenyl-1-ol, trans-ferulic acid 及 3-[4-hydroxy-3-methoxy phenyl]-2-propenal 等五種抗氧化物質 (圖 36)。

廖 (2003) 自白芍 (root of *Paeonia lactiflora* Pall) 甲醇萃取物中純化出 pentagalloylglucose, methyl gallate, gallic acid, methyl vanillinate, benzoic acid, benzoylabiflorin 及 benzoylpaeoniflorin 等七種抗氧化物質 (圖 37)。

林 (2003) 自常山 (*Dichroa febrifuga* Lour) 甲醇萃取物中純化出 4-hydroxy-3-methoxy- phenyl-2,3-dihydroxy-1-propanone, 3-[[6-O-(6-deoxy- α -L- mannopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy]-caffeic acid 3-[(β -D-glucopyranosyl)oxy]-4-hydroxy phenyl ethyl ester, 3-[(β -D-glucopyranosyl)oxy]-caffeic acid 4- [(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl)oxy] - phenyl - ethyl ester, umbelliferone (7-hydroxycoumarin), trans ferulic acid, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propenal 等六種抗氧化物質 (圖 38)。

以上所舉僅為眾多相關研究的一小部份, 這些研究者在尋求更有效、更安全的新天然抗氧化劑時也多針對不同植物材料進行廣泛研究, 試分離純化出優良的天然抗氧化物質, 不過至目前為止都還未到能有效地取代人工合成抗氧化劑或 α -生育醇的階段, 因為目前這些被發現具強抗氧化力的天然抗氧化物質除須再經過毒物學上的研究外, 其在各種類型食物中的穩定性、溶解性、適量的添加濃度及在萃取純化過程中所花費的昂貴製造費用等種種問題仍須克服 (Namiki, 1990)。

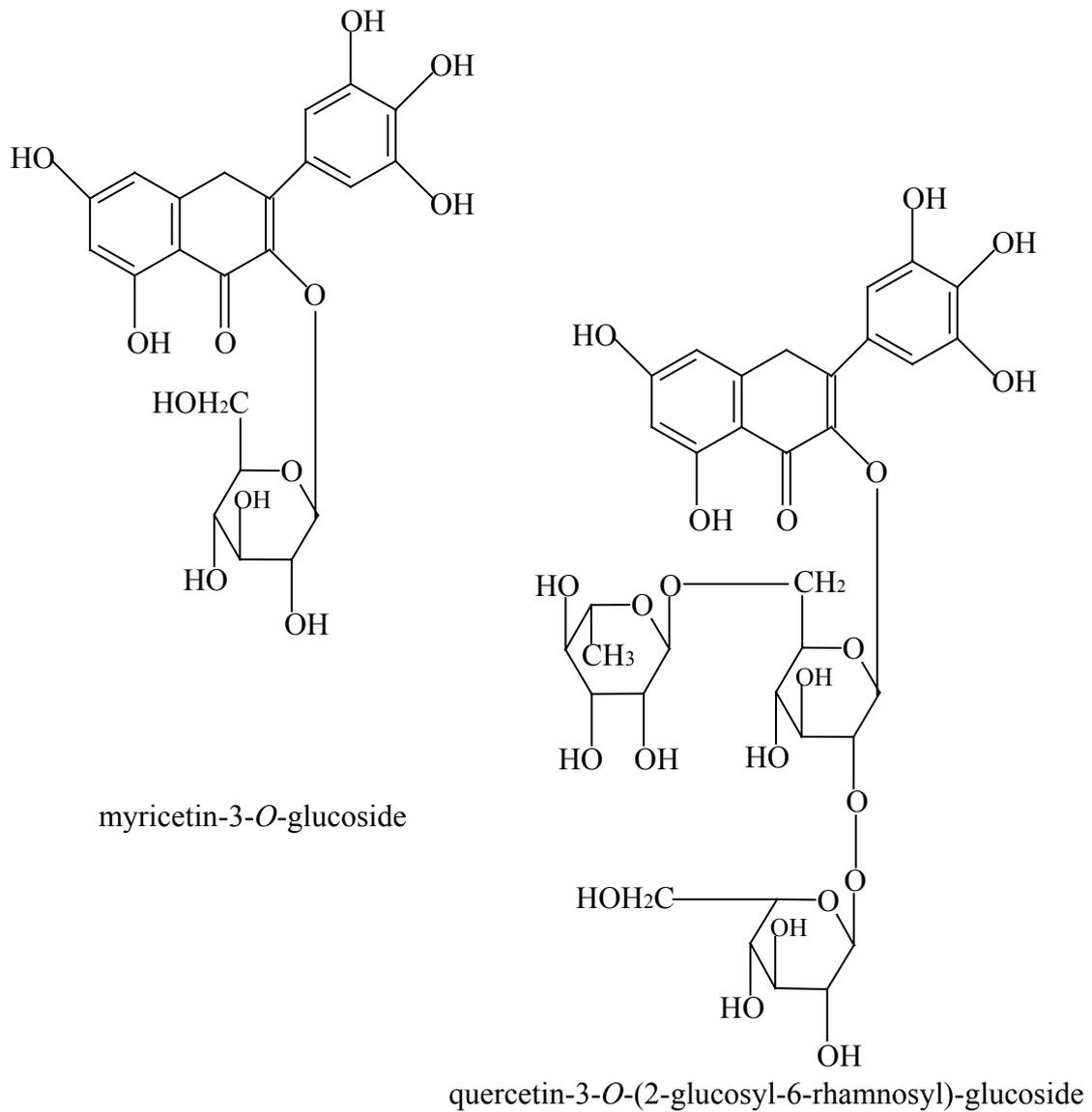
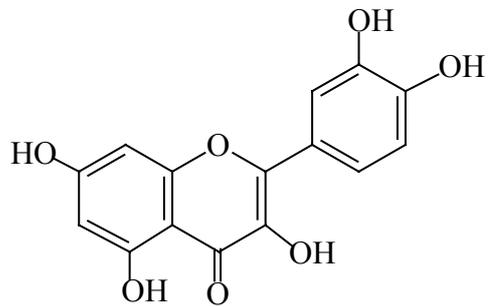
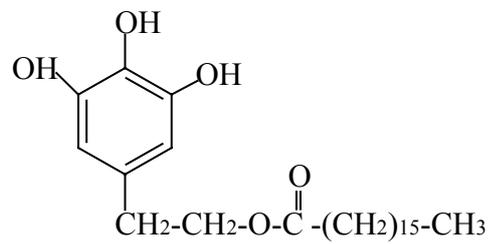


圖19、茶梗之非兒茶素型抗氧化成分。

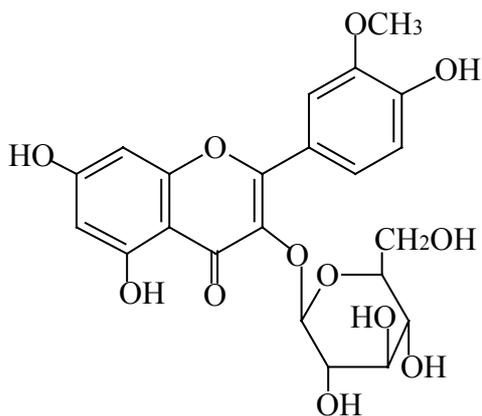
Fig 19. Structures of noncatechin typical antioxidants in tea stalks.



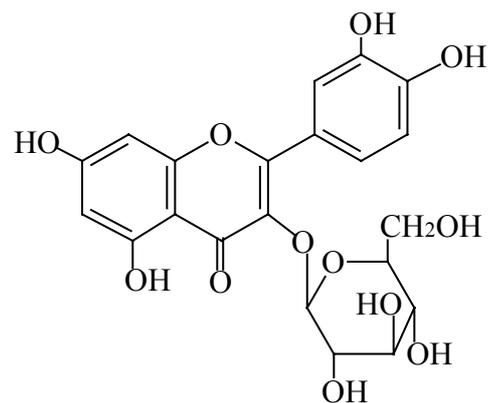
quercetin



2'-(3'',4'',5''-trihydroxyphenyl)-ethyl-margarate



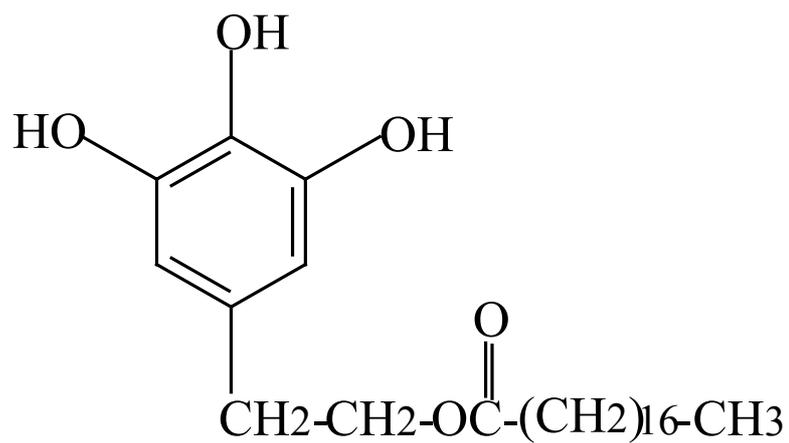
isorhamnetin-3-O- β -D-glucopyranoside



quercetin-3-O- β -D-xylopyranoside

圖21、鳳凰花之抗氧化成分。

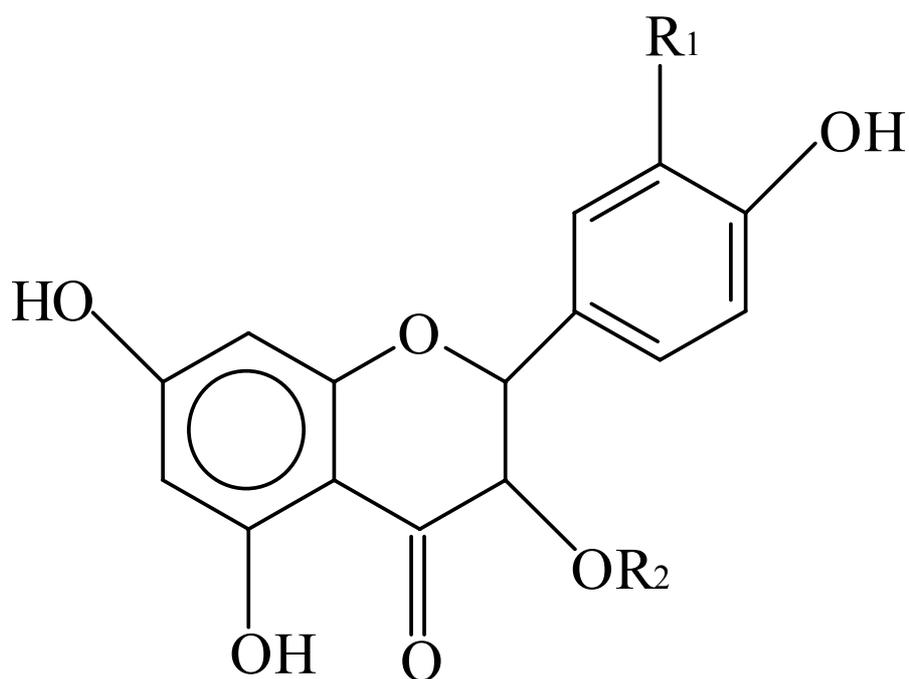
Fig 21. Structures of antioxidants in flower of *Delonix regia*.



2'-(3'',4'',5''- trihydroxyphenyl)-ethyl -sterate

圖22、馬櫻丹花之抗氧化成分。

Fig 22. Structures of antioxidants in flowers of
Lanata camara.



	R ₁	R ₂
1	H	H
2	OH	H
3	OH	β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl
4	OH	β -D-glucopyranosyl
5	H	β -D-glucopyranosyl

圖23、紫地丁之類黃酮素抗氧化成分。

Fig 23. Structures of flavonoid antioxidants in
Osbeckia chinensis L.

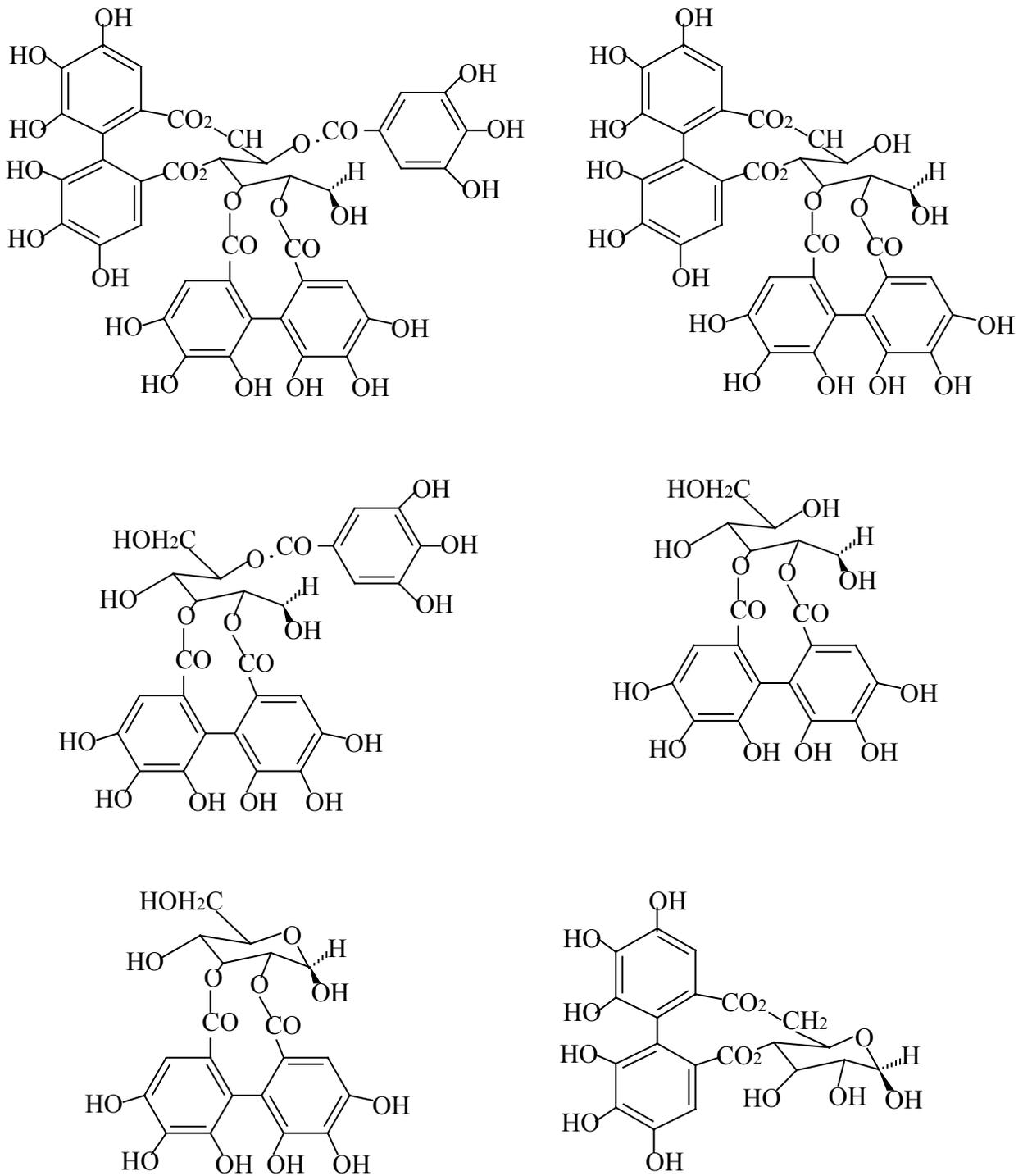


圖24、紫地丁之丹寧型抗氧化成分。

Fig 24. Structures of tannin antioxidants in *Osbeckia chinensis* L.

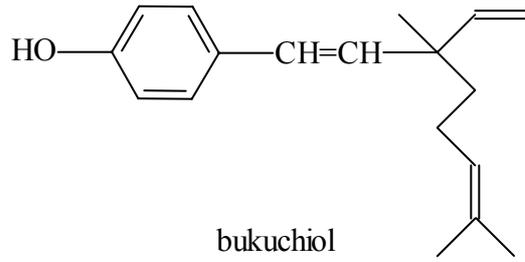


圖25、補骨脂之抗氧化成分。
Fig 25. Structure of antioxidant in *Psoralea corylifolia* L.

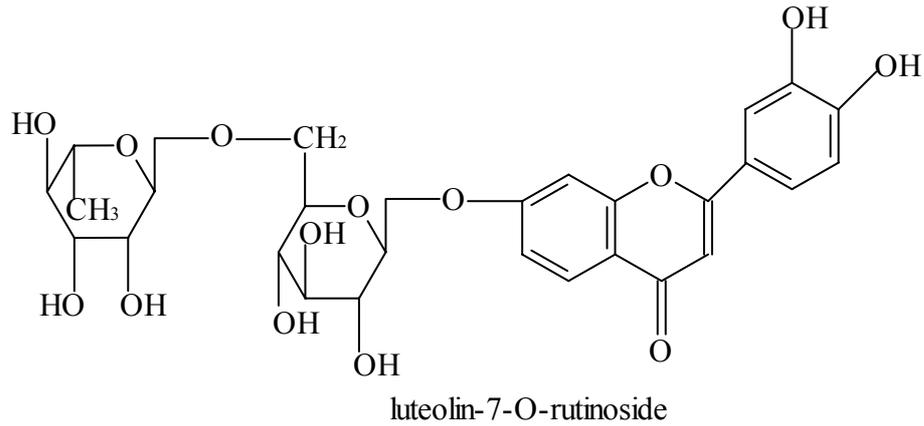


圖26、香薷之抗氧化成分。
Fig 26. Structure of antioxidant in *Mosla formosana*.

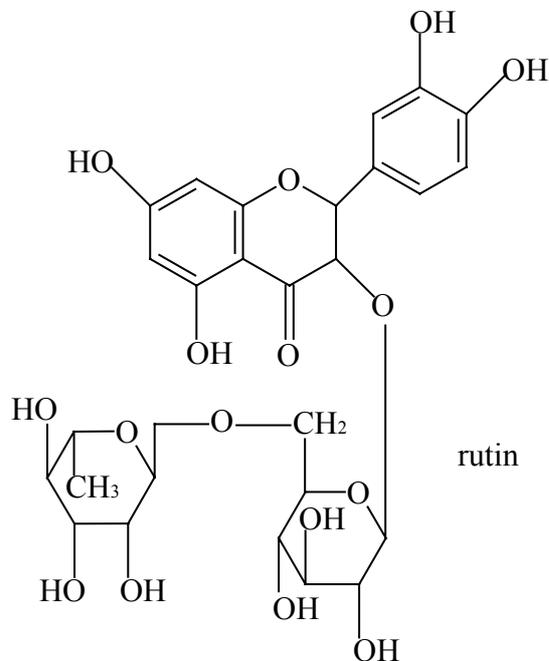
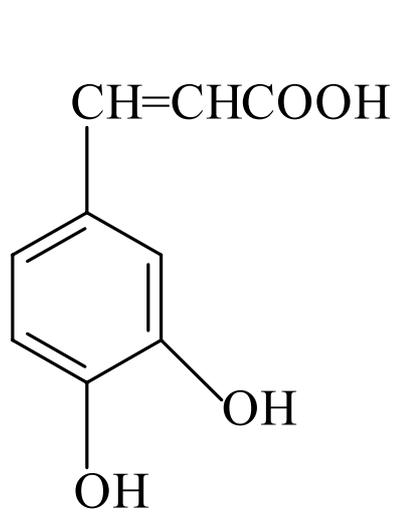
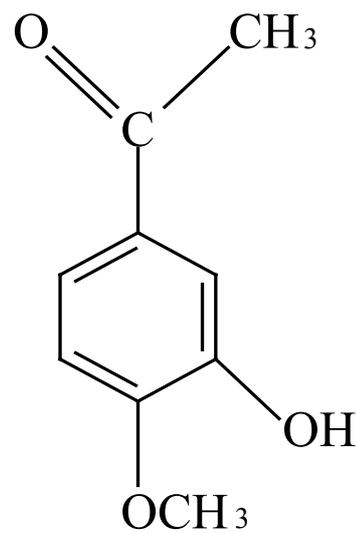


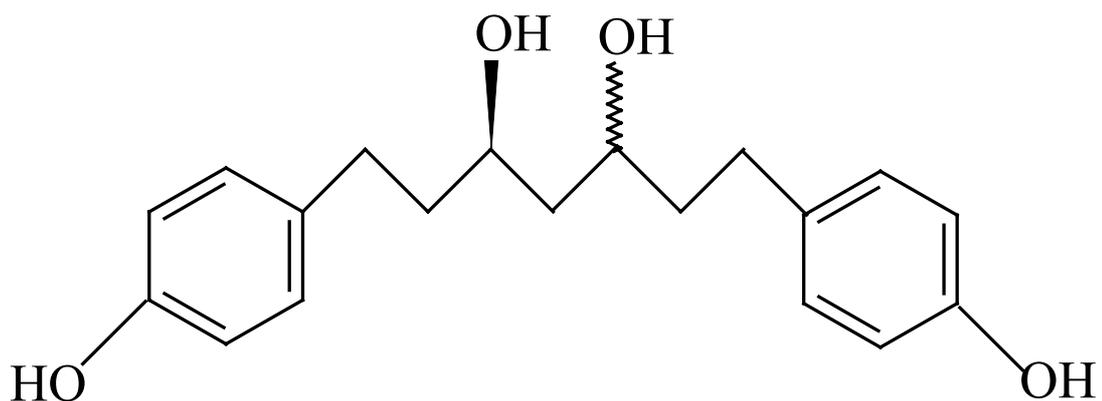
圖27、槐花之抗氧化成分。
Fig 27. Structure of antioxidant in flower bud of
Sophora japonica L.



caffeic acid



1-(5-hydroxy-4-methoxyphenol)-ethanone

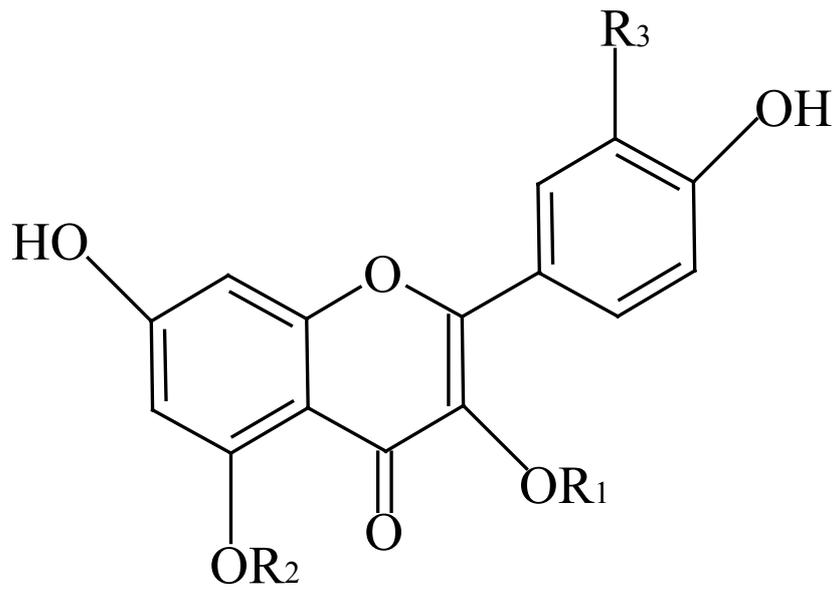


1,7-bis-4-hydrophenyl-3,5-dihydroxy-heptane

圖28、草果之抗氧化成分。

Fig 28. Structures of antioxidants in fruits of

Amomum tsao-ko L.



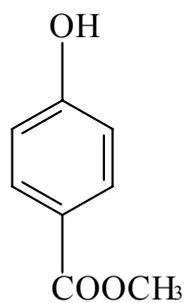
	R ₁	R ₂	R ₃
1	Gal(6→1)rha	H	OH
2	Gal(6→1)rha	H	OCH ₃

1 : quercetin 3-*O*-D-robinoside

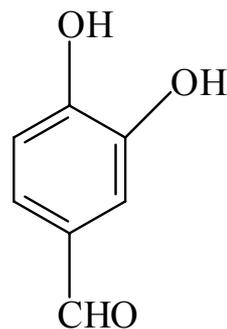
2 : isorhamnetin 3-*O*-D-robinoside

圖29、茵陳蒿之抗氧化成分。

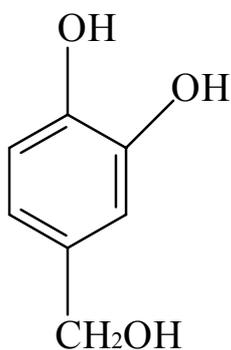
Fig 29. Structures of antioxidants in *Artemisia capillaris* Thunb.



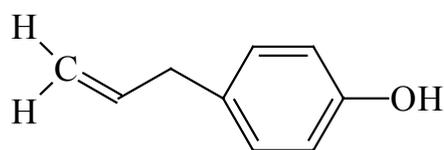
methyl paraben (4 - hydroxybenzoic acid methyl ester)



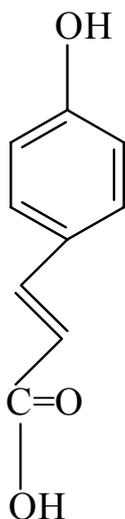
3,4 - dihydrobenzaldehyde-*trans* - *p* - coumaric acid



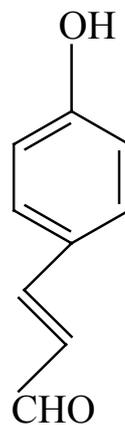
4-(hydroxymethyl)-1,2-benzenediol



3-(4-hydroxyphenyl)-propene



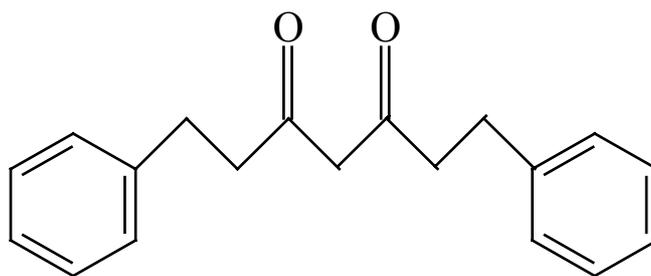
trans-*p*-coumaric acid



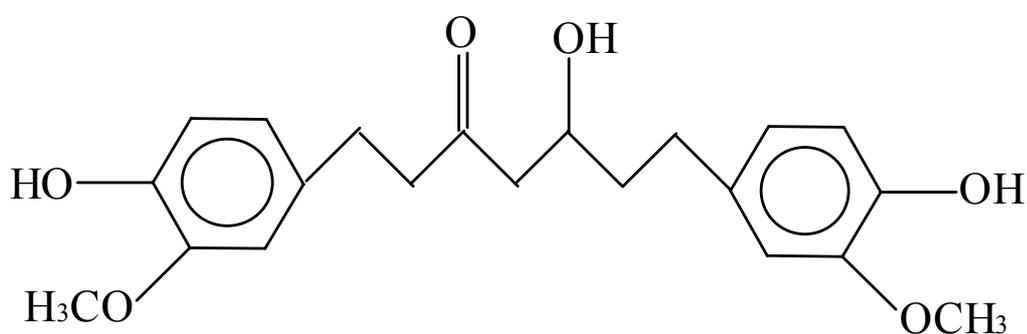
trans- 3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenal

圖30、紅豆蔻之抗氧化成分。

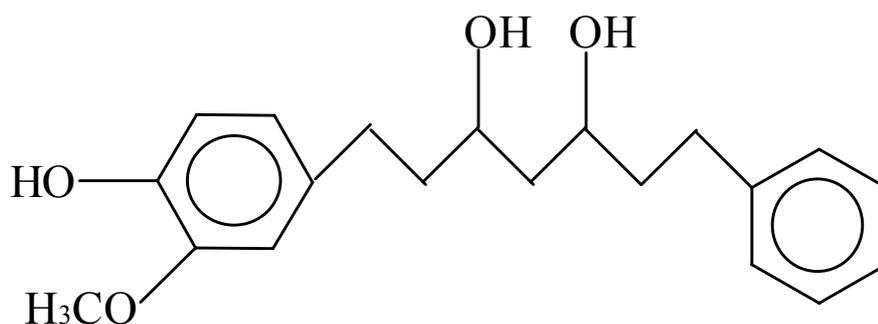
Fig 30. Structures of antioxidants in fruit hulls of *Alpinia galanga*.



1,7-bis-diphenyl-3,5-diketo-2heptane



1,7-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxy-phenyl)-5-hydroxy-3-keto-heptane



1-(4-hydroxy-3-methoxy)-phenyl-7-phenyl-3-5-dihydroxy-heptane

圖31、高良薑之抗氧化成分。

Fig 31. Structures of antioxidants in rhizoma of *Alpiniae officinarum*.

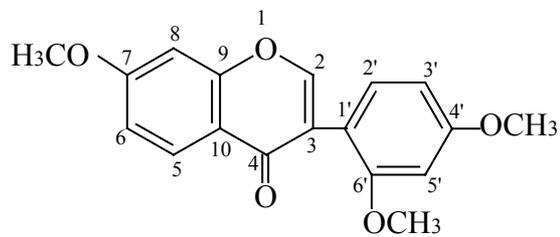
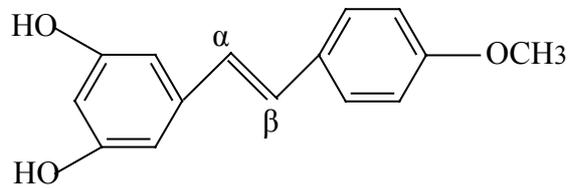
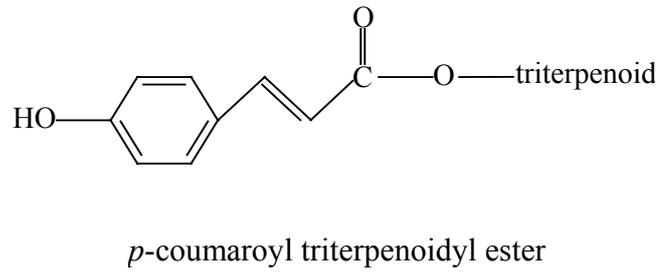
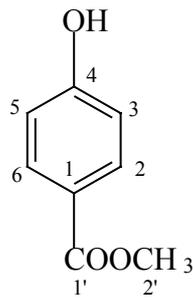
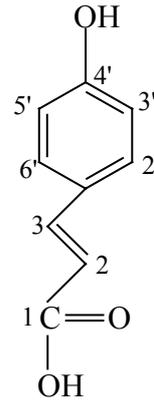


圖32、沙苑子之抗氧化成分。

Fig 32. Structures of antioxidants in seeds of *Astragalus complantus*.



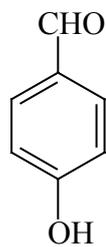
methyl paraben (4-hydroxybenzoic acid methyl ester)



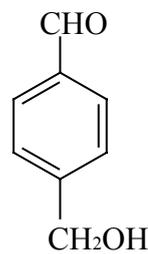
trans p-coumaric acid
[3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenoic acid]

圖33、細辛之抗氧化成分。

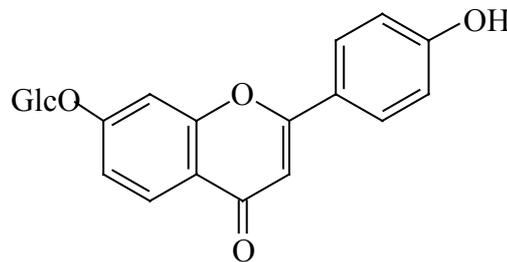
Fig 33. Structures of antioxidants in *Asiasarum heterotropoides* var. *mandshuricum*.



4-hydroxybenzaldehyde



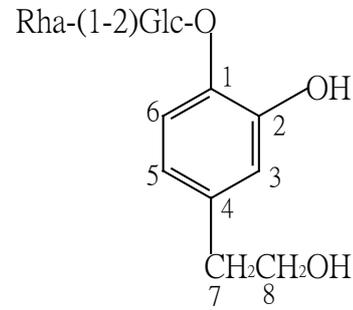
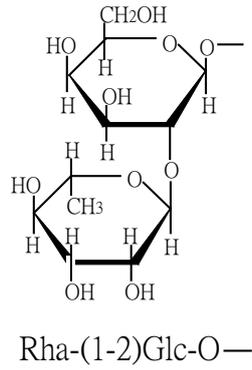
4-hydroxymethyl-benzaldehyde



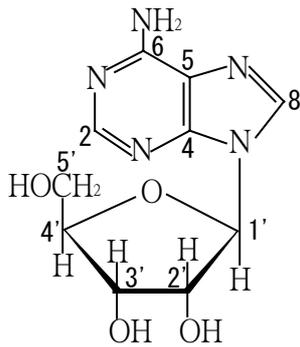
7-4'-dihydroxy flavanone-7-*O*-β-D-glucopyranoside

圖34、雷丸之抗氧化成分。

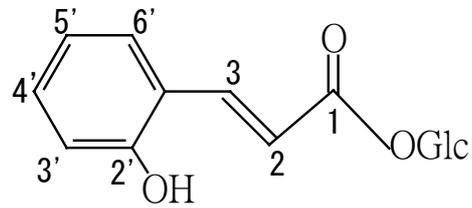
Fig 34. Structures of antioxidants in nucleoid of *Polyporus mylittae*.



4-hydroxyethyl-catechol-1-*O*-(2'- α -L-rhamno pyranosyl)- β -D-glucopyranoside



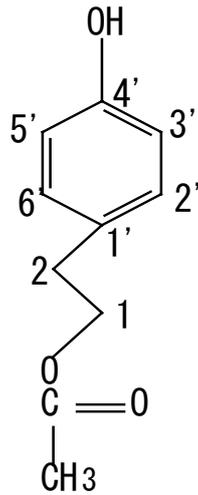
adenosine



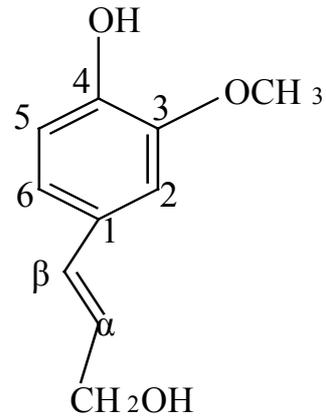
O-coumaroyl- β -D-glucopyranoside

圖35、廣藿香之抗氧化成分。

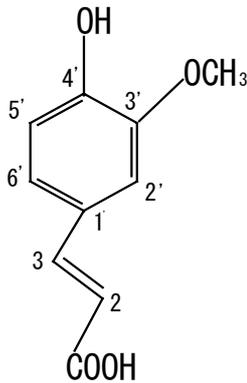
Fig 35. Structures of antioxidants in nucleoid of *Pogostemon chablin* (Blanco) Benth.



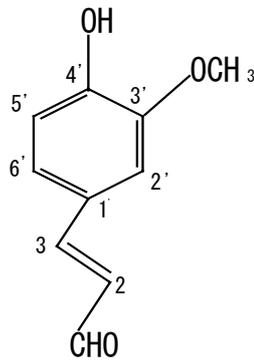
1-(4-hydroxy phenyl) ethyl acetate



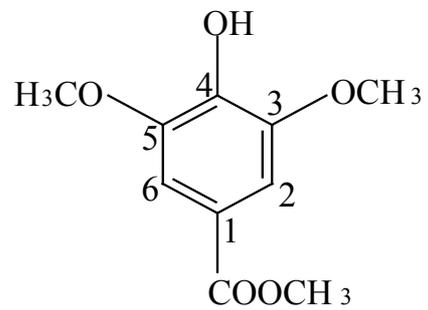
3-[4-hydroxy-3-methoxy phenyl]-2-propenyl-1-ol



trans-ferulic acid



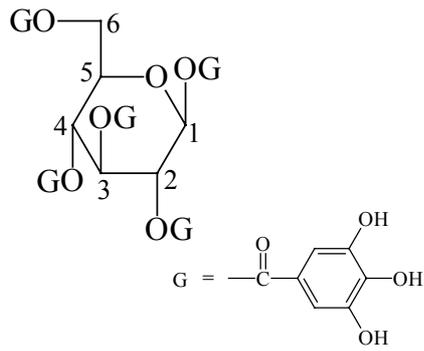
3-[4-hydroxy-3-methoxy phenyl]-2-propenal



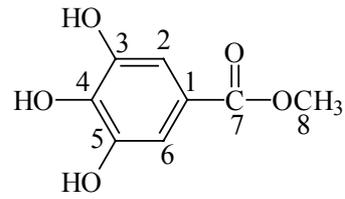
4-hydroxy-3,5-methoxybenzoic acid methyl ester

圖36、女貞子之抗氧化成分。

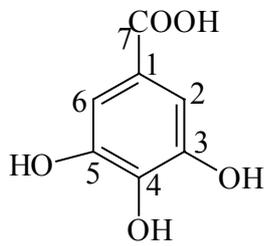
Fig 36. Structures of antioxidants in fruits of *Ligustrum lucidurn* Ait.



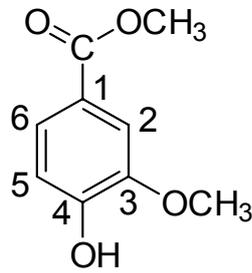
pentagalloylglucose



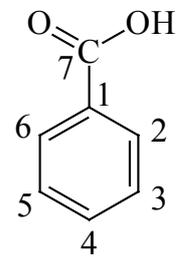
methyl gallate



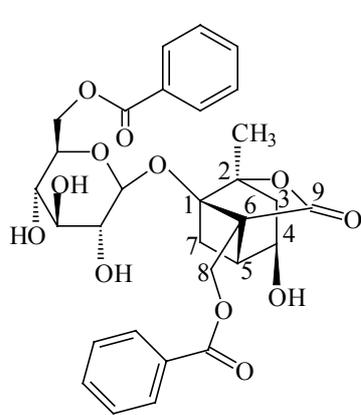
gallic acid



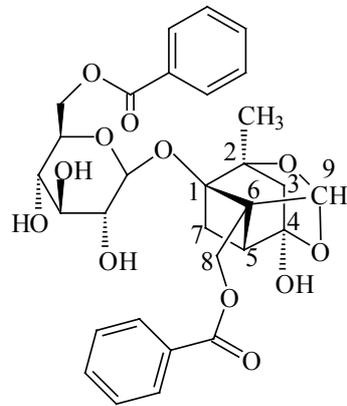
methyl vanillate



benzoic acid



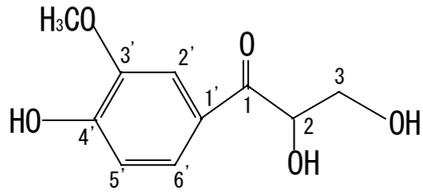
benzoylbiflorin



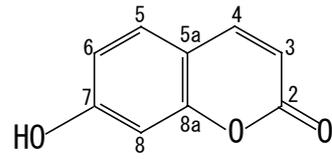
benzoyl paeoniflorin

圖37、白芍與炒白芍之抗氧化成分。

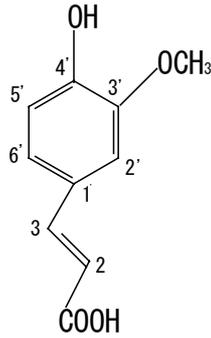
Fig 37. Structures of antioxidants in raw and roasted Bai-shao (root of *Paeonia lactiflora* Pall).



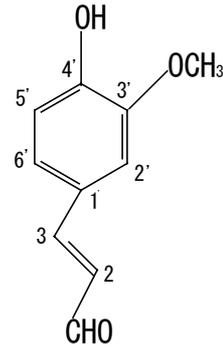
4-hydroxy-3-methoxy-phenyl-
2,3-dihydroxy-1-propanone



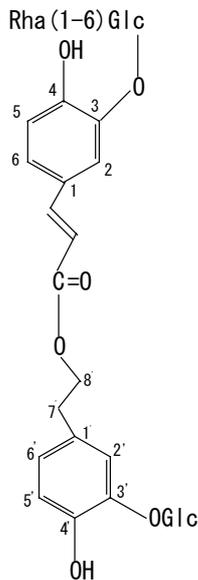
umbelliferone (7-hydroxycoumarin)



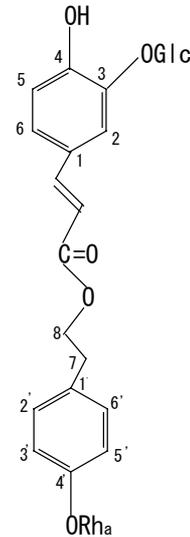
trans ferulic acid



3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-
2-propenal



3-[[6-O-(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy]-caffeic acid 3-[(β -D-glucopyranosyl)oxy]-4-hydroxy phenyl ethyl ester



3-[(β -D-glucopyranosyl)oxy]-
caffeic acid 4-[(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl)oxy]-phenyl-ethyl ester

圖 38、常山之抗氧化成分。

Fig 38. Structures of antioxidants in *Dichroa febrifuga* Lour.

第五節 篇蓄之簡介

篇蓄之介紹（江蘇新醫學院「中藥大辭典」編寫組，2003）：

篇蓄異名：竹（《詩經》），篇竹（《本經》），篇筑（《說文》），畜辯、篇蔓（《吳普本草》），扁蓄（《局方》），扁畜（《救荒本草》），粉節草、道生草（《綱目》）。基原：為蓼科植物篇蓄的全草。原植物：篇蓄 *Polygonum aviculare* L.（圖 39）。



圖 39、篇蓄。

Fig 39. *Polygonum aviculare* L.

一年生草本，高 15~50 厘米。莖匍匐或斜上，基部分枝甚多，具明顯的節及縱溝紋；幼枝上微有棱角。葉互生；葉柄短，約 2~3 毫米，亦有近於無柄者；葉片披針形至橢圓形，長 5~16 毫米，寬 1.5~5 毫米，先端鈍或尖，基部楔形，全緣，綠色，兩面無毛；托鞘膜質，抱莖，下部綠色，上部透明無色，具明顯脈紋，其上之多數平行脈常伸出成絲狀裂片。花 6~10 朵簇生於葉腋；花梗短；苞片及小苞片均為白色透明膜質；花被綠色，5 深裂，具白色邊緣，結果后，邊緣變為粉紅色，雄蕊通常 8 枚，花絲短；子房長方形，花柱短，柱頭 3 枚。瘦果包圍於宿存花被內，偶頂端小部份外露，卵形，具 3 稜，長 2~3 毫米，黑褐色，具細紋及小點。花期 6~8 月。果期 9~10 月。生長於田野路旁、荒地及河邊等處。中國大陸各地均有分布。

栽培：(1) 氣候土壤～氣候宜溫和。土質以肥沃疏鬆較濕潤的砂質壤土為佳。(2) 整地～冬季將土地深翻約 20 厘米左右，播種前再耕 1 次，耙碎土塊，用堆肥或廐肥做基肥，做成 1.5～2 米寬的畦。(3) 種植～播種期為 3 月中旬至 4 月上旬。用撒播法或條播法均可。a. 撒播法：將種子均勻撒播畦面，覆蓋薄土 1 層，稍加鎮壓。b. 條播法：按行距 15 厘米開條溝，深 6～10 厘米。將種子疏播溝中，覆土厚 0.7～1 厘米。(4) 田間管理～當幼苗生有 3～4 片真葉時，進行第 1 次間苗，待生有 6～7 片葉時，進行第 2 次間苗，株距約 12～15 厘米。除草宜勤，鬆土 1～2 次。乾旱時宜灌水，保持土壤濕潤。幼苗期及開花前各施追肥 1 次，以人糞尿與硫酸銨為主。

採集：芒種至小暑間，莖葉生長茂盛時採收。割取地上部分，曬乾。

藥材：乾燥全草，莖呈圓柱形稍扁，多彎曲，直徑約 1.5～3 毫米，表面棕紅色或灰綠色，光滑無毛，具縱直紋理，節膨大，殘存紅棕色或白色薄膜狀透明的托鞘，節間長短不一；近基部的莖，質堅硬，位於頂端者較柔軟，折斷面黃白色，中心具廣大的髓部，有時成空洞狀。葉片綠褐色或灰綠色，通常脫落。花生於葉腋，紅色，但多數已萎落不存；花被黃綠色，頂端邊緣粉紅色，內藏瘦果 1 枚，三角狀卵形。氣微弱，味清涼。以色綠、葉多、質嫩、無雜質者為佳。中國大陸大部分地區均產，以河南、四川、浙江、山東、吉林、河北等地產量較大。

成分：全草含蒽醌 (avicularin)、槲皮 (quercitrin)、*d*-兒茶酚 (*d*-catechol)、沒食子酸 (gallic acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、草酸 (oxalic acid)、矽酸 (silicic acid)、漂木酸 (chlorogenic acid)、*p*-香豆酸 (*p*-coumaric acid)、粘質、葡萄糖、果糖及蔗糖。

藥理：

1. 利尿作用：實驗證明，蒽醌有利尿作用，煎劑 20 克/公斤給予鹽水負荷的大白鼠后，尿量、鈉、鉀排出均增加，特別是鉀的排出較多，其灰分亦有同樣效果，因此認為其利尿作用主要是由於鉀鹽所致，也有人認為是由於其中所含黃酮 所致。
2. 降壓作用：蒽醌的水及醇提取物靜脈注射，對貓、兔、狗有降壓作用。

3. 對子宮及止血作用：篇蓄水及醇提取物能加速血液凝固，使子宮張力增加高，可用作流產及分娩後子宮出血的止血劑。
4. 抗菌作用：1：10 的篇蓄浸出液，試管內對某些真菌有抑制作用，對細菌的抑制作用較弱。
5. 其他作用：能增強呼吸運動的幅度及肺換氣量，有輕度收斂作用，可作創傷用藥。篇蓄 對大鼠、犬有利膽作用。給犬靜脈注射半數有效量（2.57~4.26 mg/kg），可使膽鹽的排出增加。

毒性：篇蓄作為牧草是有毒的，可使馬、羊產生皮炎及胃腸紊亂，鴿對此植物的毒性作用最敏感。貓、兔口服浸劑（10~20%）或煎劑（1：40）的最小致死量為 20 毫升/公斤，靜脈注射水提取物（1：50）則為 2 毫升/公斤。

炮製：去淨雜質及根，洗淨，潤軟，切段曬乾。

性味：苦，寒

1. 《本經》：“味苦，平。”
2. 《別錄》：“無毒。”
3. 《滇南本草》：“性寒，味苦。”
4. 《本草正》：“味苦澀。”

功用主治：利尿，清熱，殺蟲。治熱淋，癃閉，黃疸，陰蝕，白帶，蛔蟲，疝積，痔腫，濕瘡。

1. 《本經》：“主浸淫，疥癬疽痔，殺三蟲。”
2. 《別錄》：“療女子陰蝕。”
3. 陶弘景：“煮汁與小兒飲，療蛔蟲有驗。”
4. 《藥性論》：“主丹石毒發沖目腫痛，又敷熱腫效。”
5. 《滇南本草》：“利小便。治五淋白濁，熱淋，淤精澀閉關竅，並治婦人氣郁，胃中濕熱，或白帶之症。”
6. 《綱目》：“治霍亂，黃疸，利小便。”
7. 《貴州民間方藥集》：“治小兒疝積，消臃脹。”
8. 《江西中藥》：“治肛門作癢由於濕熱者。”

第三章 篇蓄抗氧化成分之研究

材料與方法

一、實驗材料與使用儀器

1. 實驗材料

本實驗所使用之中藥材篇蓄係於民國 92 年 4 月購自苗栗市宏達科學中藥行。樣品以磨粉機（中藥用磨粉機，台中榮聰鐵工廠製）磨碎至可通過 200 mesh 篩網孔之粗粉。

2. 分析試劑

實驗用之甲醇（methanol, MeOH）、乙酸乙酯（ethyl acetate, EtOAc）、正己烷（*n*-hexane）、丙酮（acetone）購自我國皓峰公司， α -生育醇（ α -tocopherol）、重氫甲醇（CD₃OD）及丁基羥基甲氧苯（butylated hydroxyanisole, BHA）購自美國 Sigma 公司，氯化亞鐵（FeCl₂）及醋酸（acetic acid）購自德國 Merck，亞麻油酸（linoleic acid）、硫氰酸銨（NH₄SCN）、氫氧化鈉（NaOH）磷酸二氫鉀（KH₂PO₄）購自日本 Wako 公司。以上所有試劑均為試藥級或 HPLC 級。亞麻油酸經充氮減壓蒸餾後，分裝於 2mL 褐色指形瓶中，貯存在 -20°C 冷凍庫備用，每隔二個月須重新蒸餾再製。

3. 使用儀器

（1）旋轉式減壓濃縮機

使用日本 Tokyo Rikkakikia 公司的 Eyela Cool ECS-50 型濃縮機。

（2）紫外線 - 可見光吸光光譜儀

使用日本 Hitachi 公司的 U-2001 Spectrophotometer。

（3）質譜儀

使用日本電子公司（JEOL）JMS/SX/SX 102A 質譜儀。

（4）核磁共振光譜儀

使用 VXR-300/51 型核磁共振光譜儀 ($^1\text{H-NMR}$ 以 600MHz、 $^{13}\text{C-NMR}$ 以 75MHz) 檢測。

(5) 高效液相層析儀(High Performance Liquid Chromatography)

使用日本 Hitachi 公司 L-7100 型的液相層析儀；日本 Hitachi 公司 L-7420 型的光二極體陣列層析器；日本 Hitachi 公司 D-7500 型的層析控制與資料處理機。

(A) 分析型高效液相層析

管柱為日本 Nomura 化學公司之 Develosil ODS-5 管柱 (4.6×250mm)

(B) 製備型高效液相層析

管柱為日本 Nomura 化學公司之 Develosil ODS-7 管柱 (20×250mm)

4. 充填樹脂：

(1) Silica gel 60 樹脂 (70-230 mesh，德國 Merck 公司)。

(2) ODS 樹脂：Cosmosil₁₄₀ C₁₈-OPN (日本 Nacal Tesque 公司)。

5. HPTLC-Fertigplatten Cellulose F (德國 Merck 公司)。

二、實驗方法

1. 抗氧化性檢測

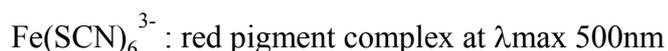
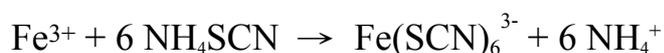
本實驗採用對脂質氫過氧化物反應極為靈敏之硫氰酸鐵法 (ferric thiocyanate method) (滿田等，1967；蘇等，1991) 作為抗氧化性的檢測方法(圖 40)。

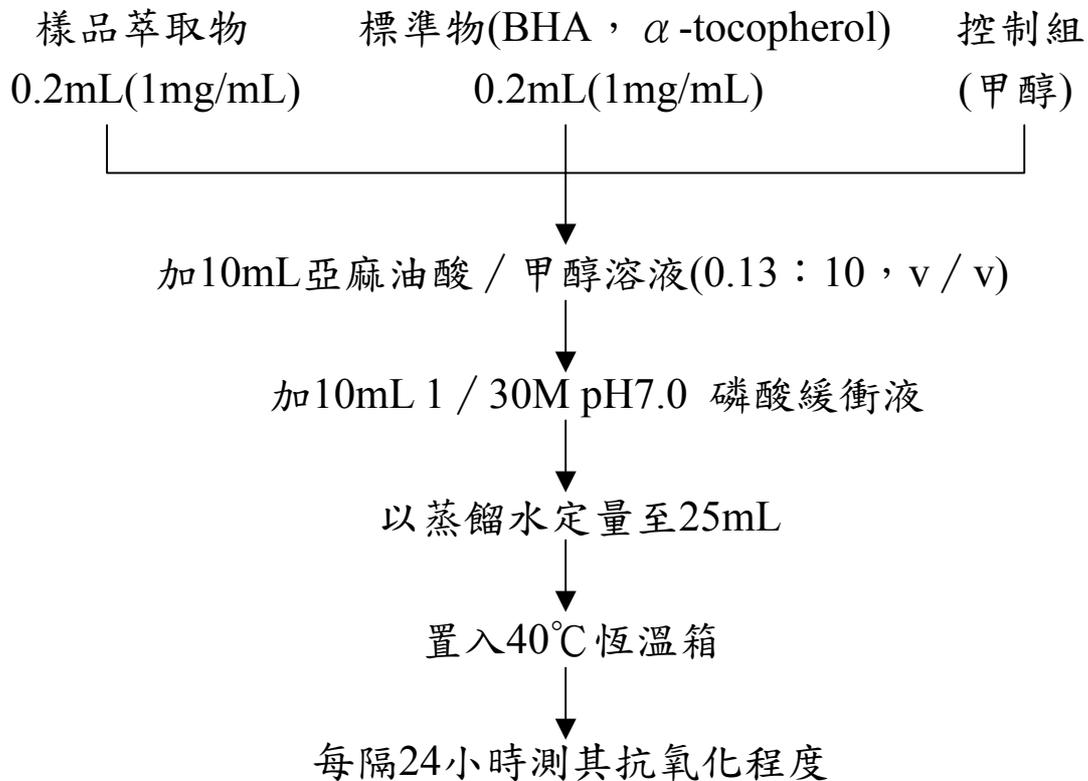
將欲檢測物質、 α -生育醇 (α -tocopherol) 及丁基羥基甲氧苯 (butylated hydroxyanisole, BHA) 分別配製成濃度為 1 mg/mL 之甲醇溶液，各取 0.2 mL 加入具有磨砂蓋子的 50 mL 三角錐型瓶中，對照組則僅加入等量甲醇(0.2 mL)於三角錐型瓶中，再分別加入 0.13% 之亞麻油酸甲醇溶液 10 mL 及 1/30M pH 7.0 之磷酸緩衝液 10 mL，最後以去離子水定量至 25 mL。將三角瓶密封，置入 40°C 循環式恆溫

烘箱內，每隔 24 小時定時取出進行顯色反應及比色分析。

顯色反應：取上述反應基質 0.2 mL 至含有 9.4 mL 75% 甲醇水溶液的試管中，再依次加入氯化亞鐵鹽酸溶液 (2.45×10^{-2} g FeCl_2 / 10 mL 3.5% HCl) 0.2 mL，硫氰酸銨溶液 (3g NH_4SCN / 7mL dist. H_2O) 0.2 mL。振盪使之混合均勻，反應三分鐘後，再檢測波長 500 nm 下之吸收值。

油脂經氧化生成之氫過氧化物遇二價鐵離子 (Fe^{2+})，會將其氧化成三價鐵離子 (Fe^{3+})，此時被氧化的三價鐵離子再與硫氰酸根離子 (SCN^-) 反應而生成紅色的硫氰酸鐵錯化合物 [$\text{Fe}(\text{SCN})_6^{3-}$]，此紅色錯化合物在 500 nm 波長之單色光下有極大的吸光值。當油脂的氧化程度愈高，氫過氧化物生成就愈多，隨即紅色硫氰酸鐵錯化合物濃度也就愈多，顏色也就愈深，因此由吸光值的大小可推而得知氧化程度，並可獲知抗氧化活性強弱。其反應式如下：





1. 取上述溶液 0.2mL
2. 加入75% 甲醇 9.4mL
3. 加入硫氰酸銨溶液 0.2mL
4. 加入含氯化亞鐵之鹽酸溶液 0.2mL
5. 反應三分鐘，測其500nm之吸光值

圖40、硫酸氰鐵法之測定流程圖。

Fig 40. Analytic procedure for the ferric thiocyanate method.

2. 篇蓄抗氧化成分之萃取、分離及純化

2-1. 抗氧化成分之溶劑萃取

將 6 公斤的篇蓄粉末先以 10 L 之甲醇重複萃取三次、將濾液過濾並以旋轉式減壓濃縮機在低於 40°C 下濃縮至乾，將所得之粗萃取物分別以 4L 之正己烷及乙酸乙酯重複萃取三次，經分層分離及濃縮後即得到正己烷及乙酸乙酯萃取物，而所剩餘之物質即為甲醇萃取物，再以硫氰酸鐵法檢測此三種不同溶劑萃取物之抗氧化性。

2-2. 矽膠液相管柱層析 (silica gel liquid column chromatography)

篇蓄乙酸乙酯萃取物依據圖 41 所示流程進行抗氧化成分之分離與純化，首先利用充填著矽膠之玻璃管柱(6.5×90cm)進行液相管柱層析，其沖提液條件依序是正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 100：0、80：20、60：40、40：60、20：80、0：100 及乙酸乙酯：甲醇 (v/v) = 50：50、0：100 之溶液，沖提液以每瓶 500 mL 為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描波長 270nm 之吸光值對收集瓶作圖，依此圖再細分為多個區分，將各區分分別濃縮後，分別以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性。

2-3. ODS 液相管柱層析

將篇蓄具抗氧化性之區分 VI 置入充填著 Cosmosil₁₄₀ C₁₈-OPN 之 ODS 樹脂之管柱(2.5 × 50 cm)進行液相管柱層析，區分 VI 之沖提條件為去離子水:甲醇 (v/v) = 100：0、75：25、50：50、25：75、0：100 及甲醇：丙酮 (v/v) = 50：50、0：100 之溶液，沖提液以每 50 mL 為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描波長 270nm 之吸光值對收集瓶作圖，依此圖再細分為多個區分，將各區分分別濃縮後，分別以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性。

2-4. 第二次 ODS 液相管柱層析

篇蓄具抗氧化性之區分 VI-1 及 VI-2 經 HPLC 分析後，其圖形相似，因而進行第二次 ODS 液相管柱層析。將區分 VI-1 及 VI-2 混合置

入充著 Cosmosil₁₄₀ C₁₈-OPN 之 ODS 樹脂之管柱 (2.5 × 50 cm) 進行液相管柱層析，區分 VI-1 及 VI-2 之沖提條件為去離子水: 甲醇 (v/v) = 100 : 0、95 : 5、90 : 10、85 : 15、80 : 20、75 : 25 及 70 : 30 之溶液，沖提液以每 50 mL 為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描波長 270nm 之吸光值對收集瓶作圖，依此圖再細分為多個區分，將各區分分別濃縮後，以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性。

2-5. 高效液相層析 (high performance liquid chromatography, HPLC)

將上述具抗氧化性之區分 VI-3、VI-(1+2)-7 利用高效液相層析進行分析，先以分析型高效液相層析尋找最佳沖提分離條件，再以相同之沖提條件套用於製備型高效液相層析，重複純化抗氧化成分，將經高效液相層析純化之物質濃縮後，進行結構鑑定。

高效液相層析條件敘述如下：

(A) 分析型高效液相層析

管柱為日本 Nomura 化學公司之 Develosil ODS- 5 管柱 (4.6×250mm)，沖提液由 methanol 及 water 依層析需要由不同體積比組成，流速為 0.8mL/min，偵測波長為 UV270nm。

(B) 製備型高效液相層析

管柱為日本 Nomura 化學公司之 Develosil ODS- 7 管柱 (20×250mm)，沖提液由 methanol 及 water 依層析需要由不同體積比組成，流速為 5.0mL/min，偵測波長為 UV270nm。

3. 蒗蓄抗氧化成分之構造鑑定

3-1. 純化物質之薄層層析

層析板：Cellulose

展開液：20% 醋酸水溶液

呈色劑：FeCl₂ (3% in methanol)

3-2. ^1H -及 ^{13}C -核磁共振 (^1H -及 ^{13}C -NMR) 光譜測定

將純化之抗氧化成分分別溶於 methanol- d_4 中，以 VXR-300/51 型核磁共振光譜儀 (^1H -NMR 以 600MHz、 ^{13}C -NMR 以 75MHz) 測定，檢測溶劑為 CD_3OD ，光譜解析以 δ 表示化學位移 (chemical shift)，並以 TMS (tetramethylsilane) 充當比較基準點，s 表示單線峰 (singlet)；d 表示雙線峰 (doublet)；t 表示三線峰 (triplet)；q 表示四線峰 (quartet)；br 表示寬峰 (broad)；m 表示多重線峰 (multiplet)。

3-3. 質譜檢測

分子量之測定使用快速原子撞擊游離法質譜 (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometer, FAB-MS)，以硫代甘油為介質，中性的 Xenon 原子束為主要游離源，使用的質譜儀為 JMS/SX/SX 102A (JEOL) 質譜儀。

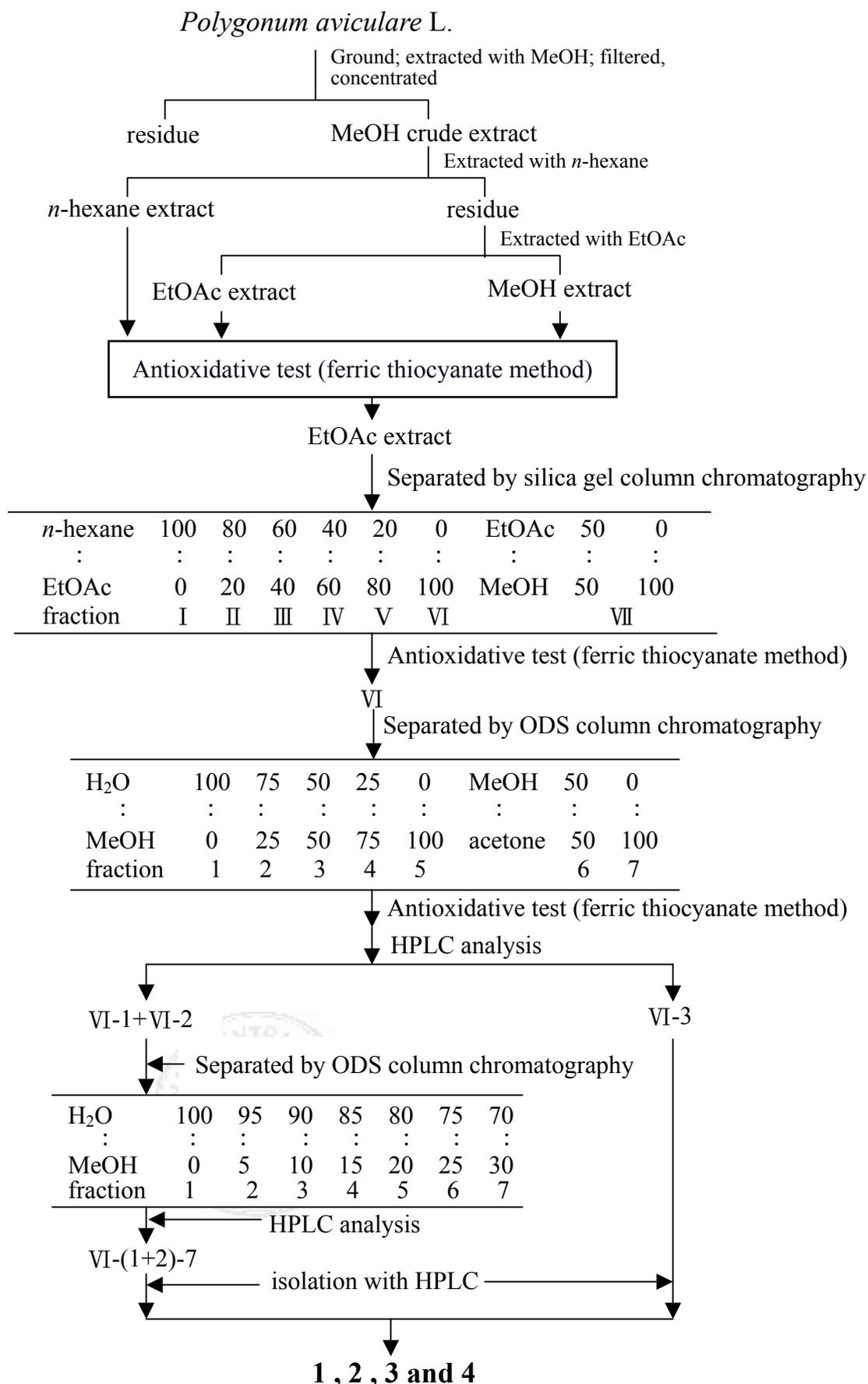


圖41、蒨蓄抗氧化成分研究之流程圖。

Fig 41. Scheme on separation and isolation of antioxidative components from *Polygonum aviculare* L.

結果與討論

一、篇蓄乙酸乙酯萃取物抗氧化成分之萃取、分離及純化

1. 抗氧化成分之溶劑萃取

本實驗所採用之萃取方法為反向萃取法，其目的為降低溶劑使用量，相對的節省成本。將 6 公斤的篇蓄粉末以 10 L 之甲醇重複萃取三次、將濾液過濾並以旋轉式減壓濃縮機在低於 40°C 下濃縮至乾，即得甲醇粗萃取物，再分別以 4L 之正己烷及乙酸乙酯對甲醇粗萃取物重複萃取三次、將萃取液濃縮至乾並秤重，即為正己烷、乙酸乙酯萃取物，而剩餘之部分濃縮後則為甲醇萃取物。三種不同溶劑萃取物之產率見表 6，總產率約為 13.06%。三種不同溶劑萃取物以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性，抗氧化檢測結果依序為 BHA > 乙酸乙酯萃取物 > 甲醇萃取物 > 正己烷萃取物 > α -生育醇 > 控制組（甲醇），結果顯示篇蓄乙酸乙酯萃取物之抗氧化性為三種不同溶劑萃取物中較強的，且其抗氧化性強於 α -tocopherol，且與 BHA 之抗氧化活性相當（圖 42），因此選取篇蓄乙酸乙酯萃取物進行 silica gel 液相管柱層析。

2. Silica gel 液相管柱層析

篇蓄乙酸乙酯萃取物首先利用充填著吸附型充填劑 silica gel 之管柱（6.5x90 cm）進行液相管柱層析，其沖提液條件依序是正己烷：乙酸乙酯（v/v）= 100：0、80：20、60：40、40：60、20：80、0：100 及乙酸乙酯：甲醇（v/v）= 50：50、0：100 之溶液，沖提液以每瓶 500 mL 為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描，在波長 270 nm 具強吸收，故選取 270nm 之吸光值對收集瓶作圖，共可細分成七個區分（圖 43）。各區分經濃縮後秤重，並計算其產率（表 7），總產率為 75.92

%，各區分以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性（圖 44），結果顯示區分 VI 之抗氧化性顯示出強於 α -tocopherol，故選取區分 VI 繼續進行抗氧化成分之分離。

表 6、篇蓄各種溶劑萃取物之產率

Table 6. Yields of the solvent extracts of *Polygonum aviculare* L.

Extract	Weight (g) ^a	Yield (%)
<i>n</i> -hexane extract	163.6	2.73
EtOAc extract	76.4	1.27
MeOH extract	543.5	9.06
Total	783.5	13.06

^a sample weight : 6.0kg

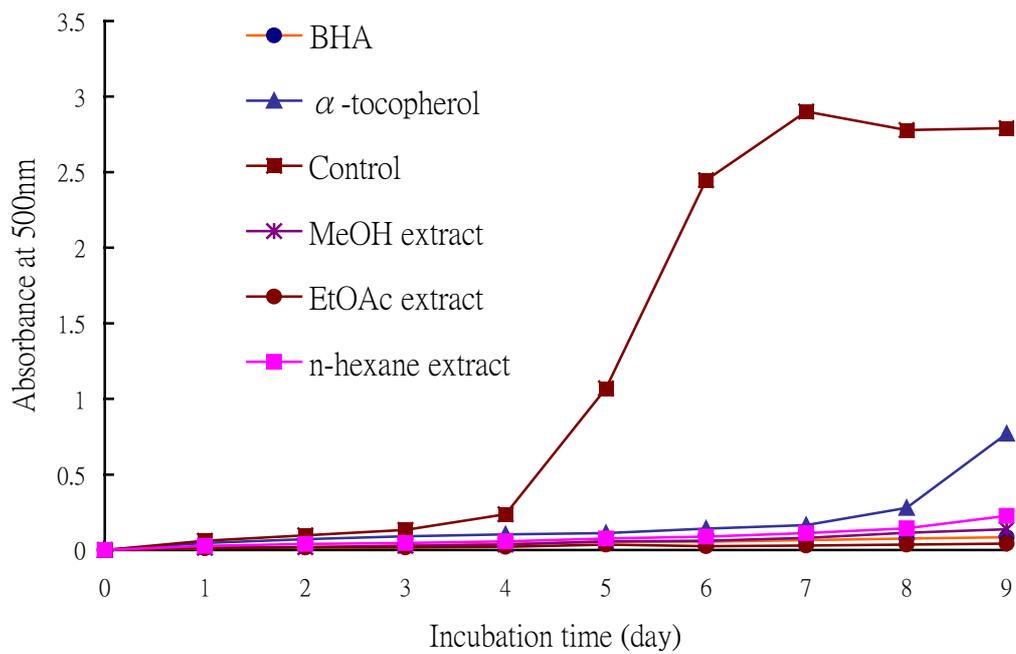


圖 42、篇蓄各種溶劑萃取出之抗氧化性。

Fig 42. Antioxidative activity of the solvent extracts from *Polygonum aviculare* L.

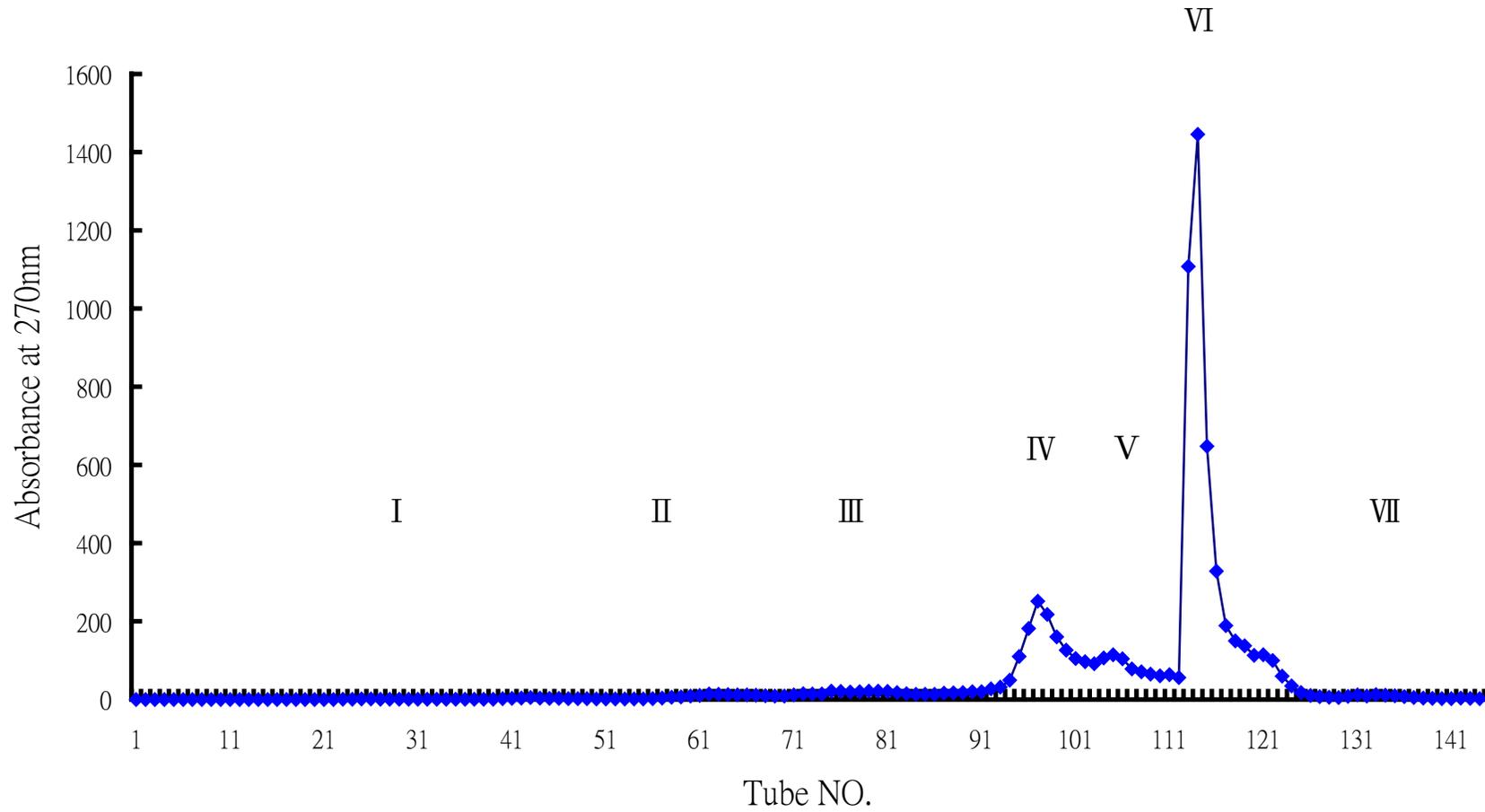


圖 43、篇蓄乙酸乙酯萃取物之矽膠液相管柱層析圖。

Fig 43. Silica gel liquid column chromatogram of elution fractions from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L.

表 7、篇蓄乙酸乙酯萃取物經矽膠液相管柱層析後各沖提區分之產率

Table 7. Yields of elution fractions separated from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L. by silica gel liquid column chromatography

Fraction	Weight (g) ^a	Yield (%)
I	3.0	3.93
II	3.6	4.71
III	5.2	6.81
IV	10.7	14.01
V	3.3	4.32
VI	30.7	40.18
VII	1.5	1.96
Total	58.0	75.92

^a weight of the ethyl acetate extract : 76.4 g

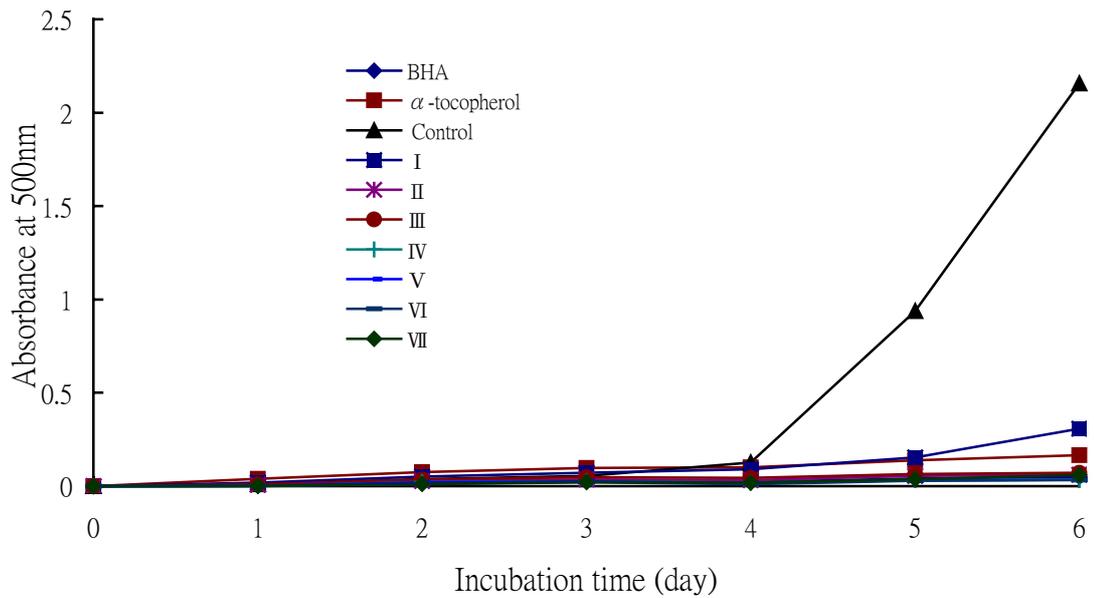


圖 44、篇蓄乙酸乙酯萃取物經矽膠液相管柱層析後各沖提區分之抗氧化性。

Fig 44. Antioxidative activity of elution fractions from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L. by silica gel liquid column chromatography.

3. 區分 VI 抗氧化成分之分離

3-1 區分 VI 之 ODS 液相管柱層析

將篇蓄區分 VI 分別濃縮後置入充填著 Cosmosil₁₄₀ C₁₈-OPN(日本 Nacalai Tesque 公司)之 ODS 樹脂液相層析管柱(2.5x50 cm)進行層析,其沖提條件依序為去離子水:甲醇(v/v)=100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100, 甲醇:丙酮 (v/v)=50:50, 0:100, 沖提液以每 50 mL 為單位收集沖提液,每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描波長 270nm 之吸光值對收集瓶作圖,將區分 VI 再細分為七個區分(圖 45),各區分分別濃縮後秤重,並測其產率(表 8),總產率為 77.85%。以硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性(圖 46),結果顯示區分 VI-1、VI-2 及 VI-3 之抗氧化性強於 α -生育醇,因此選取此三個區分繼續進行抗氧化成分之分離。

3-2 區分 VI-1 及 VI-2 之第二次 ODS 液相管柱層析

將篇蓄區分 VI-1 及 VI-2 分別濃縮乾後,以適量甲醇溶解,並經 0.45 μ m 之過濾膜過濾,區分 VI-1 及 VI-2 以分析型高效液相層析儀層析後,發現其圖形相似,故再進行第二次 ODS 液相管柱層析。將篇蓄區分 VI-1 及 VI-2 分別濃縮後置入充填著 Cosmosil₁₄₀ C₁₈-OPN(日本 Nacalai Tesque 公司)之 ODS 樹脂液相層析管柱(2.5x50 cm)進行層析,其沖提條件依序為去離子水:甲醇(v/v)=100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 沖提液以每 50 mL 為單位收集沖提液,每瓶收集液經由紫外線-可見光吸光光譜儀掃描波長 270nm 之吸光值對收集瓶作圖,將區分 VI-1+VI-2 再細分為七個區分(圖 47),各區分分別濃縮後秤重,並測其產率(表 9),總產率為 89.36%。

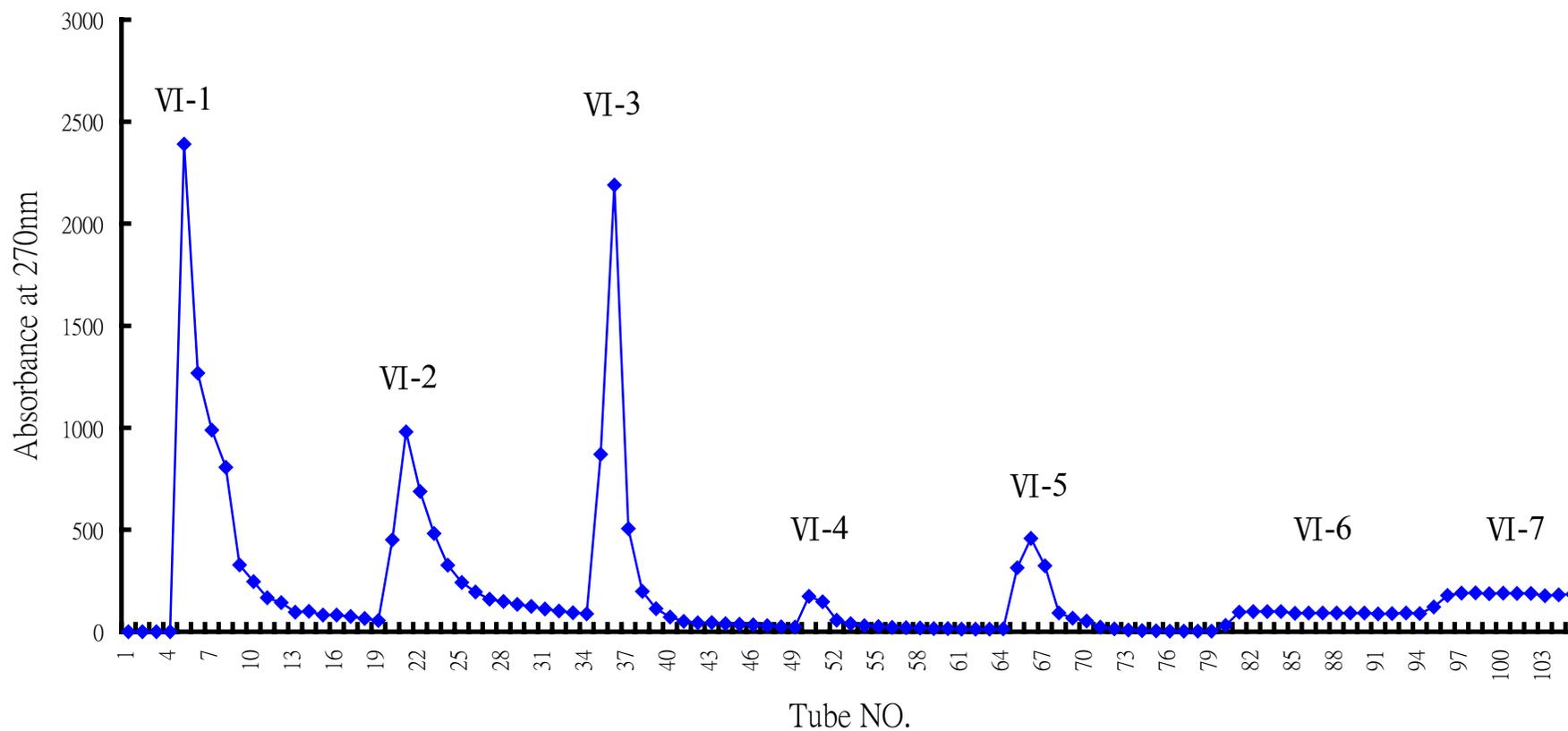


圖 45、篇蓄乙酸乙酯萃取物沖提區分VI之 ODS 液相管柱層析圖。

Fig 45. ODS liquid column chromatogram for fraction VI from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L.

表 8、篇蓄沖提區分 VI 經 ODS 液相管柱層析區分後之產率
 Table 8. Yields of elution fractions separated from fraction VI of
Polygonum aviculare L. by ODS liquid column
 chromatography

Fraction	Weight (g) ^a	Yield (%)
VI-1	5.8	18.89
VI-2	3.6	11.73
VI-3	4.7	15.31
VI-4	2.8	9.12
VI-5	3.0	9.77
VI-6	2.7	8.79
VI-7	1.3	4.23
^a . weight of the fraction VI : 30.7 g		
	30.7	77.85

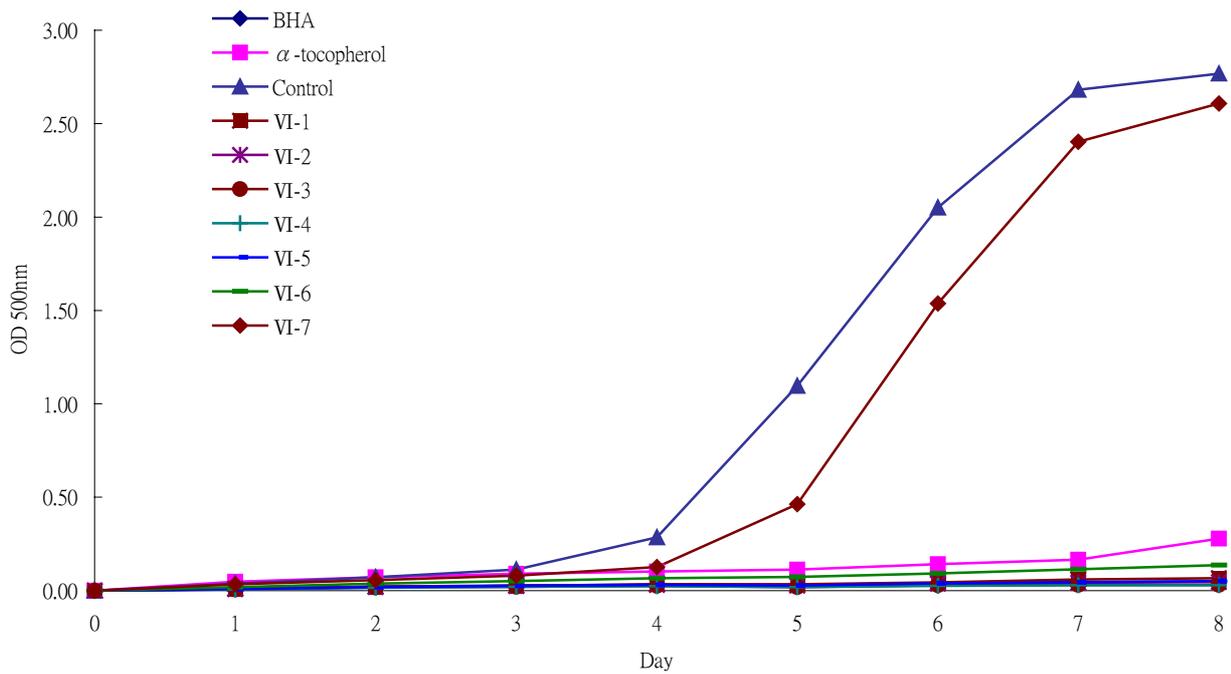


圖 46、篇蓄沖提區間VI經 ODS 液相管柱層析後各沖提區間之抗氧化性。

Fig 46. Antioxidative activity of elution fractions VI from *Polygonum aviculare* L. by ODS liquid column chromatography.

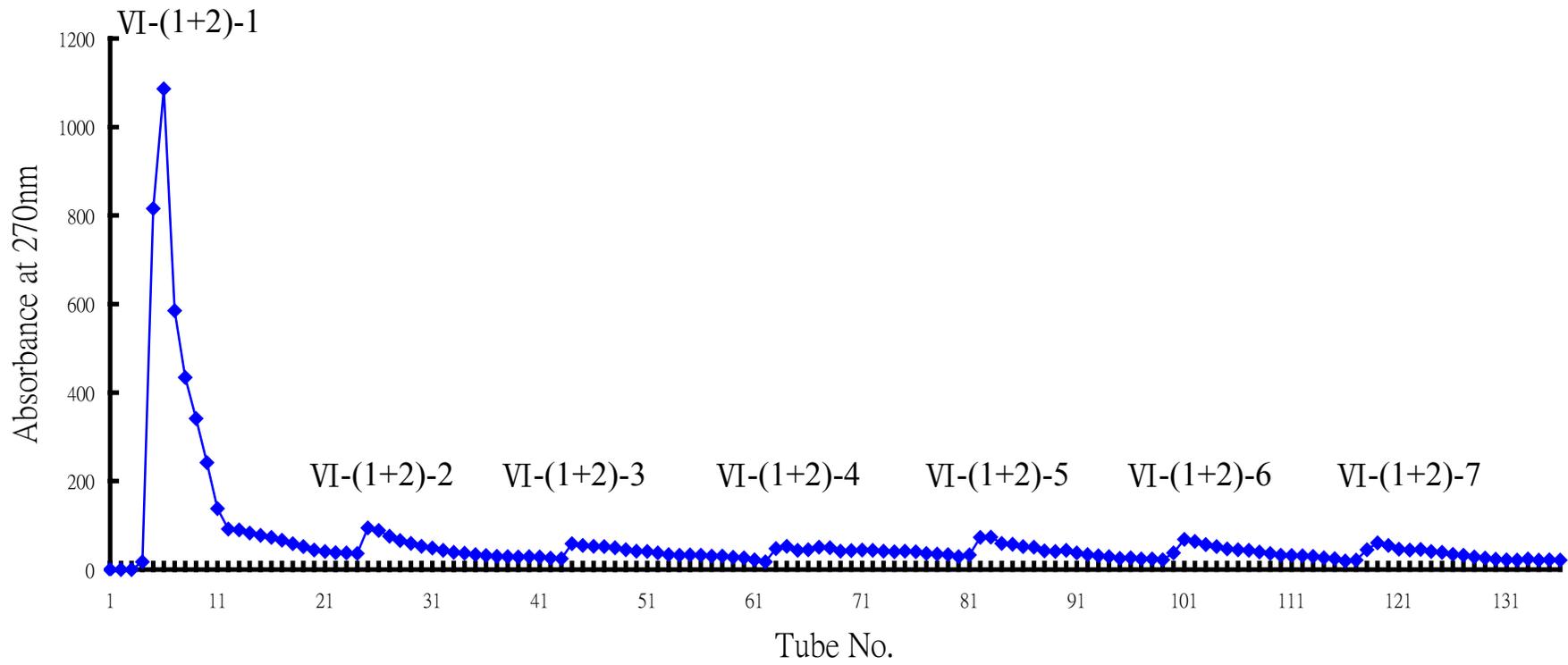


圖 47、篇蓄沖提區分VI-1+VI-2 之 ODS 液相管柱層析圖。

Fig 47. ODS liquid column chromatogram for fraction VI-1+VI-2 from *Polygonum aviculare* L.

表 9、篇蓄乙酸乙酯萃取物沖提區分 VI-1+VI-2 經 ODS 液相管柱層析後各沖提區間之產率

Table 9. Yields of elution fractions VI-1+VI-2 separated from ethyl acetate extracts of *Polygonum aviculare* L. by ODS liquid column chromatography

Fraction	Weight (g) ^a	Yield (%)
VI-(1+2)-1	1.1	11.7
VI-(1+2)-2	1.6	17.02
VI-(1+2)-3	1.3	13.83
VI-(1+2)-4	1.3	13.83
VI-(1+2)-5	1.3	13.83
VI-(1+2)-6	1.1	11.7
VI-(1+2)-7	0.7	7.45
Total	8.4	89.36

^a weight of the fraction VI-1+VI-2 : 9.4 g

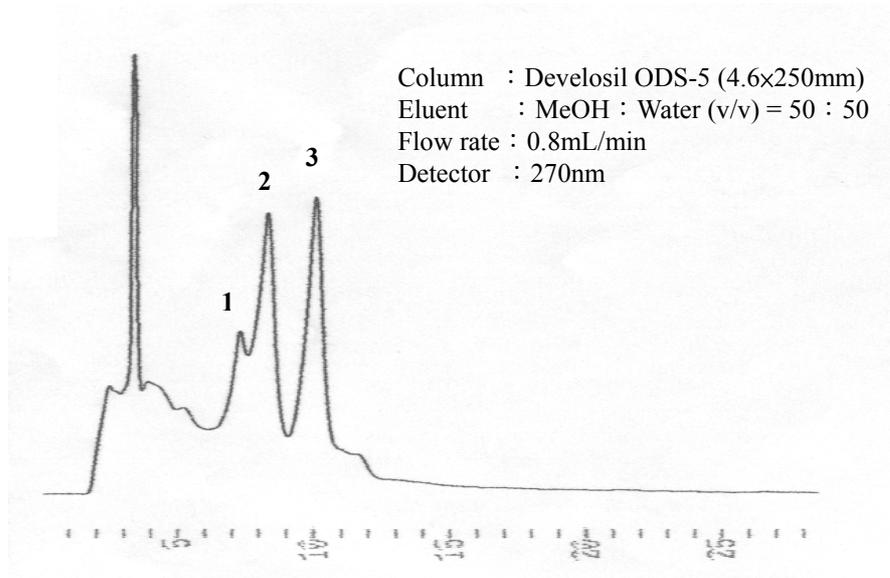
3-3 區分VI-3 之高效液相層析

將篇蓄區分VI-3 分別濃縮乾後，以適量甲醇溶解，並經 0.45 μ m 之過濾膜過濾，區分VI-3 以分析型高效液相層析儀找尋良好的分離條件為甲醇：去離子水=50：50 (v/v)，再以相同條件之製備型高效液相層析儀進行分離純化工作(圖 48)，重複收集這些波峰之沖提液，濃縮後再以相同的沖提液分離條件繼續多次的重複分離、純化步驟，濃縮後得到純化物質 1，2，3 (圖 49~51)。

3-4 區分VI-(1+2)-1~VI-(1+2)-7 之高效液相層析

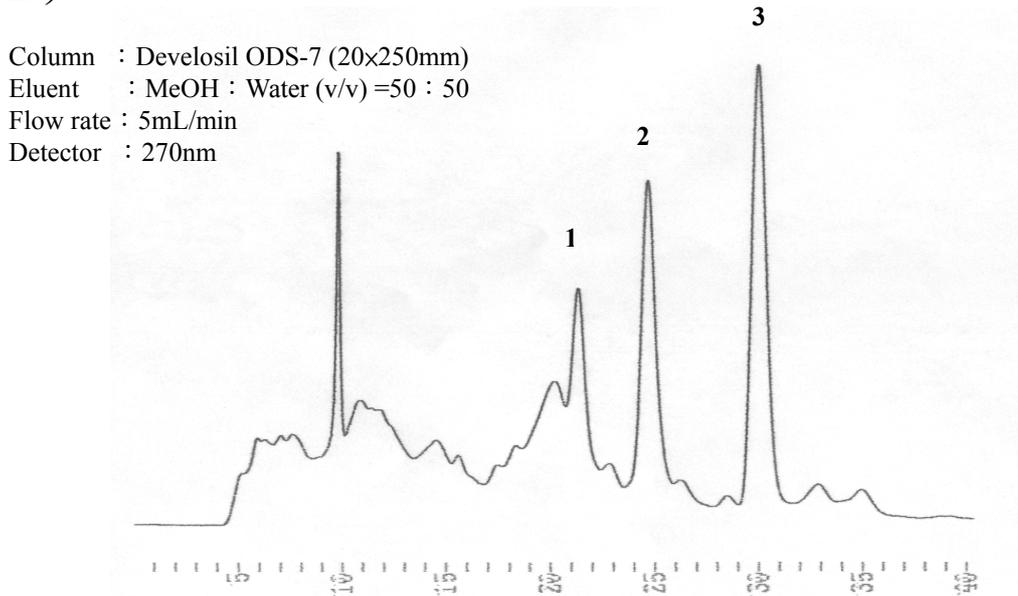
將篇蓄區分VI-(1+2)-1~VI-(1+2)-7 分別濃縮乾後，以適量甲醇溶解，並經 0.45 μ m 之過濾膜過濾，區分VI-(1+2)-1~VI-(1+2)-7 以分析型高效液相層析儀找尋良好的分離條件為甲醇：去離子水=50：50 (v/v)，並針對雜質較少的區間VI-(1+2)-7 再以相同條件之製備型高效液相層析儀進行分離純化工作 (圖 52)，重複收集這些波峰之沖提液，濃縮後再以相同的沖提液分離條件繼續多次的重複分離、純化步驟，濃縮後得到純化物質 4 (圖 53)。

(A)



Retention time (min)

(B)

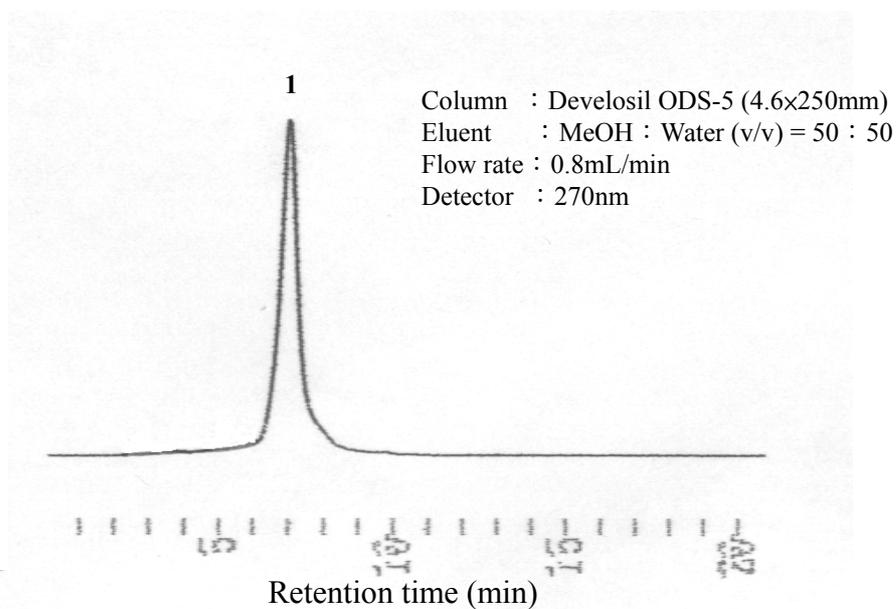


Retention time (min)

圖 48、篇蓄乙酸乙酯萃取物沖提區分VI-3 之高效液相層析圖 (A)分析型 (B)製備型。

Fig 48. HPLC chromatograms of fraction VI-3 separated from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L.(A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

(A)



(B)

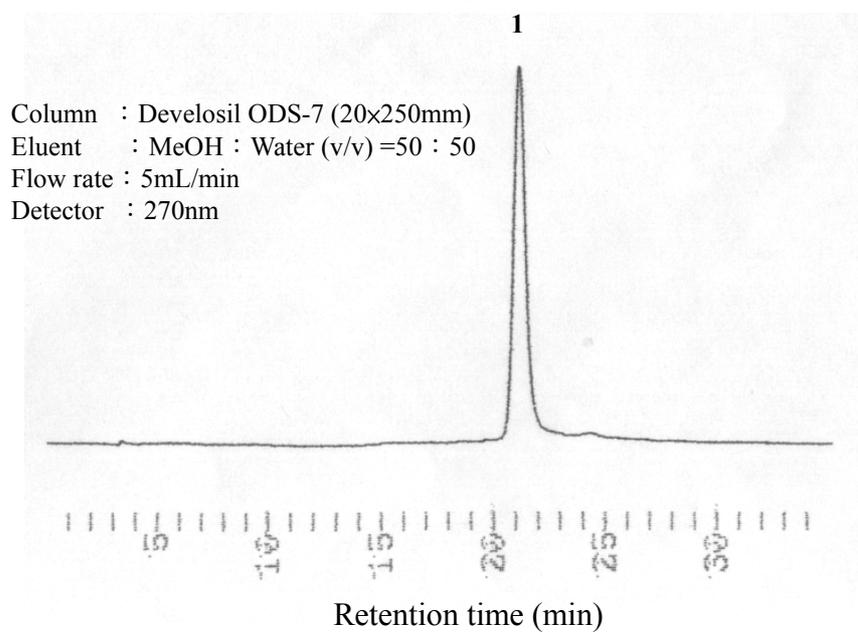


圖 49、篇蓄乙酸乙酯萃取物純化物質 **1** 之高效液相層析圖 (A)分析型 (B)製備型。

Fig 49. HPLC chromatograms of the isolated component **1** from *Polygonum aviculare* L. (A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

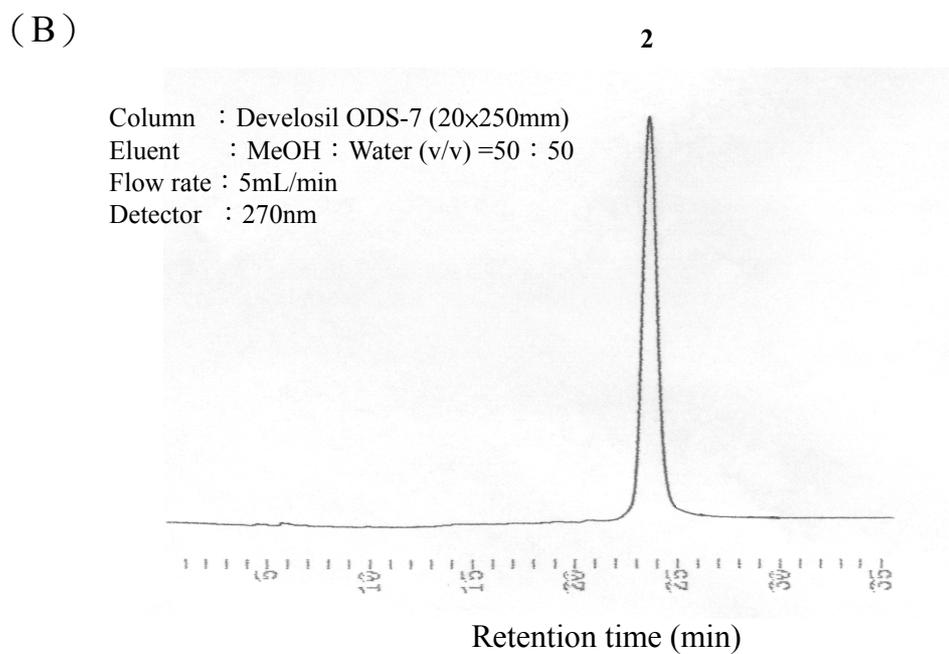
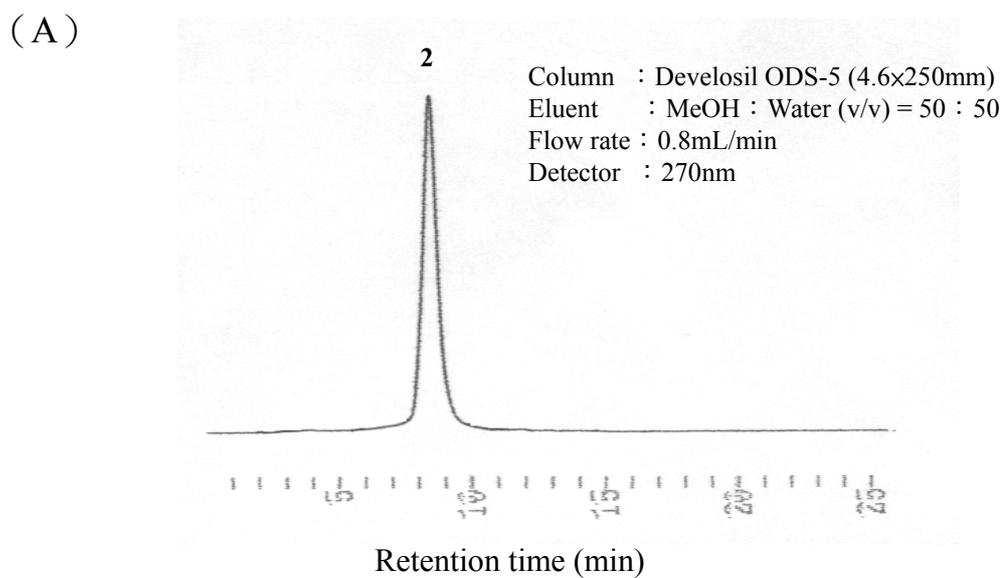


圖 50、篇蓄乙酸乙酯萃取物純化物質 **2** 之高效液相層析圖 (A)分析型 (B)製備型。

Fig 50. HPLC chromatograms of the isolated component **2** from *Polygonum aviculare* L. (A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

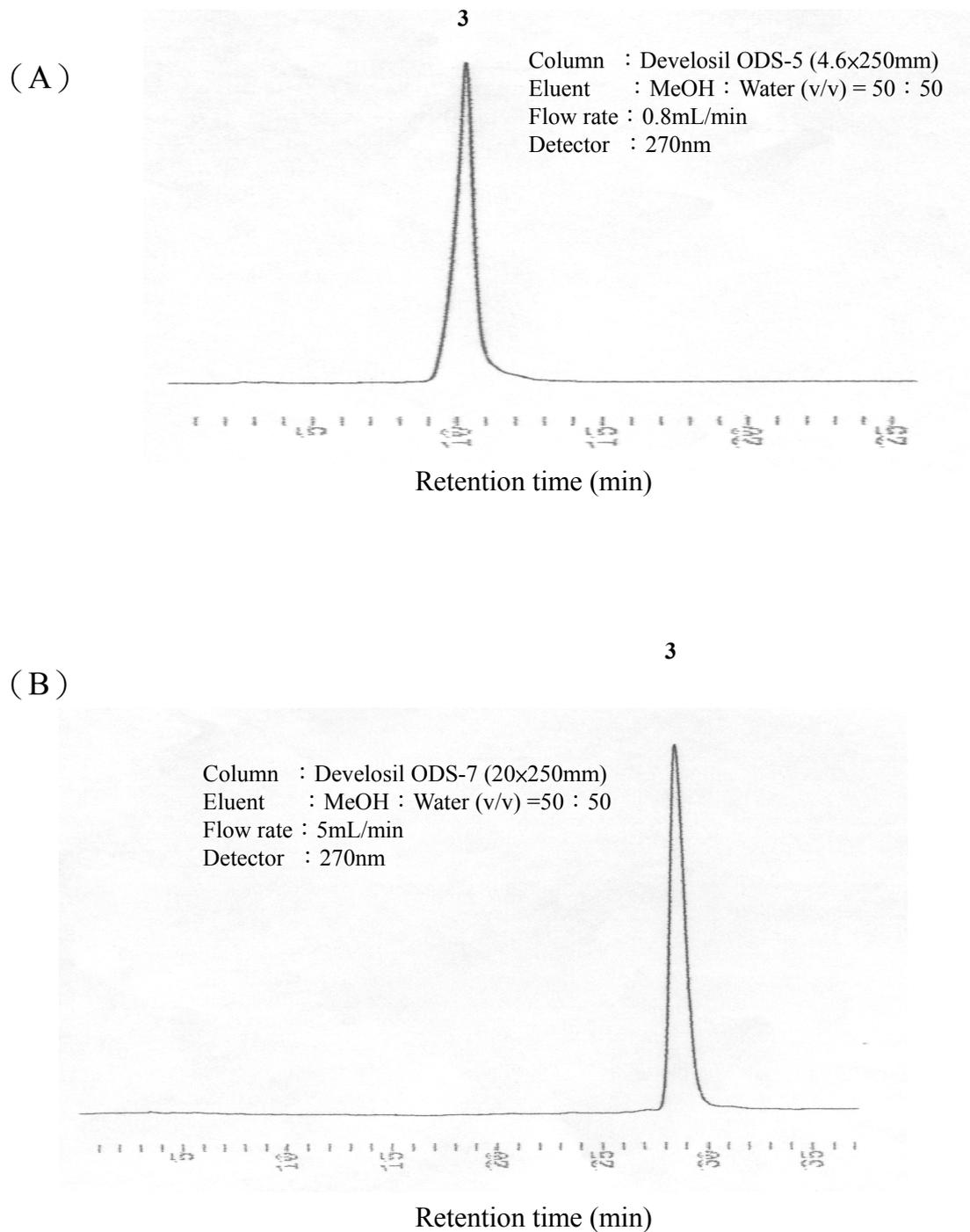


圖 51、篇蓄乙酸乙酯萃取物純化物質 **3** 之高效液相層析圖 (A)分析型
(B)製備型。

Fig 51. HPLC chromatograms of the isolated component **3** from *Polygonum aviculare* L. (A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

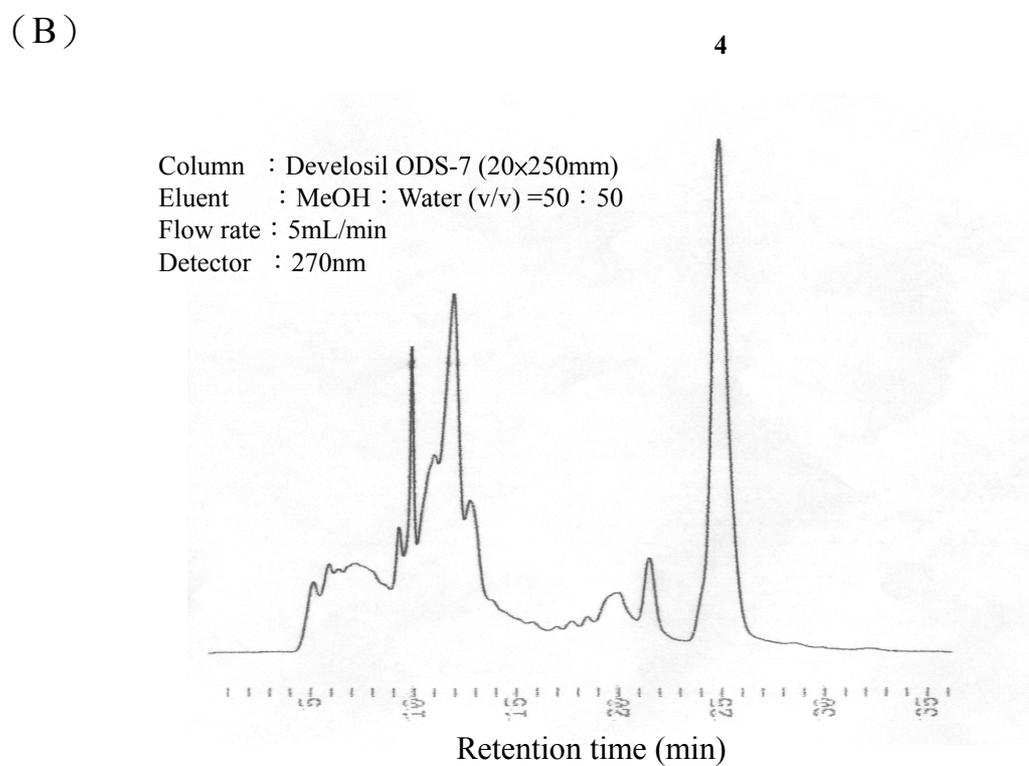
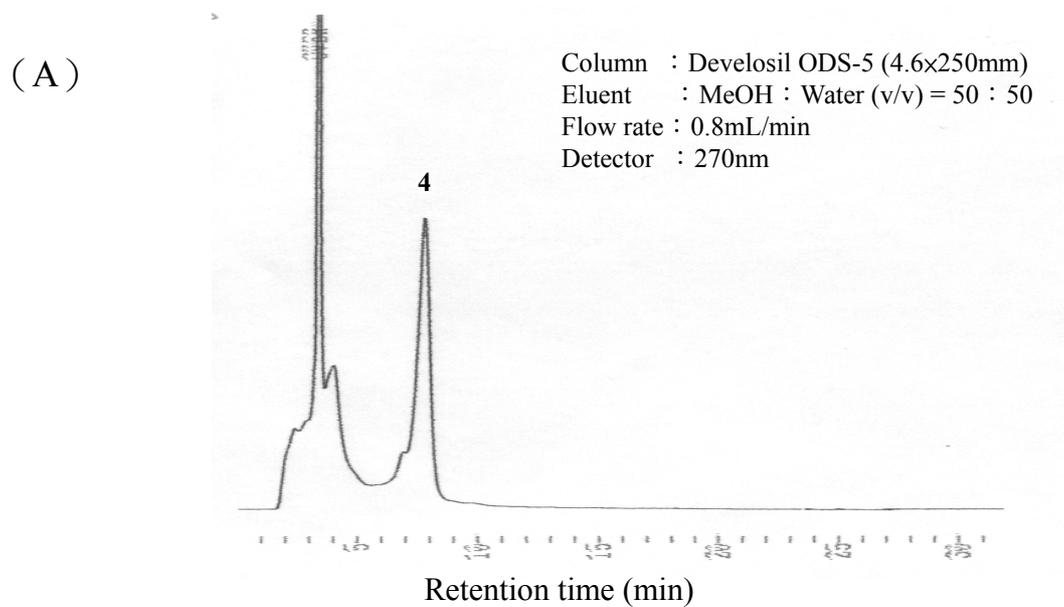
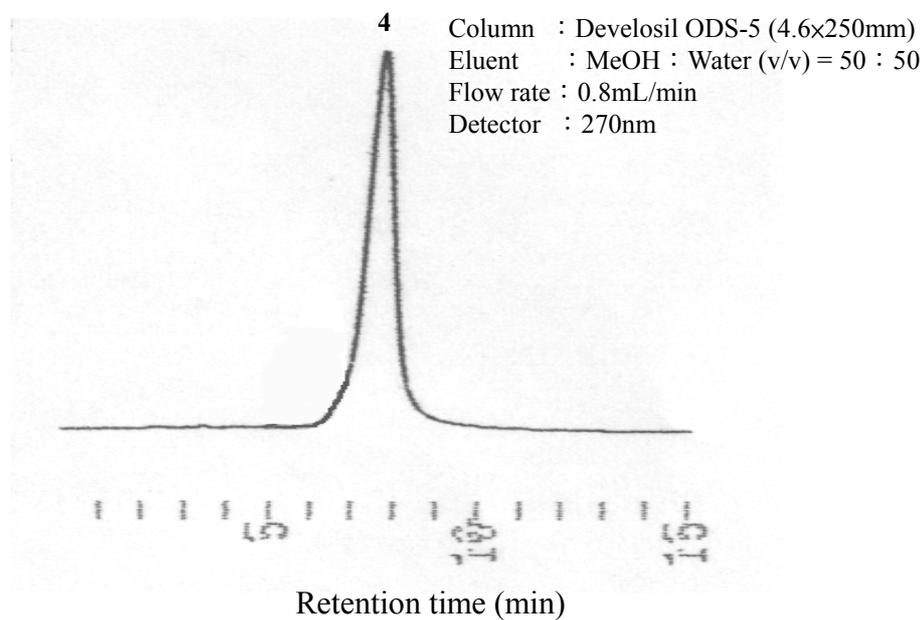


圖 52、蒨蓄乙酸乙酯萃取物沖提區分VI-(1+2)-7 之高效液相層析圖
 (A)分析型 (B)製備型。

Fig 52. HPLC chromatograms of fraction VI-(1+2)-7 separated from ethyl acetate extract of *Polygonum aviculare* L. (A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

(A)



(B)

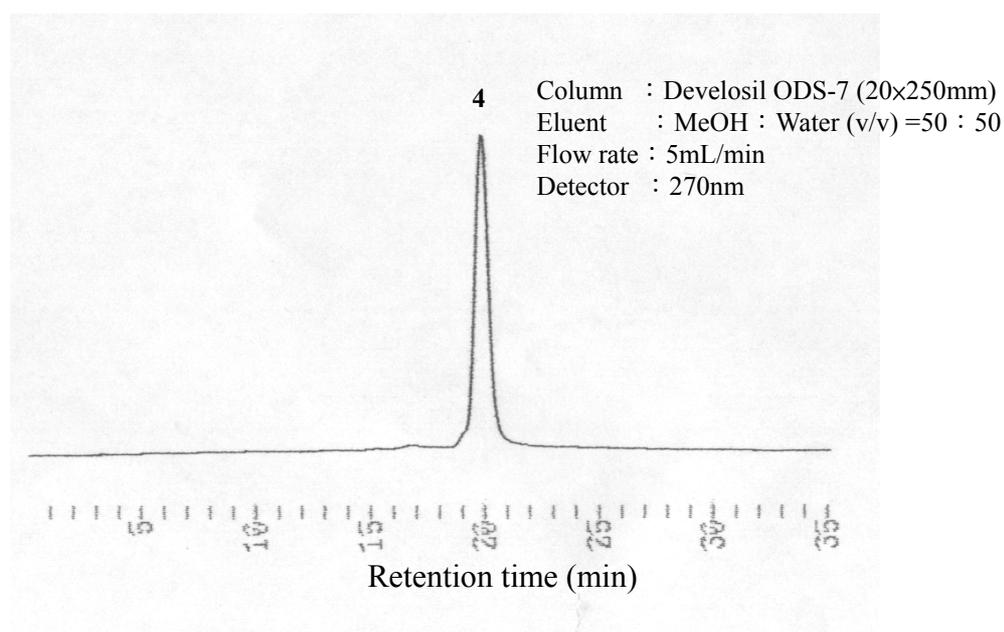


圖 53、篇蓄乙酸乙酯萃取物純化物質 4 之高效液相層析圖 (A)分析型 (B)製備型。

Fig 53. HPLC chromatograms of the isolated component 4 from *Polygonum aviculare* L. (A) analytical HPLC chromatogram (B) preparative HPLC chromatogram.

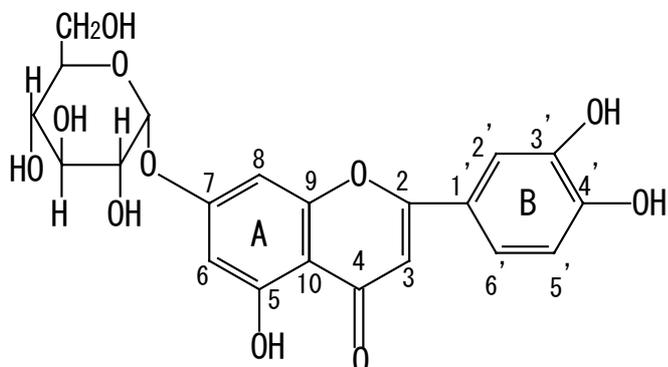
二、篇蓄純化物質之結構鑑定及抗氧化力測定

1. 純化物質 1 之結構鑑定

純化物質 1 是白色粉末，Cellulose TLC (展開劑 20% 醋酸水溶液，圖 54) R_f 0.25，UV λ max (MeOH) nm 255.6, 267.3 (sh), 348.5 與 luteolin 醣 類似 (圖 55, Harborne et al. 1975)。FAB-MS (m/z) 亦顯示分子離子波訊 449 [M+H]⁺，斷裂碎片離子波訊 287 [(M+H-glucosyl)⁺, (luteolin+H)⁺] (圖 56)，推測為 luteolin 單葡萄糖。 ¹H-NMR (600MHz, CD₃OD，圖 57)， δ 6.95 (1H, d, $J=8.7\text{Hz}$), 7.40 (1H, s), 7.42 (1H, d, $J=8.7\text{Hz}$) 顯示出 luteolin B 環上 C₆'-H, C₂'-H 及 C₅'-H 的質子波訊； δ 6.49 (1H, d, $J=2.1\text{Hz}$), 6.60 (1H, s), 6.80 (1H, d, $J=2.1\text{Hz}$)，則為 luteolin C₆-H, C₃-H, C₈-H 的質子波訊；在由糖基部分 δ 5.06 (1H, d, $J=7.2\text{Hz}$), 3.39~3.98 (glucosyl 5 protons)，比對相關文獻 (Harborne and Mabry 1982)，純化物質 1 的結構鑑定為 luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranoside。

Component 1

Luteolin-7- *O*- β -D-glucopyranoside



UV λ max (MeOH) nm : 255.6, 267.3 (sh), 348.5

Formula : $C_{21}H_{20}O_{11}$

FAB-MS (m/z) : 449 [M+H]⁺, 287 [M+H-glucosyl]⁺

¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) : δ

7.42 (1H, d, $J=8.7$ Hz, C_{5'}-H),

7.40 (1H, s, C_{2'}-H),

6.95 (1H, d, $J=8.7$ Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H),

6.80 (1H, d, $J=2.1$ Hz, C₈-H),

6.60 (1H, s, C₃-H),

6.49 (1H, d, $J=2.1$ Hz, C₆-H),

5.06 (1H, d, $J=7.2$ Hz, glucosyl C_{1''}-H),

3.39~3.98 (glucosyl 5 protons)

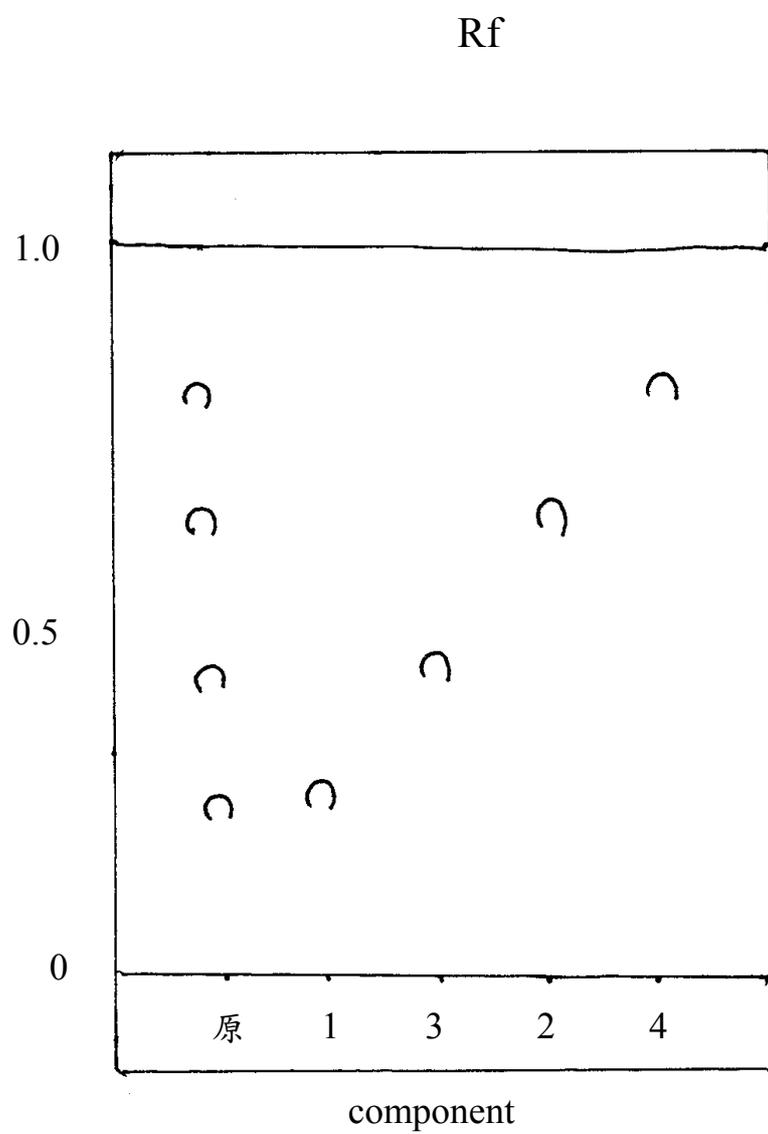


圖 54、篇蓄純化物質之薄層層析圖。

Fig 54. TLC chromatogram of the isolated components from *Polygonum aviculare* L.

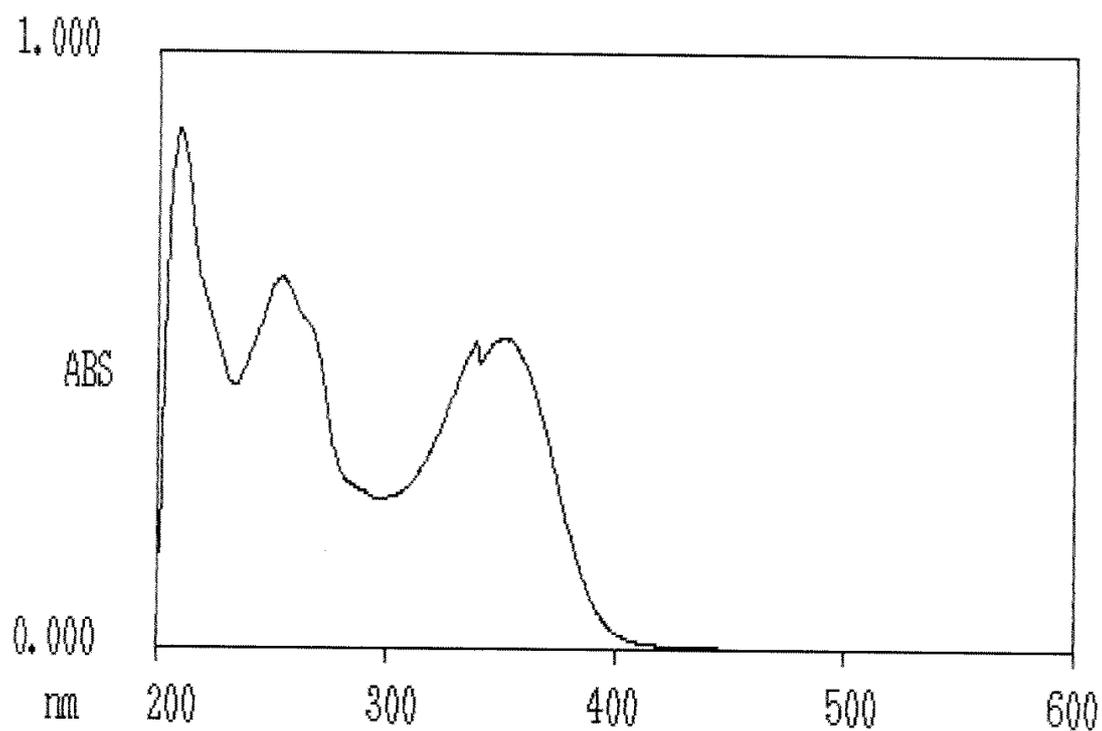


圖 55、篇蓄純化物質 **1** 之紫外光-可見光光譜圖。

Fig 55. UV-visible spectrum for the isolated component **1** from *Polygonum aviculare* L.

6-3-1-A
105901 2 (0.048) Sm (SG, 2x0.75); Sb (2,1.00); Cm (2:96)

Scan FB+
1.46e6

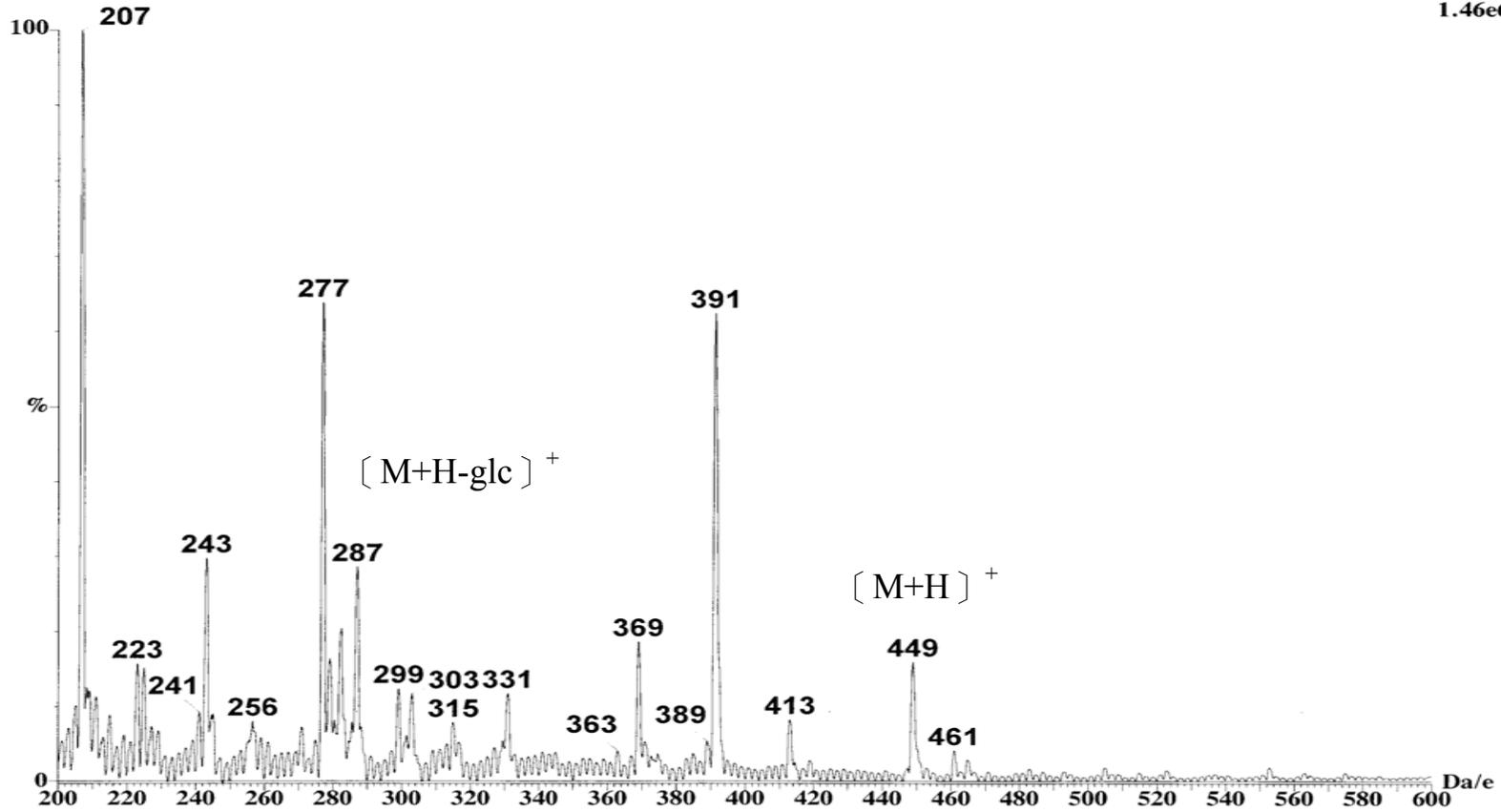


圖 56、蒨蓄純化物質 1 之質譜圖。

Fig 56. MS spectrum for the isolated component 1 from *Polygonum aviculare* L.

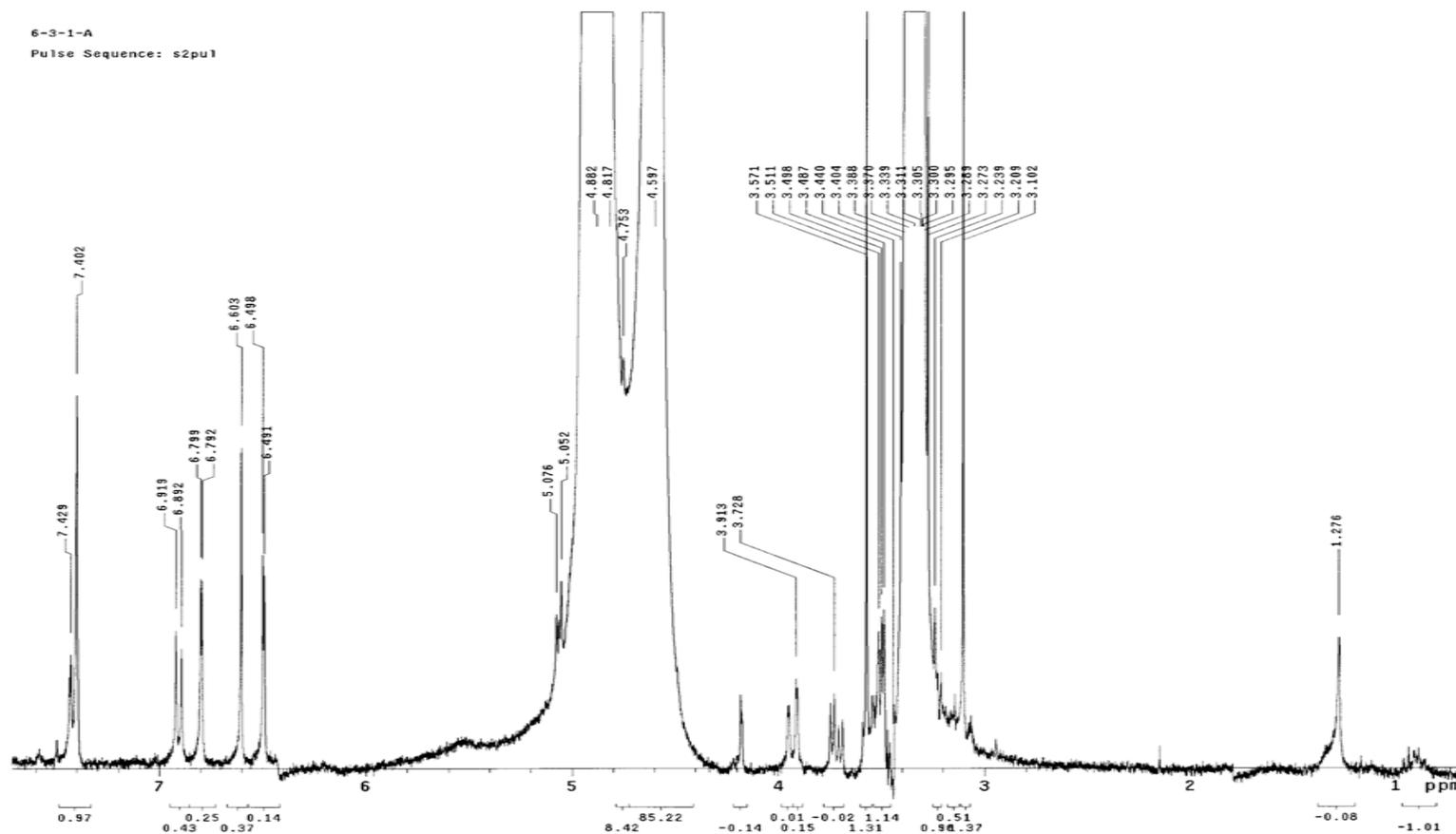


圖 57、篇蓄純化物質 **1** 之 ^1H -核磁共振光譜圖。

Fig 57. ^1H -NMR spectrum for the isolated component **1** from *Polygonum aviculare* L.

6-3-1-A
Pulse Sequence: s2pul

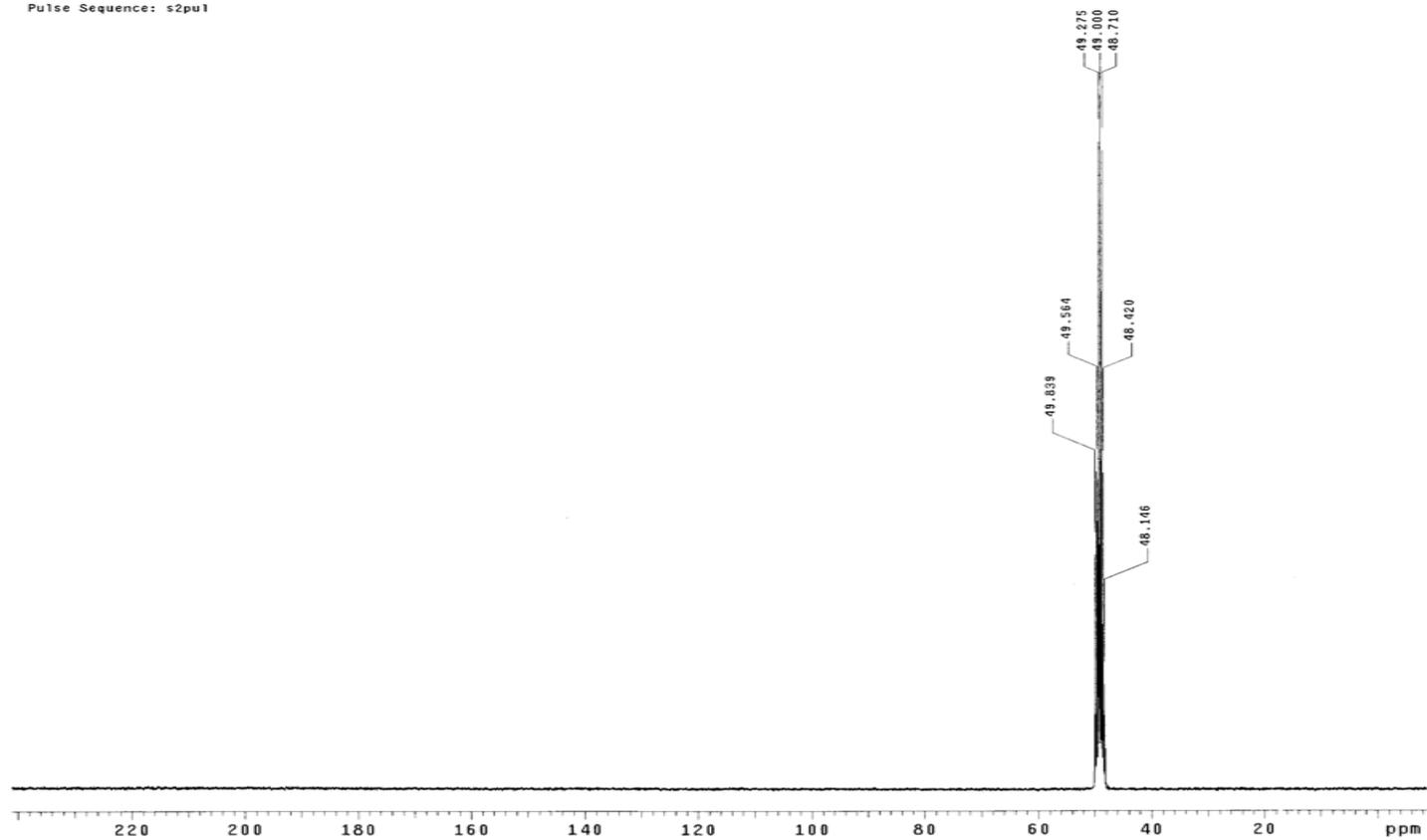


圖 58、篇蓄純化物質 1 之 ^{13}C -核磁共振光譜圖。

Fig 58. ^{13}C -NMR spectrum for the isolated component 1 from *Polygonum aviculare* L.

2. 純化物質 2 之結構鑑定

純化物質 2 呈黃色粉末，Cellulose TLC 片上（展開液 20% 醋酸水溶液） R_f 0.46（圖 54），且經 3% $FeCl_2$ 甲醇溶液噴灑呈現藍色，顯現 C-4 酮基間位具游離 OH（Harborne, 1975），UV 光譜（圖 59）， 1H -NMR 光譜（圖 61）均與純化物質 3 十分類似；顯現差異性的為 FAB-MS (m/z)（圖 60）分子離子波訊 595 $[M+H]^+$ ， 1H -NMR 光譜， ^{13}C -NMR 光譜（圖 62）均含二個 glucosyl 基團，綜上所述（Harborne, 1993；Harborne and Mabry, 1982），純化物質 2 的結構鑑定為 apigenin 7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside。

Component 2 :

Apigenin 7,4'-O- β -D-diglucopyranoside

UV λ max(MeOH) nm : 255.8, 264.6, 299.8, 358.8 (sh)

Formula : C₂₇H₃₀O₁₅

FAB-MS (m/z) : 595 [M+H]⁺

¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) : δ

7.83 (1H, d, $J=2.1$ Hz, C₈-H),

7.76 (1H, d, $J=2.1$ Hz, C₆-H),

7.57 (1H, d, $J=8.4$ Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H),

6.86 (1H, d, $J=8.4$ Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H),

5.23 (1H, d, $J=6.9$ Hz, glucosyl C_{1''}-H),

5.15 (1H, d, $J=7.8$ Hz, glucosyl C_{1'''}-H),

3.74~3.85 (10H, m, 2 \times glucosyl 5H)

¹³C-NMR (75MHz, CD₃OD) : δ

179.44 (C-4), 166.08 (C-2), 162.92 (C-7), 158.77 (C-4'),

158.41 (C-5), 158.42 (C-9), 139.57 (C-2', C-6'), 122.88 (C-1),

117.65 (C-3', C-5'), 105.65 (C-10), 105.33 (C-3), 104.24 (C-6),

101.90 (C-1'), 99.93 (C-8), 94.74 (C-1'''),

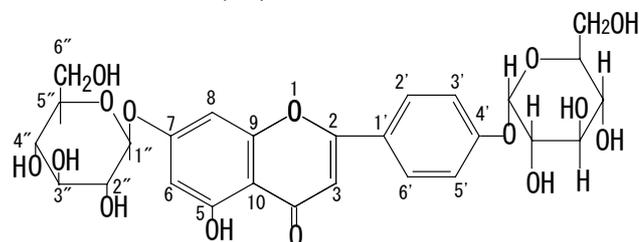
78.06, 78.34 (C-5'', C-5'''),

75.70, 77.13 (C-3'', C-3'''),

73.15, 75.06 (C-2'', C-2'''),

69.98, 71.18 (C-4'', C-4'''),

61.91, 62.52 (C-6'', C-6''')



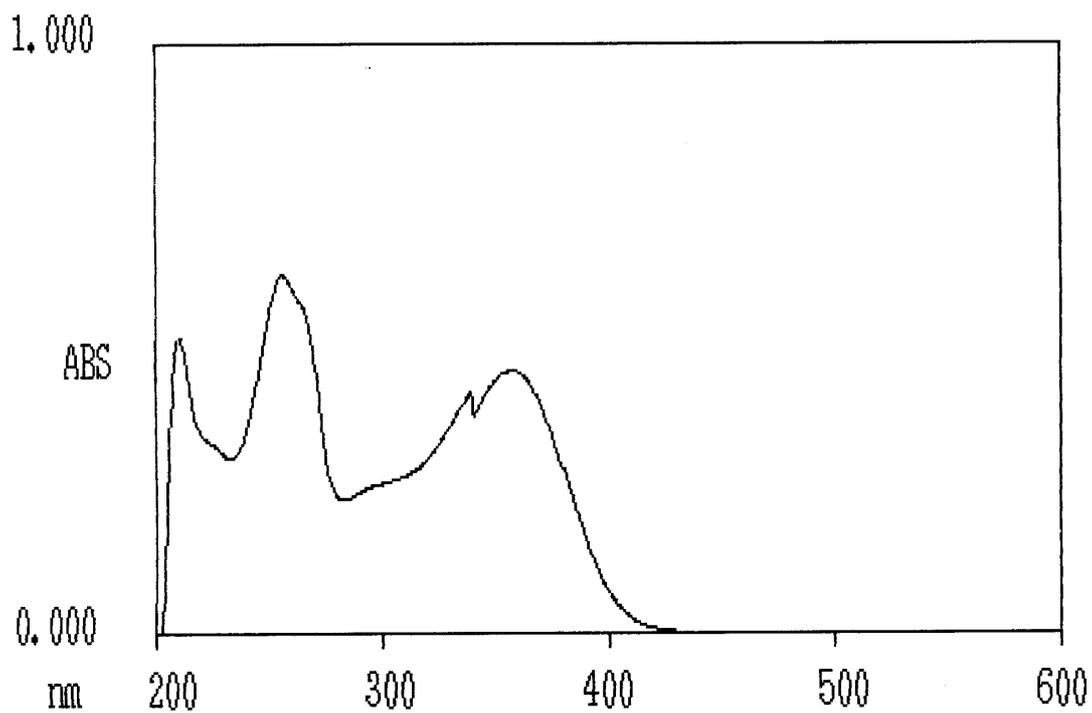


圖 59、蒨蓄純化物質 **2** 之紫外光-可見光光譜圖。

Fig 59. UV-visible spectrum for the isolated component **2** from *Polygonum aviculare* L.

6-3-2-B
102401 31 (0.294) Cm (11:118)

Scan FB+
2.89e6

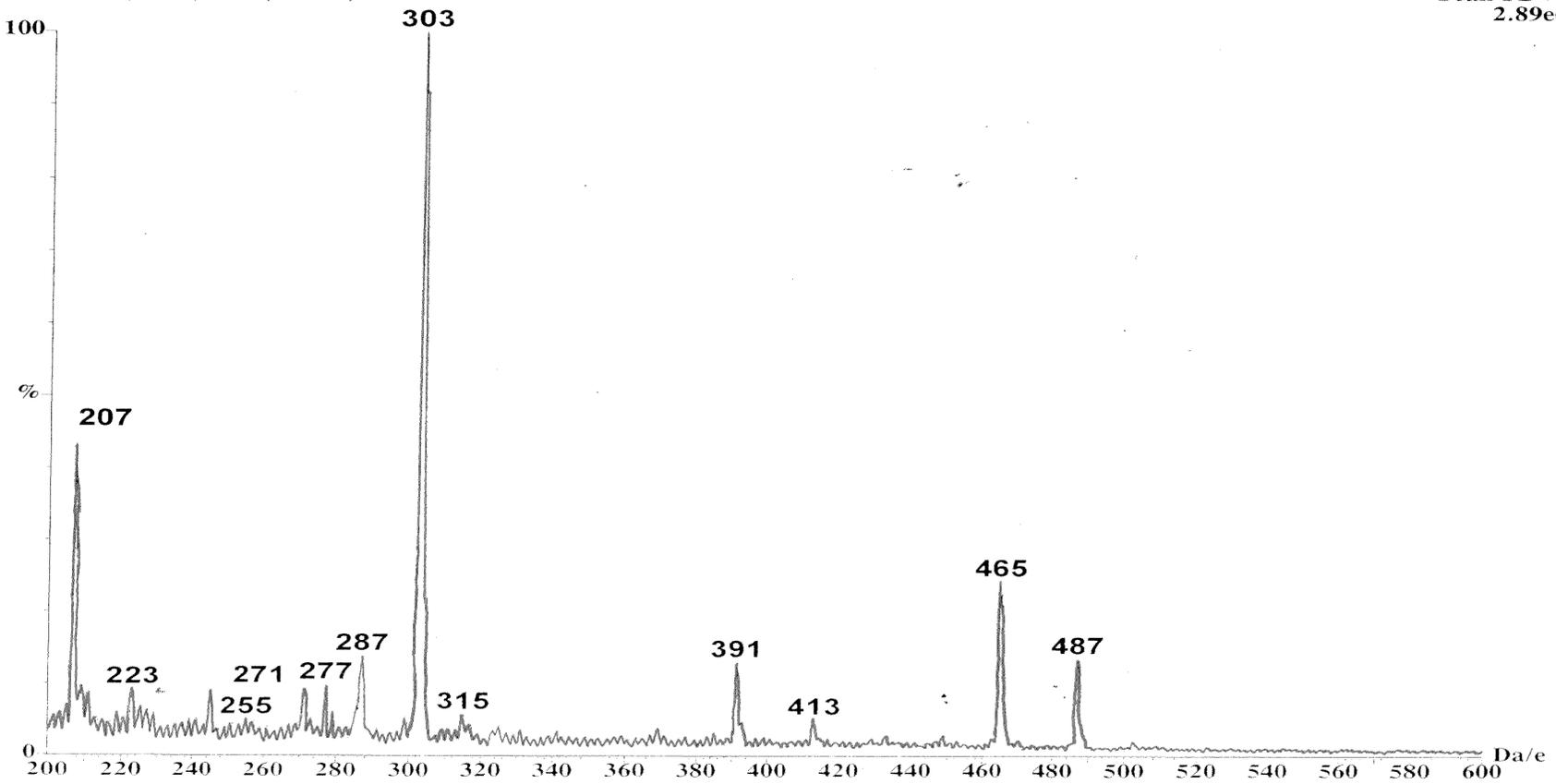


圖 60、篇蓄純化物質 2 之質譜圖。

Fig 60 .MS spectrum for the isolated component 2 from *Polygonum aviculare* L.

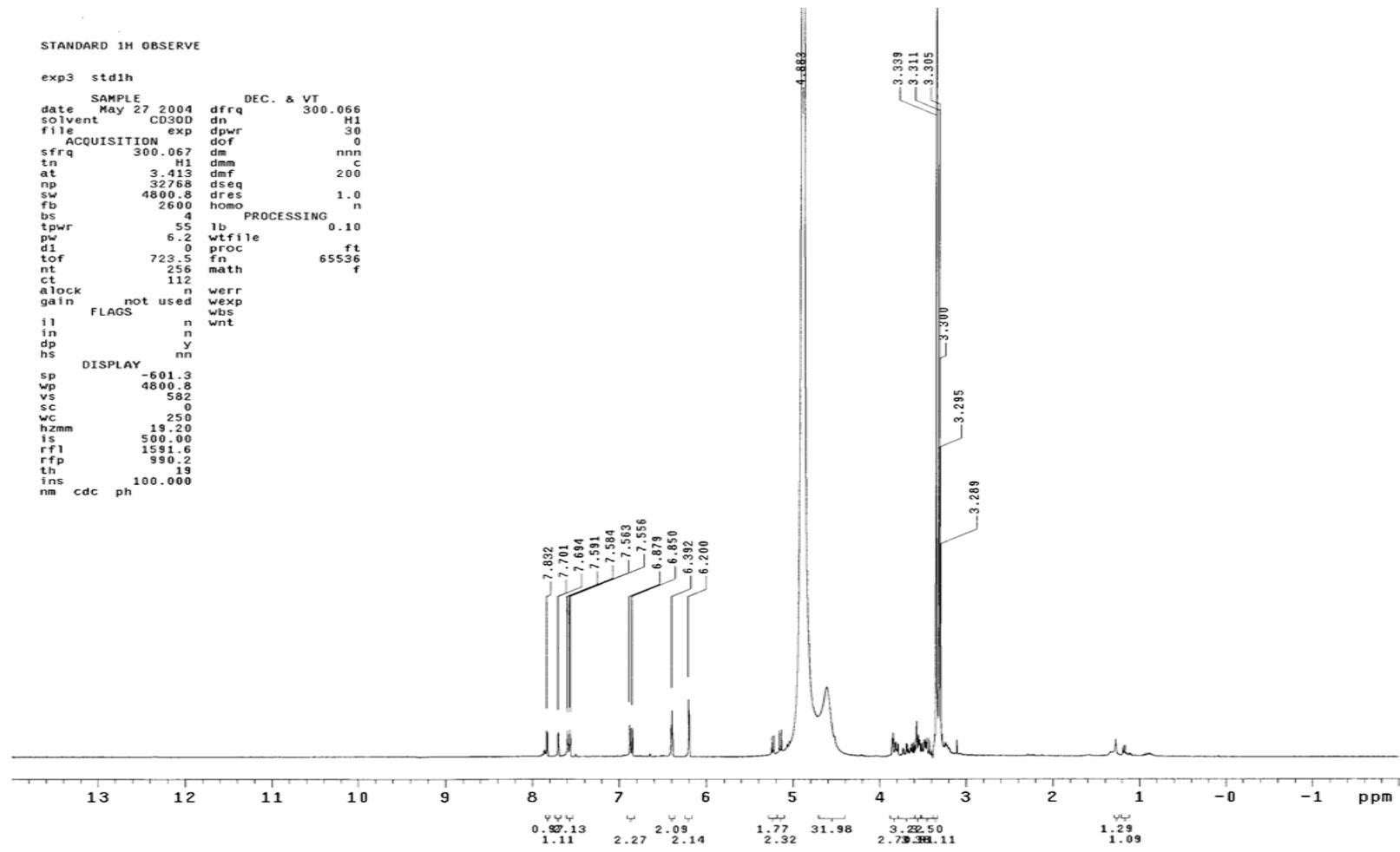


圖 61、篇蓄純化物質 2 之 ^1H -核磁共振光譜圖。

Fig 61. ^1H -NMR spectrum for the isolated component 2 from *Polygonum aviculare* L.

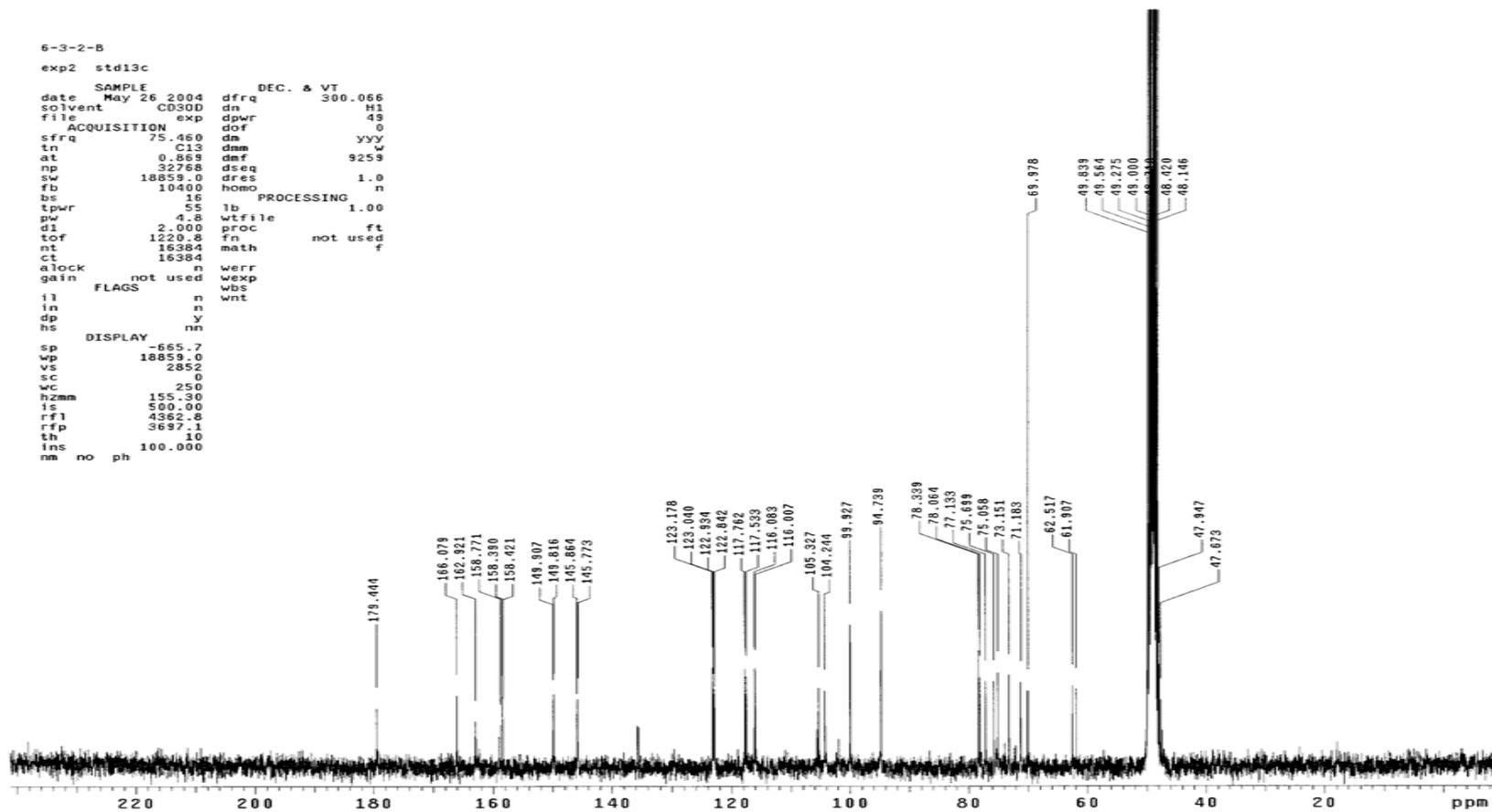


圖 62、篇蓄純化物質 2 之 ^{13}C -核磁共振光譜圖。

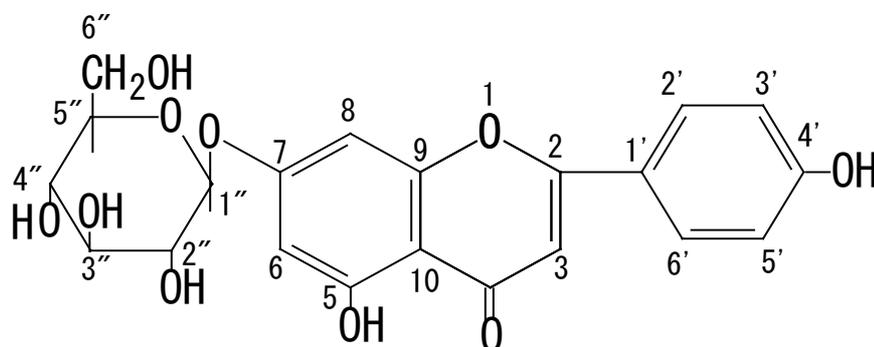
Fig 62. ^{13}C -NMR spectrum for the isolated component 2 from *Polygonum aviculare* L.

3. 純化物質 3 之結構鑑定

純化物質 3 呈黃色粉末，Cellulose TLC 片上（展開液 20% 醋酸水溶液） R_f 0.78（圖 54），UV 光譜（圖 63）顯現的 flavone 結構 266.2nm 為 A 環吸收帶，323.5, 344.1 (sh) 為 B 環吸收帶，查詢文獻得知與 apigenin 相當接近（Harborne et al., 1975）。FAB-MS (m/z)（圖 64）顯示分子離子波訊 455 $[M+Na]^+$, 433 $[M+H]^+$ ，斷裂碎片離子波訊 395 $[M-H-2H_2O]^+$ ，推測分子式 $C_{21}H_{20}O_{10}$ ，亦是非糖配基（aglycone）apigenin 加上一個六碳糖。 1H -NMR 光譜（600MHz, CD_3OD , 圖 65） δ 6.93 (2H, d, $J=8.7Hz$)，7.88 (2H, d, $J=8.7Hz$) 分別為 1,4 二取代 B 環上 phenyl $C_{3'}-H$, $C_{5'}-H$ ，與 phenyl $C_{2'}-H$, $C_{6'}-H$ 二組對稱質子波訊， δ 6.49 (1H, d, $J=2.1Hz$)，6.81 (1H, d, $J=2.1Hz$) 分別為 A 環上 1, 2, 3, 5 四取代的 phenyl C_6-H , C_8-H 處於 meta 位置的質子波訊， δ 5.15 (1H, d, $J=7.4 Hz$) 為 β -form glucosyl $C_{1''}-H$ 的質子波訊， δ 3.40~3.85 則為 glucosyl 5 個質子波訊， ^{13}C -NMR (75MHz, CD_3OD , 圖 66) 的碳原子波訊亦支持 1H -NMR 光譜的推論，比對文獻（Harborne, 1993; Harborne and Mabry, 1982）鑑定純化物質 3 為 apigetrin (apigenin-7- O - β -D-glucopyranoside)。

Component 3 :

Apigetrin (Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside)



UV λ max (MeOH) nm : 266.2, 323.5, 344.1 (sh)

Formula : $C_{21}H_{20}O_{10}$

FAB-MS(m/z) : 455 [M+Na]⁺, 433 [M+H]⁺,
395 [M-H-2H₂O]⁺

¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) : δ

7.88(2H, d, $J=8.7$ Hz, C_{2''}-H, C_{6'}-H),

6.93(2H, d, $J=8.7$ Hz, C_{3''}-H, C_{5'}-H),

6.81(1H, d, $J=2.1$ Hz, C₈-H),

6.65(1H, s, C₃-H),

6.49(1H, d, $J=2.1$ Hz, C₆-H),

5.15(1H, d, $J=7.2$ Hz, β -form glucosyl C_{1''}-H),

3.40~3.75(5H, m, glucosyl 5H)

¹³C-NMR(75MHz, CD₃OD) : δ

184.07 (C-4), 166.78 (C-2), 164.78 (C-7), 163.43 (C-4'),

162.88 (C-5'), 158.96 (C-9), 129.62 (C-2', C-6'), 123.03 (C-1'),

117.66 (C-3', C-5'), 107.31 (C-10), 104.09 (C-3), 101.61 (C-1''),

101.18 (C-6), 96.05 (C-8), 78.38 (C-5''), 77.85 (C-3''),

74.72 (C-2''), 71.28 (C-4''), 62.46 (C-6'')

WAVELENGTH SCAN/1

04/16/04 02:27

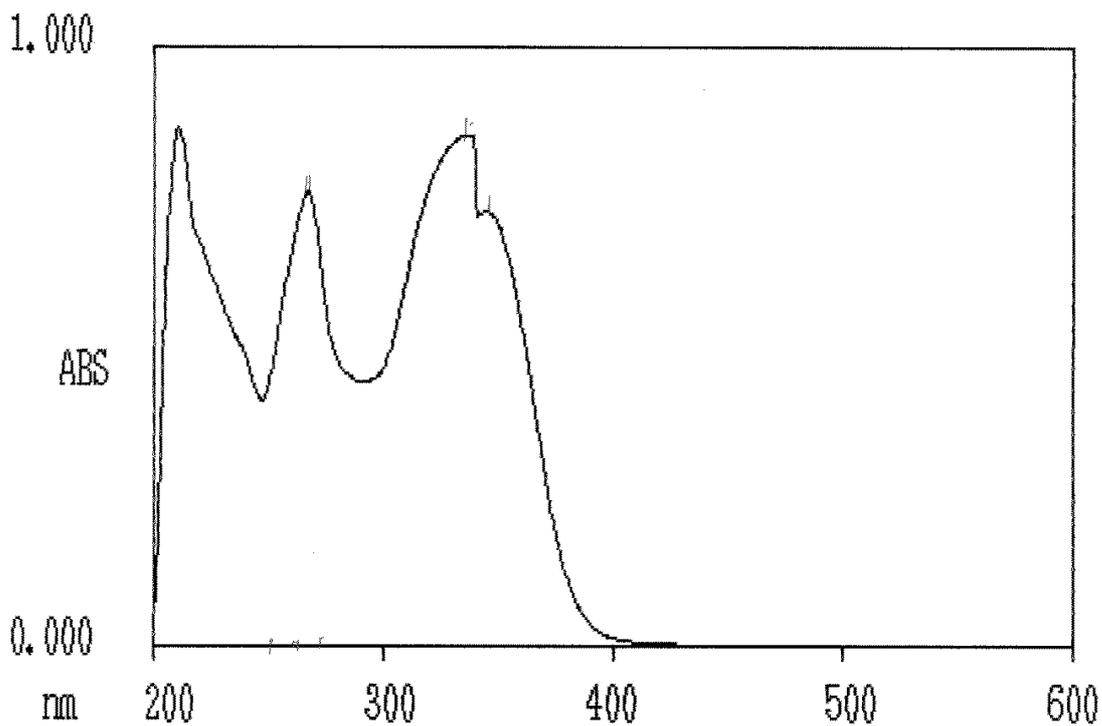


圖 63、篇蓄純化物質 **3** 之紫外光-可見光光譜圖。

Fig 63. UV-visible spectrum for the isolated component **3** from *Polygonum aviculare* L.

6-3-7-G

1035 40 (0.227) Cn (Cen,5, 80.00, Ht); Sm (SG, 2x0.75); Sb (2,1.00); Cm (12:183)

Scan FB+
5.84e5

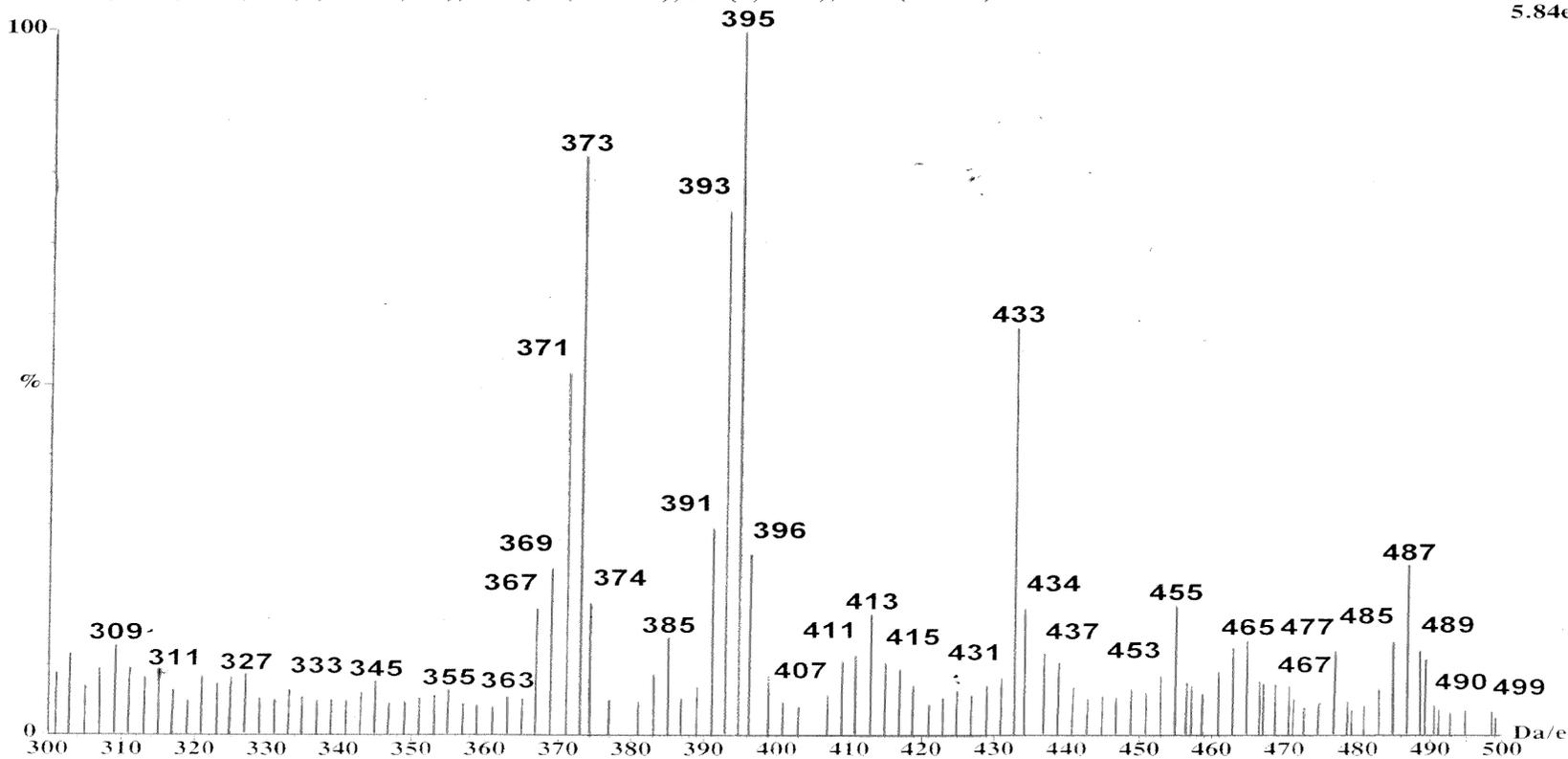


圖 64、篇蓄純化物質 3 之質譜圖。

Fig 64. MS spectrum for the isolated component 3 from *Polygonum aviculare* L.

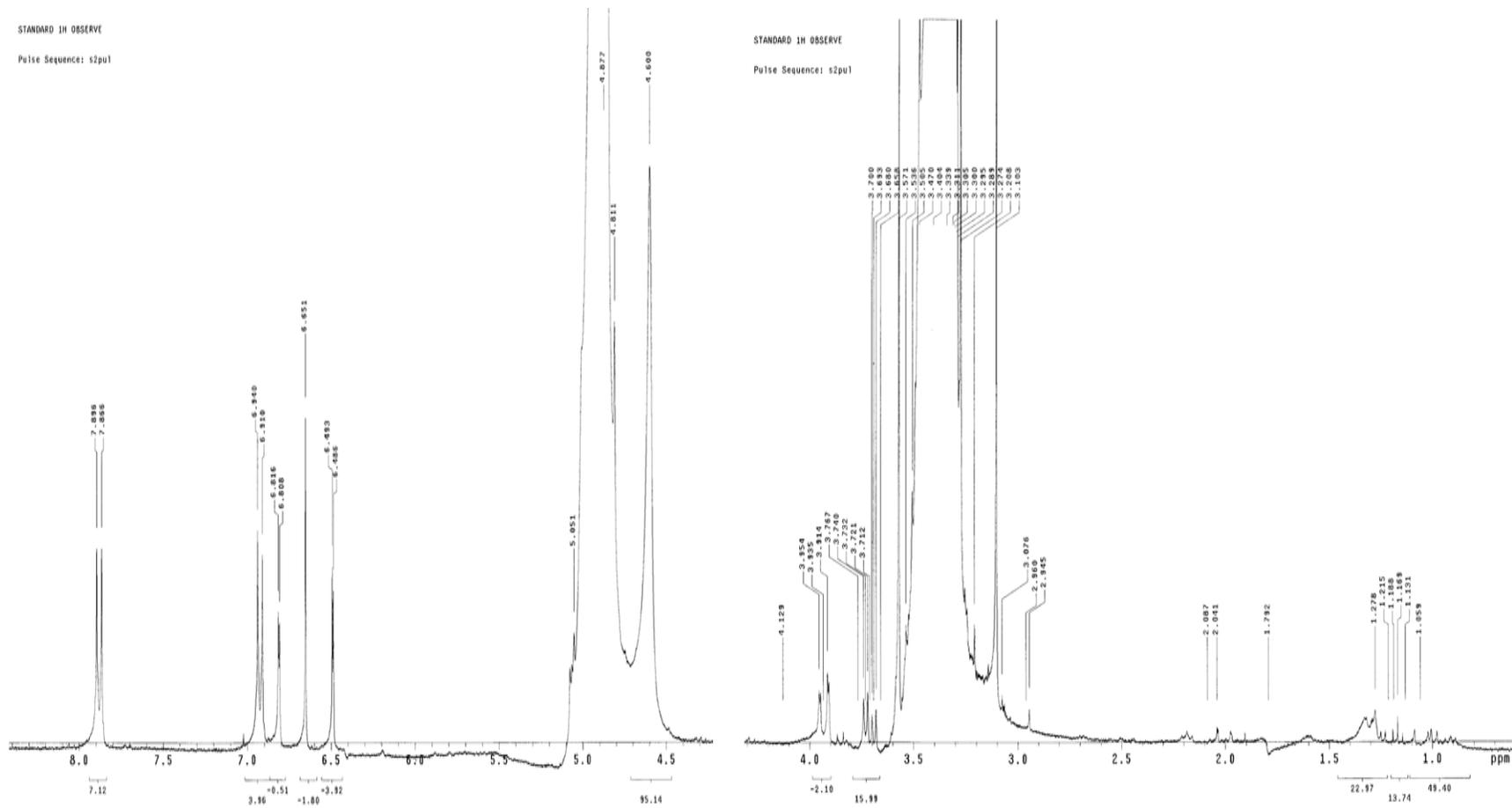


圖 65、篇蓄純化物質 **3** 之 ^1H -核磁共振光譜圖。

Fig 65. ^1H -NMR spectrum for the isolated component **3** from *Polygonum aviculare* L.

```

6-3-7-G
exp2 std13c
SAMPLE
date Apr 23 2004 dfrq DEC. & VT 300.066
solvent CD300 dn H1
file exp dpwr 49
ACQUISITION exp dof 0
sfrq 75.460 dm YVY
tn C13 dmm w
at 0.869 dmf 9259
np 32768 dseq
sw 18859.0 dres 1.0
fb 10400 homo n
bs 16 PROCESSING 1.00
tpwr 55 lb wtfile
pw 4.8 di proc ft
tdf 1220.8 fn not used
nt 16384 math f
ct 16384
alock n verr
gain not used wexp
FLAGS n wbs
il n wnt
in n
dp y
hs nn
DISPLAY
sp -664.5
wp 18859.0
vs 153
sc 0
wc 250
h2mm 75.44
is 500.00
rfl 4361.6
rfp 3697.1
th 8
ins 100.000
nm no ph

```

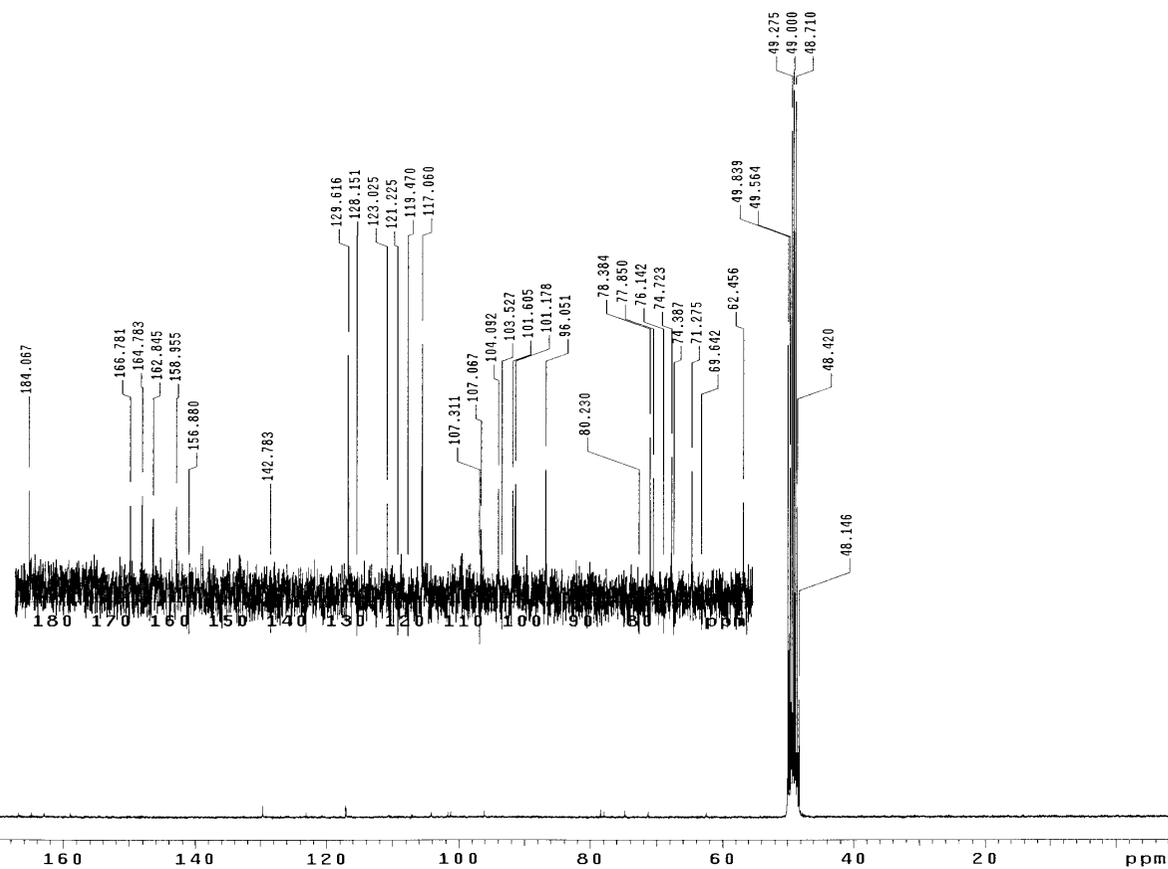


圖 66、篇蓄純化物質 **3** 之 ^{13}C -核磁共振光譜圖。

Fig 66. ^{13}C -NMR spectrum for the isolated compone **3** from *Polygonum aviculare* L.

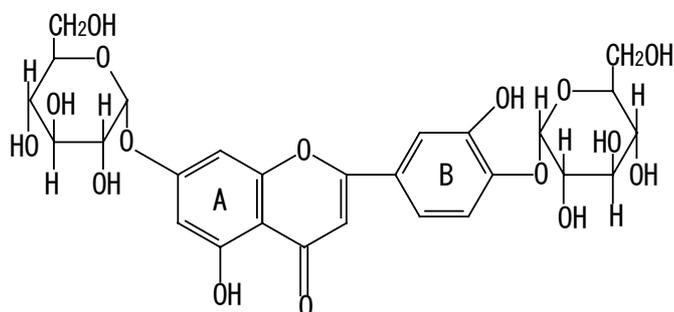
4. 純化物質 4 之結構鑑定

純化物質 4 是淡黃色粉末，Cellulose TLC (展開劑 20% 醋酸水溶液) R_f 0.84 (圖 54)，及 $^1\text{H-NMR}$ 上推知是二個葡萄糖的糖 化合物，UV 吸光光譜 (圖 67) λ_{\max} (MeOH) nm 255.8, 264.7 (sh), 299.8 (sh), 358.8 與 rutin 的 UV (λ_{\max} , nm) 259, 266 (sh), 299 (sh), 359 相當類似，推測其亦為槲皮酮 (quercetin) 的雙糖 。FAB-MS (m/z) (圖 68) 顯示分子離子波峰 627 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，斷裂碎片離子波峰為 465 $[\text{M}+\text{H}-\text{glucosyl}]^+$ ，303 $[(\text{M}+\text{H}-2\times\text{glucosyl})^+]$ ，(quercetin + H) $^+$ 。

$^1\text{H-NMR}$ 光譜 (600MHz, CD_3OD , 圖 69): δ 6.20 (1H, s), 6.39 (1H, s), 6.86 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$, H-5'), 7.58 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 7.83 (1H, s) 分別為槲皮酮 C₆-H, C₈-H, C_{5'}-H, C_{6'}-H, C_{2'}-H 的質子波訊，其中 δ 7.83 為槲皮酮 7-*O*-glucoside 或 4'-*O*-glucoside 的特徵質子波訊。 δ 5.15 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$), 5.24 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$) 分別為 β -form glucopyranosyl C_{1''}-H 及 C_{1'''}-H 的質子波訊， δ 3.41~3.85 則為二個 glucosyl 上的 10 個質子波訊。 $^{13}\text{C-NMR}$ 亦支持上述推論 (圖 70)，純化物質 4 的結構鑑定為 quercetin-7,4'-*O*- β -D-diglucoopyranoside。

Component 4 :

Quercetin 7,4'-O- β -D-diglucopyranoside



UV λ max (MeOH) nm : 255.8, 264.7 (sh), 299.8 (sh), 358.8

Formula : $C_{27}H_{34}O_{16}$

FAB-MS (m/z) : 627 [M+H]⁺, 487 [M-glucosyl+Na]⁺,
465 [M+H-glucosyl]⁺, 303 [M+H- 2 \times glucosyl]⁺

¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) : δ

7.83 (1H, s, C₂-H), 7.58 (1H, d, $J=8.1$ Hz, C₆'-H),
6.86 (1H, d, $J=8.1$ Hz, C₅'-H), 6.39 (1H, s, C₈-H),
6.20 (1H, s, C₆-H), 5.24 (1H, d, $J=7.8$ Hz, glucosyl- C₁'''-H),
5.15(1H, d, $J=7.8$ Hz, glucosyl C₁''-H),
3.41~3.85(10H, m, 2 \times glucosyl 10 protons)

¹³C-NMR (75MHz, CD₃OD) : δ

179.43 (C-4), 166.13 (C-7), 162.95 (C-5), 158.99 (C-2),
158.42 (C-9), 149.91 (C-4'), 145.79 (C-3'), 135.57 (C-3),
123.18 (C-1'), 122.92 (C-6'), 117.76 (C-5'), 116.08 (C-2'),
105.36 (C-10), 104.26 (glucosyl C-1'', C-1'''), 99.94 (C-6),
94.76 (C-8), 78.35, 78.08 (glucosyl C-5'', C-5'''),
77.15, 75.70 (glucosyl C-3'', C-3'''),
75.07, 73.17 (glucosyl C-2'', C-2'''),
71.20, 69.99 (glucosyl C-4'', C-4'''),
62.53, 61.91 (glucosyl C-6'', C-6''')

WAVELENGTH SCAN/1

06/03/04 14:09

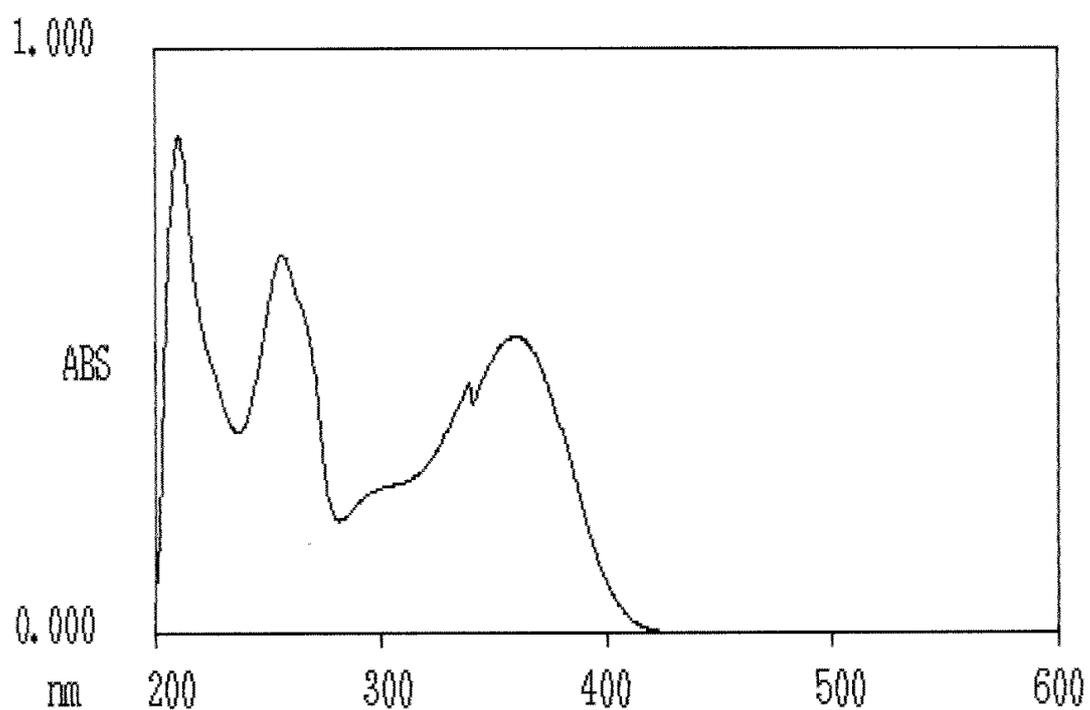


圖 67、篇蓄純化物質 4 之紫外光-可見光光譜圖。

Fig 67. UV-visible spectrum for the isolated component 4 from *Polygonum aviculare* L.

6-12-2-B
104601 3 (0.051) Sm (SG, 2x0.75); Sb (2,1.00); Cm (3:92)

Scan FB+
5.66e6

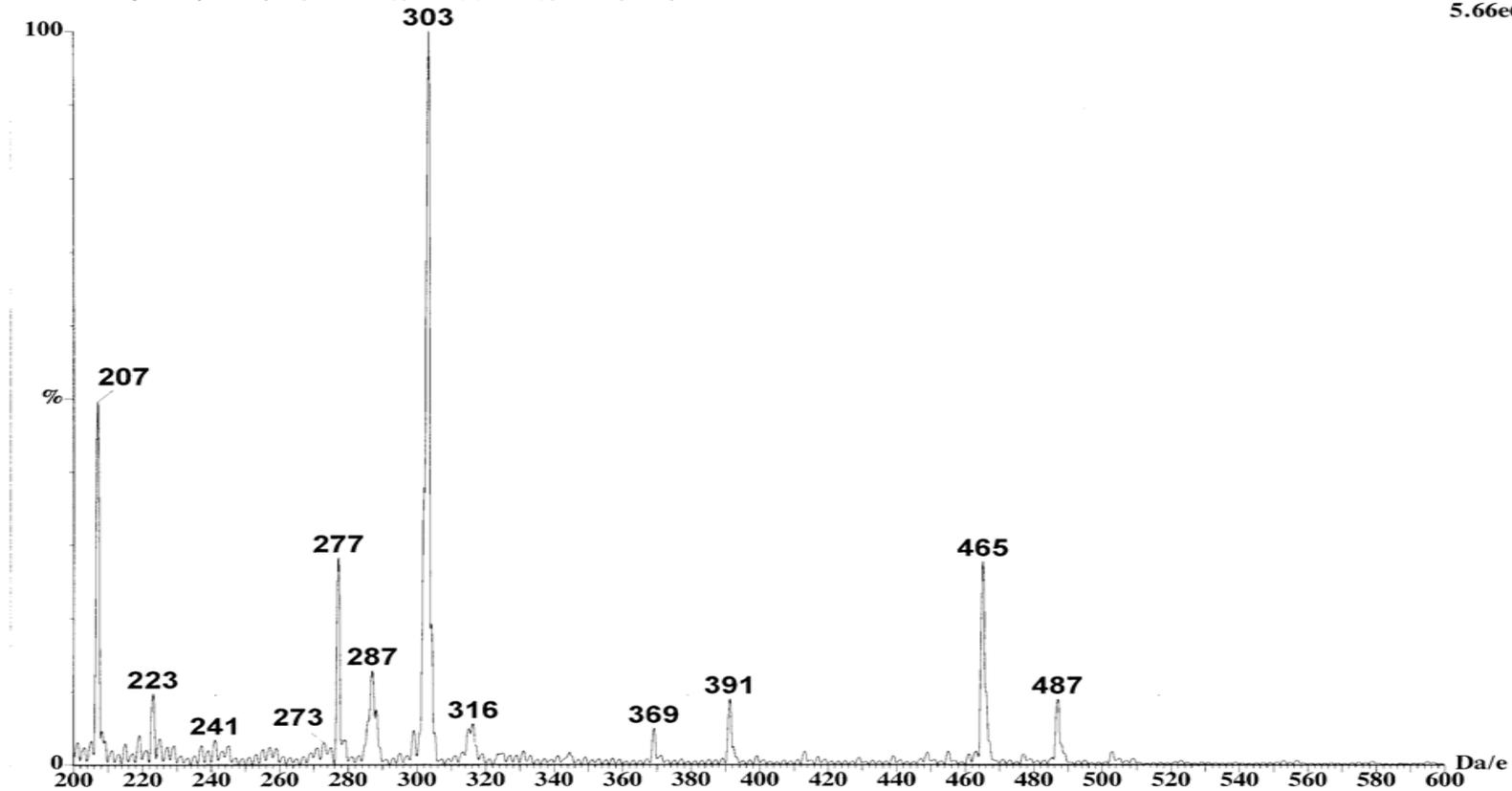


圖 68、蒨蓄純化物質 4 之質譜圖。

Fig 68. MS spectrum for the isolated component 4 from *Polygonum aviculare* L.

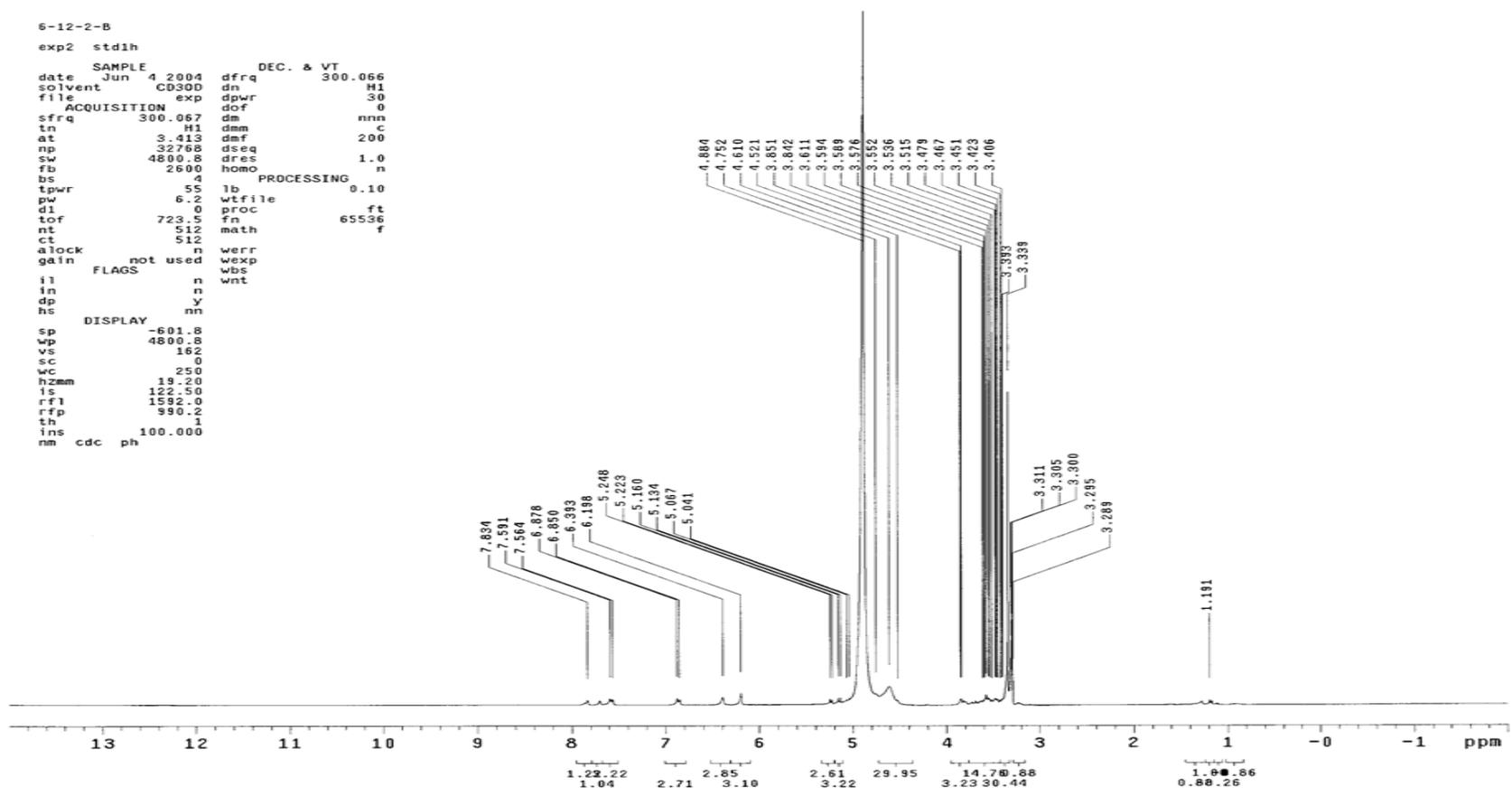


圖 69、篇蓄純化物質 4 之 ^1H -核磁共振光譜圖。

Fig 69. ^1H -NMR spectrum for the isolated component 4 from *Polygonum aviculare* L.

6-12-2-B
Pulse Sequence: s2pu1

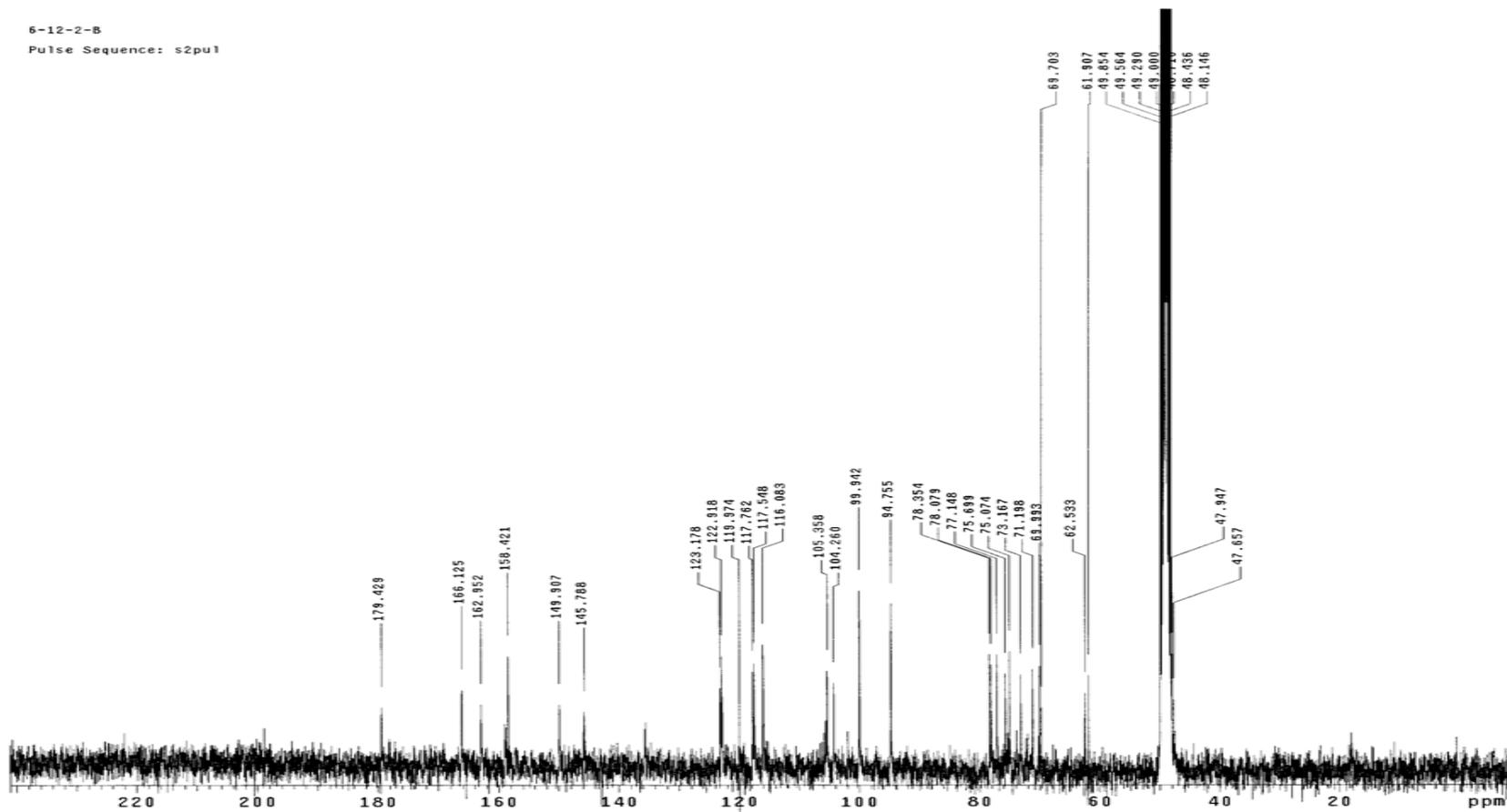


圖 70、篇蓄純化物質 4 之 ^{13}C -核磁共振光譜圖。

Fig 70. ^{13}C -NMR spectrum for the isolated component 4 from *Polygonum aviculare* L.

5. 純化物質抗氧化力測定

經由 HPLC 分離、純化後，再藉由各種光譜分析法鑑定出 4 種純化物質，分別為 luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (1)、apigenin 7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside (2)、apigetrin (apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside) (3) 及 quercetin-7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside (4) 等四種類黃酮配；以硫氰酸鐵法比較其抗氧化力 (圖 71)，可得 luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranoside、apigenin 7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside 及 quercetin-7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside 等三種純物質具有較強的抗氧化力，其抗氧化力與 BHA 相當。

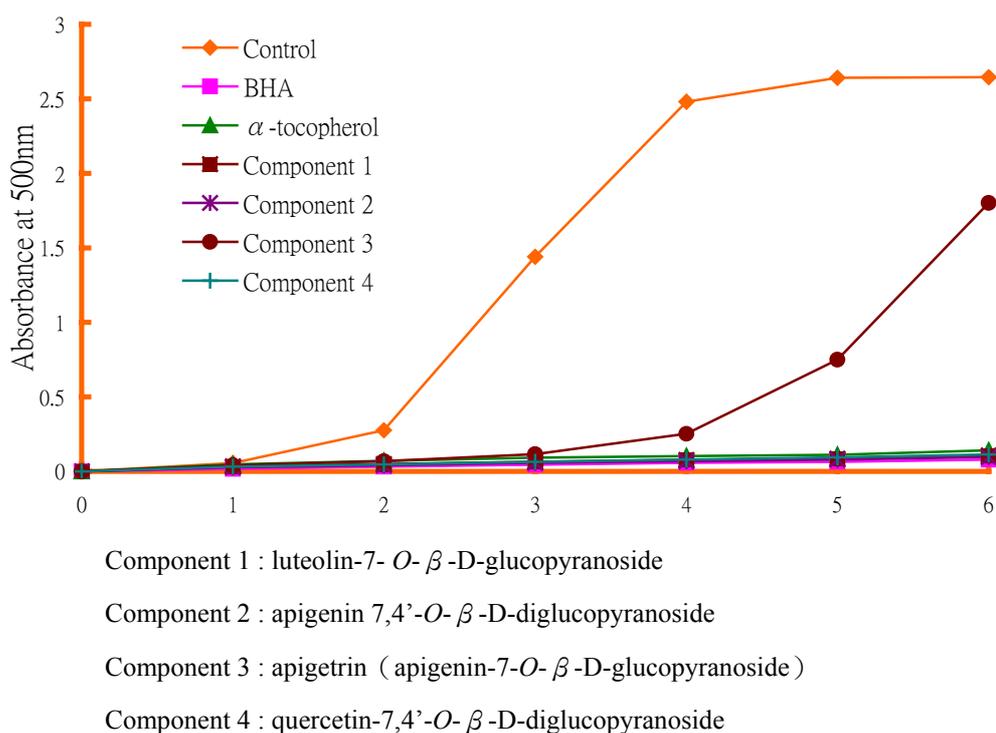


圖 71、由蒨蓄分離出的純化物質之抗氧化性。

Fig 71. Antioxidative activity of the pure components isolated from *Polygonum aviculare* L.

第四章 揮發性成分之研究

第一節 文獻整理

一、揮發性成分

食品風味 (flavor) 一般指的是食品在咀嚼時，口腔內所感覺出的味道和氣味；味覺 (taste) 為由非揮發性物質刺激味蕾所產生之感覺；香氣 (odor) 則為由揮發性物質刺激嗅覺神經所產生的感覺。這些感覺受冷、熱、痛及觸覺等其他感覺所影響，所以食品風味是綜合且複雜的感覺 (Thomson, 1986)。

風味成分 (flavor component) 是指提供物質香味的複雜化合物，例如植物體的主要香氣成分 - 有機酸類、醛類、酮類、醇類、酯類等。動物類的香氣成分，獸肉為脂肪酸類，魚肉為胺類等。此類化合物的化學官能基及構造式差異皆很大，沸點的範圍也都很廣。

影響揮發性成分萃取的因子簡述如下：

1. 樣品前處理的方式

磨碎、乾燥及儲藏的過程中均會對揮發性成分造成影響，會有破壞或喪失等情形發生。曾有研究報告指出在低溫下磨碎樣品，對其低分子量、高揮發性成分所造成喪失的情形，少於在室溫磨碎時 (Pesek, 1985)。Pruthi (1990) 亦指出低溫磨碎樣品的優點為樣品較易粉碎，氧化情形減少，揮發性成分減少損失，磨碎速率增加，微生物含量降低，因產率提高，促使成本降低等。

2. 溶劑的選擇

不同溶劑所能萃取的揮發性成分不盡相同 (Cu, 1989)。

3. 不同萃取方法

Eiserle 等 (1972) 則指出以溶劑直接萃取時，除揮發性成分外，亦會萃取到一些非揮發性物質。

風味物質 (flavor substance) 可分成三類：

- (1) 天然香味物質 (natural flavoring substance)，可直接以物理方法從天然原料分離出來，又可分為植物性和動物性香料，植物性香料為由植物的果實、種子、根、莖、樹皮、葉、花等原料萃取出之精油及香氣成分；動物性香料為自動物材料得到之香料，例如麝香、龍涎香等。
- (2) 天然鑑定出風味物質(natural-identical flavoring substance)，為利用化學方法從天然芳香物質分離純化出，或以有機化學合成法製成的香味物質，此物質與天然中成分之化學結構相同，且具有安全性，例如香草精 (vanillin)。
- (3) 人造香味物質 (artificial flavoring substance) 由有機化學合成之香味物質，不存在於天然中，但具有高安全性，例如乙基香草精 (ethyl-vanillin)。

食品中香氣的特性歸納如下 (喬，1986)：

- (1) 成分複雜。以咖啡為例，目前已知的香氣成分已超過 700 種。
- (2) 香氣成分濃度偏低，大部分含量在數 ppm 至 100 ppm 之間，亦有低至 10^{-2} ~ 10^{-3} ppb 者。
- (3) 各成分之間的濃度含量差異頗大。
- (4) 極性分佈及沸點範圍相當廣。
- (5) 不同成分間氣味潛能 (odor potencies) 具有差異性。
- (6) 各香氣成分的化學性質互不相同，且不穩定，易受光線、溫度、pH、酵素等影響而改變。
- (7) 食品中有含大量揮發性成分者，亦有如水般無香性特徵者。
- (8) 含量之分佈與官能性具有相關性。

二、揮發性成分的种类及其感官特性

物質具有香氣之條件有二：首先其必須為揮發性。其次，香氣

物質的分子中必須含有特定的原子團 (atomic group)，稱之為發香團 (osmophore group) 如表 10 所示。與食品氣味形成有關之化合物簡述如下：

1. 脂肪酸化合物 (aliphatic acids)

低分子量之脂肪，如蟻酸 (formic acid)、醋酸 (acetic acid)、丙酸 (propionic acid) 等，多具有刺鼻之酸味或不愉快的耗味 (rancidy odor) 然而此等低分子量的脂肪酸之酯類化合物卻呈現水果般的香氣，例如正丁酸的乙酯衍生物具有似鳳梨的獨特香味；乙酸衍生物則具有蘋果般的香味。

2. 醇類 (alcohols)

低分子量的醇類具有輕爽 (spirit-like) 之香氣，而隨著分子量的增加氣味漸減至無氣味。庚醇 (hepty alcohol) 有葡萄香氣、辛醇 (octyl alcohol) 及壬醇 (nonyl alcohol) 有薔薇花香氣。另外具有雙鍵的醇類，其氣味與上述醇類不同，如 β -己烯醇 (β -hexenol) 有強烈青草臭。另外植物精油中的香氣成分亦具有雙鍵之醇類，如沉香醇 (linalool)。而多元醇一般無氣味。

3. 酮類 (ketones)

一般而言，酮類有良好的氣味，如丙酮、丁酮、二丙酮等都有讓人愉快的香氣。芳香族酮類的氣味很香，如苯乙酮 (benzophenone) 為乳酪之重要香氣成分，雙酮類 (diketones) 也有良好的氣味，如雙乙醯 (diacetyl) 具有新鮮奶油帶有甜味感覺的香氣，另外 α ， β -紫蘿蘭酮 (α ， β -ionone) 是很多水果及食品的香氣成分。

4. 酯類 (esters)

酯類由醇類與酸類結合，通常具有水果般的芳香，一般而這醇基部分的分子量增加，會降低其香氣。乙酸異戊酯 (isoamyl acetate)、乙酸酯 (amyl acetate) 丁酸戊酯 (amyl butyrate) 具有類似香蕉氣味。

另外由有機酸形成酯類，氣味較不同，如柳酸甲酯 (methyl salicylate) 為冬青樹油的主要香氣成分，鄰胺苯甲酸甲酯 (methyl anthranilate) 存在於葡萄、柑桔精油中，具葡萄香氣，苯甲酸甲酯 (methyl benzoate) 則具有薄荷香氣。

5. 醛類 (aldehydes)

一般有機物中以醛類之沸點最低，對於氣味貢獻極重要。飽和碳鏈醛 (fatty aldehyde) 中，碳數小者香氣較辛辣刺鼻不被接受，但當碳數增加至 C_{10} 、 C_{12} 、 C_{14} 時，則變成令人愉悅的花香。不飽和醛類 (unsaturated aldehyde) 在植物精油的香氣化合物中很重要，如檸檬醛 (citral)、香茅醛 (citronellal) 有類似檸檬的香氣。

6. 芳香族化合物 (aromatic compounds)

苯環上具有醛基或醇基取代的環狀化合物在食品香料中扮演極重要的角色。如苯甲醛 (benzaldehyde)、甲基苯甲醛 (methyl benzaldehyde) 都有杏仁的香氣。桂皮醛 (cinnamic aldehyde) 為肉桂皮精油中主要香氣化合物。

7. 烯類 (terpenes)

一些單不飽和 烯化合物如 (citronellol) 及雙不飽和 烯化合物 (如順式的 nerol, 反式 geraniol) 為重要香氣化合物，常存在於一些檸檬、柑桔類水果精油中。

8. 含硫化合物 (sulfur compounds)

含硫化合物通常為香料的重要香氣化合物，例如韭菜、洋蔥、蒜的香氣成分主要為硫化丙烯化合物 (allyl sulfide)，芥子油類 (allyl mustard oil) 的主要香辛氣味成分為硫氰酸烯丙酯 (allyl isothiocyanate)。

9. 含氮化合物 (nitrogen compounds)

此類化合物中與食品有關者主要為胺類(amines)，如甲胺(methyl amines)、二甲胺(dimethyl amines)等，均係蛋白質腐敗後之臭味，甚至有毒。而在發酵食品中如醬油、醃菜、臭豆腐中須有微量胺類存存，才可構成特殊風味。

10. 內酯 (lactones)

一般內酯有所謂的 α 、 β 、 γ 、 δ 四種，主要是依據形成內酯中碳數不同而劃分。例如中 γ -lactones是由 γ -hydroxy 隨 acid 經硫酸作用脫水時產生的五環內酯，但在鹼性條件下此環不安定會被分解。另 γ -lactones為乳酪、奶油及牛乳製品的重要香氣化合物。

表10、主要的發香基團

Table 10. The major osmophoric groups

發香物質	發香基團
羥基(hydroxy group)	- OH
醛基(aldehyde group)	- CHO
羰基(carbonyl group)	- CO
醚基(ether group)	- ROR'
酯基(ester group)	- COOR
羧基(carboxyl group)	- COOH
內酯(lactone)	- $\begin{array}{c} \text{RCOO} \\ \text{└───┘} \end{array}$
苯基(phenyl group)	- C ₆ H ₅
硝基(nitro group)	- NO ₂
亞硝酸基(nitrite group)	- ONO -
醯胺基(amide group)	- CONH ₂
異硫氰基(isothiocyanate group)	- NCS

三、揮發性成分之萃取、分離及鑑定

揮發性成分之萃取方法的選擇是依香氣物質的特性而定，以下為目前較常用的幾種方法（喬 1986；孔，1991；林，1997）：

1. 直接萃取法（direct extraction）

(1) 液/液萃取（liquid-liquid extraction）

傳統是以分液漏斗萃取，在萃取時須充分振動混合溶劑，相當耗費人力；另有一法是利用不同溶劑間之溶解性及分配性不同，將香氣分離出來。其將溶劑放置圓底瓶中加熱蒸發，再經冷凝管冷卻，並滴回萃取瓶，溶劑滴入萃取瓶中的樣品後，將樣品中揮發性成分溶至溶劑中，溶劑再經由回流管回流至圓底燒瓶內，經由不斷的循環回流，揮發性成分會逐漸萃取至溶劑內，達到完全的萃取效果（圖 72）。此種方法的優點為在低溫下以少量溶劑萃取即可達到良好的萃取率，適合對熱敏感的香味成分，且節省人力。缺點為在同時萃取出親脂性物質時，例如油脂、蠟質及色素等，須再一次將這些物質分離。

(2) 固/液萃取法，索氏萃取法（solid-liquid，Soxhlet extraction）

將固態樣品放入圓筒濾紙內，藉蒸發上來之溶劑經冷卻後，滴到圓筒濾紙內萃取樣品中之香味物質，溶劑最後會迴流至溶劑瓶中，經過不斷重覆，以一定量溶劑即能進行完全萃取，裝置圖示如圖 73。優點為節省人力，缺點為溶劑使用量稍大。

2. 水蒸氣蒸餾法（steam distillation）

將熱空氣通入樣品內，使易揮發的物質氧化，在經冷凝加以收集。由於蒸餾液中含有溶劑、精油、水等，故會有明顯分層，收集精油部分即可，終至如圖 74 所示；此方法的優點是可從揮發性物質(如蠟質)中分離香味物質，並且有不錯的產率，缺點是會破壞對熱敏感的香味物質，產生非原有的香味成分。

3.水蒸氣-蒸餾溶劑萃取法 (simultaneous steam distillation solvent extraction , Likens-Nickerson extraction)

此法於 1964 年由 Likens 及 Nickerson 二人開發。後來有許多改良的方法 (Marrse and Belz , 1981) , 其法為使用低沸點的溶劑 , 例如正戊烷、二氯甲烷、乙醚 , 進行萃取。優點為同時進行蒸餾及溶劑萃取之工作 , 以少量溶劑連續進行交換萃取 , 達到以最少的溶劑做最有效的萃取 , 且萃取效率高。但使用於對熱敏感的香味物質時易產生人為的香味成分。裝置如圖 75。

4.上部空隙吹除捕捉法 (head-space adsorption)

傳統的方法是將樣品放入密閉容器中加溫 , 再以注射筒吸取上部氣體 , 直接注入氣相層析儀中 , 但因樣品量太少 , 無法檢測出微量成分 , 且食品的組成成分會影響香氣成分之蒸氣壓而影響分析結果。1978 ~ 1980 年間有新的方法產生 (Charalambous , 1987) 裝置如圖 76 , 利用惰性氣體吹入樣品中 , 例如氮氣或氦氣 , 將揮發性成分趕入裝有吸附劑的吸管中 , 再以溶劑或加熱將揮發性成分分離出來。常用的吸附劑有 Parapah Q (ethylvinylbenzene-divinylbenzen copolymer) 及 Tenax GC (2,6 diphenyl-*p* -phenylene oxide) 。此種方法的優點為可分離出與樣品揮發性成分極為接近的物質 , 且所需的樣品少 , 可輕易進行 ; 缺點為吸附劑的容量低 , 且吸附量有限 (Heath , 1981) 。

5.超臨界流體萃取法 (supercritical fluid extraction , SFE)

其原理是利用物質在臨界點 (critical point) 之後 , 氣體不因壓力增加而液化 , 液體不因溫度升高而氣化 , 液相及氣相平衡成一相 , 即為超臨界狀態 (圖 77) (陳 , 1992) 。此物質為超臨界流體 , 其兼具有氣體及液體的特性 , 具有良好的擴散性 , 密度與粘度與液體接近。目前最常被使用的為二氧化碳 , 其臨界溫度為 31.3°C , 臨界壓力為 72.9 atm , 臨界點適中 , 不可燃 , 安全性高 , 無毒性 , 無殘留的問題 , 符合環保需求。優點為適合對熱敏感的物質 , 且可同時控制溫度

及壓力，使溶劑能選擇性地區分溶質；缺點為儀器設備成本昂貴（Westwood，1993）裝置如圖 78。經由萃取濃縮後所得到含揮發性成分之萃取液，為提高相對濃度，因此需將溶劑除去。常用的濃縮後的萃取物，以氣相層析儀（gas chromatography，GC）及氣相層析－質譜儀（gas chromatography-mass spectrometer，GC-MS）分離鑑定揮發性成分，配合紅外線吸光（infrared absorption，IR）、紫外線吸光（ultraviolet absorption，UV）及核磁共振（nuclear magnetic resonance，NMR）等光譜分析法加以鑑定。

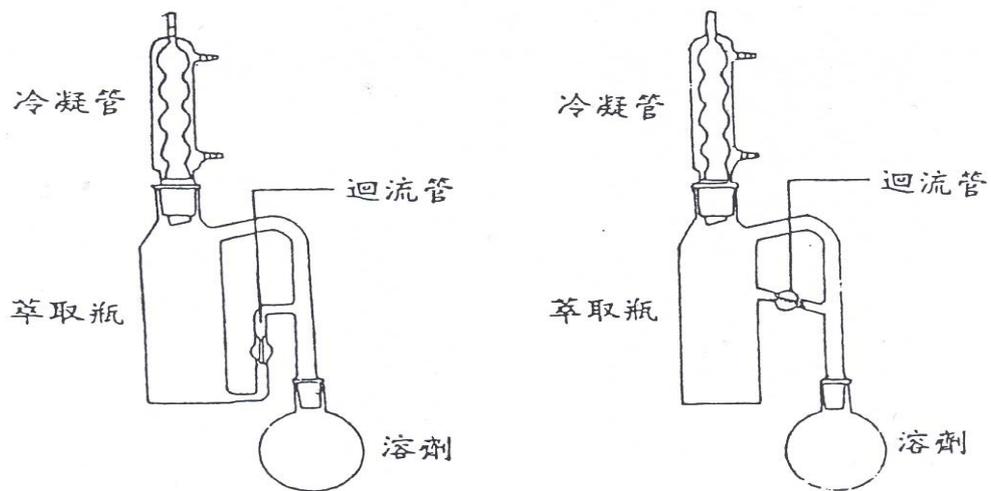


圖72、液體-液體萃取法裝置圖。

Fig 72. Diagram of liquid-liquid extraction equipment.

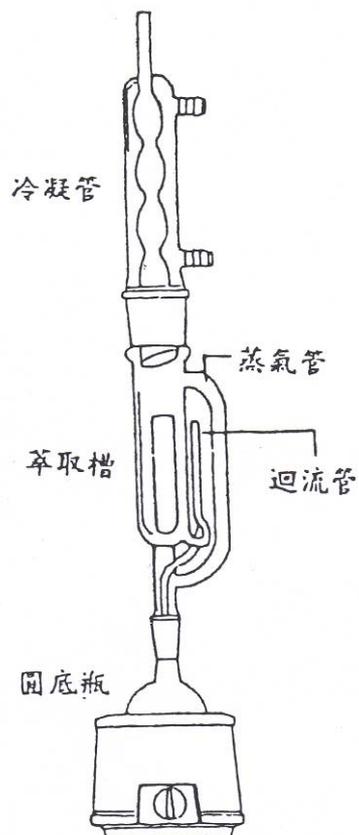


圖73、索氏萃取裝置圖。

Fig 73 . Diagram of Soxhlet extraction equipment.

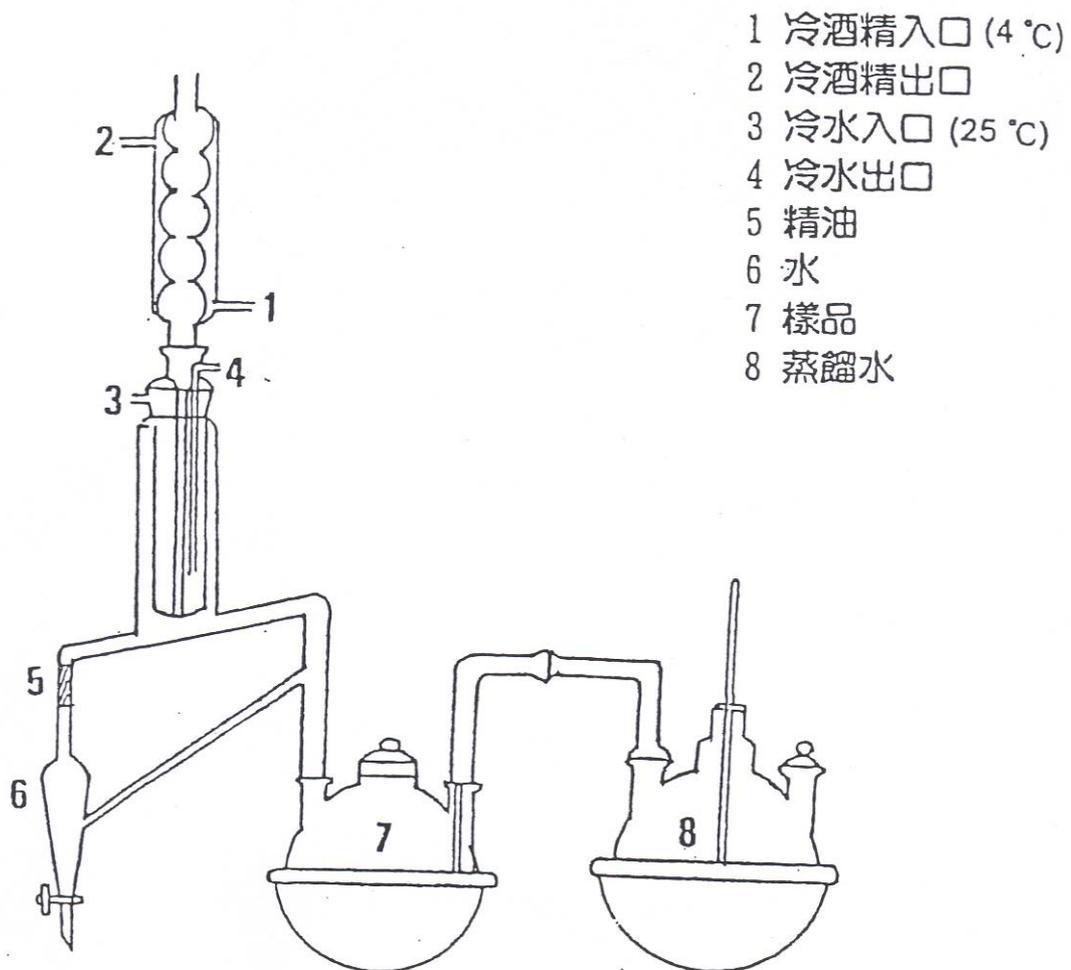


圖74、水蒸氣蒸餾法裝置圖。

Fig 74. Diagram of steam distillation equipment.

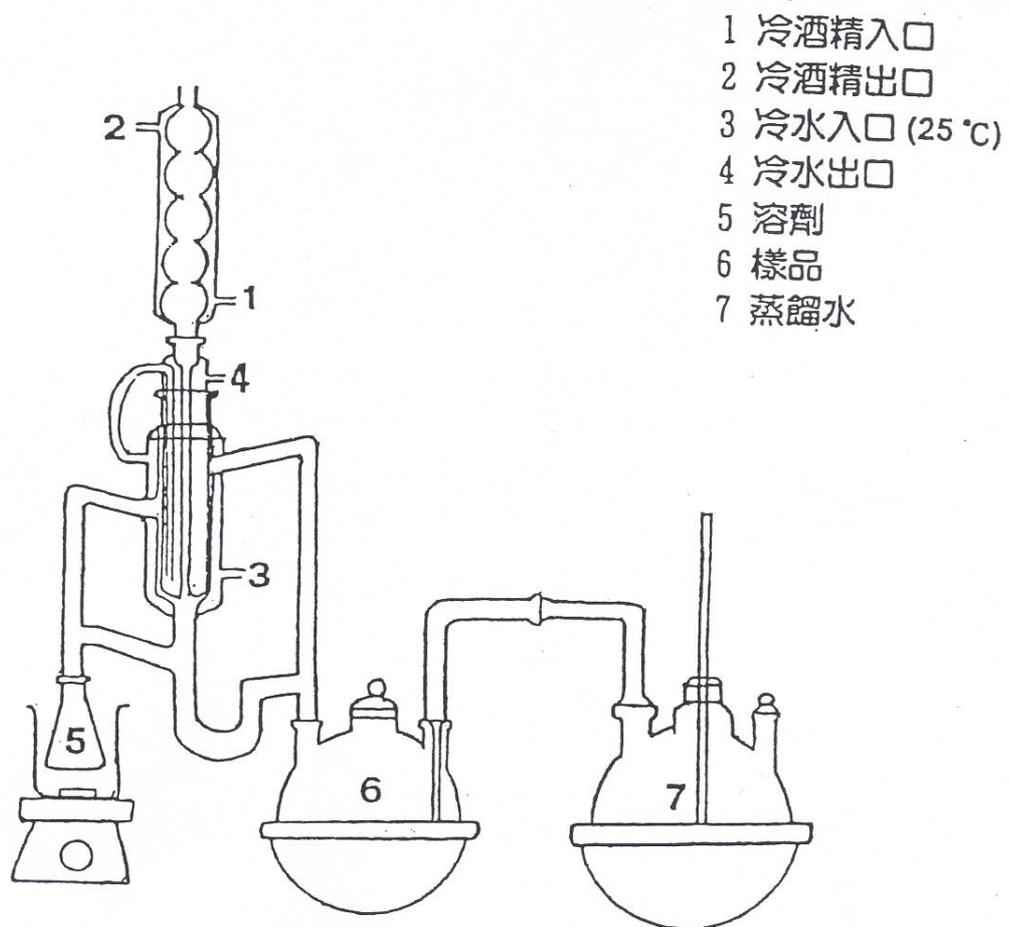


圖75、水蒸氣蒸餾-溶劑裝置圖。

Fig 75. Diagram of Likens-Nickerson extraction equipment.

- 1 氮氣入口
- 2 樣品
- 3 冷水入口 (25°C)
- 4 冷水出口
- 5 吸附劑

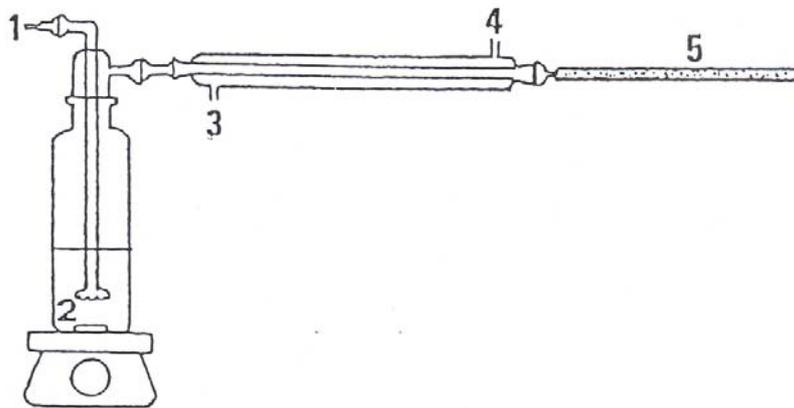


圖76、上部空隙吹除捕捉法裝置。

Fig 76. Diagram of headspace adsorption equipment.

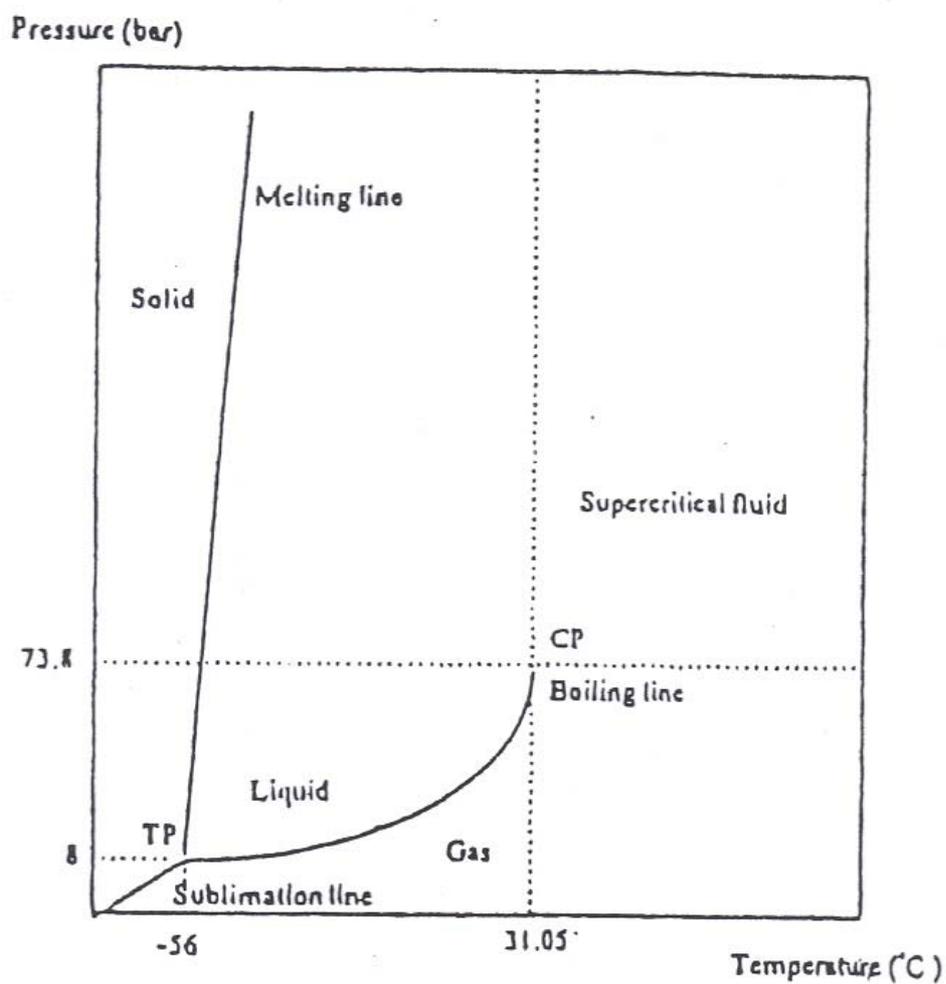
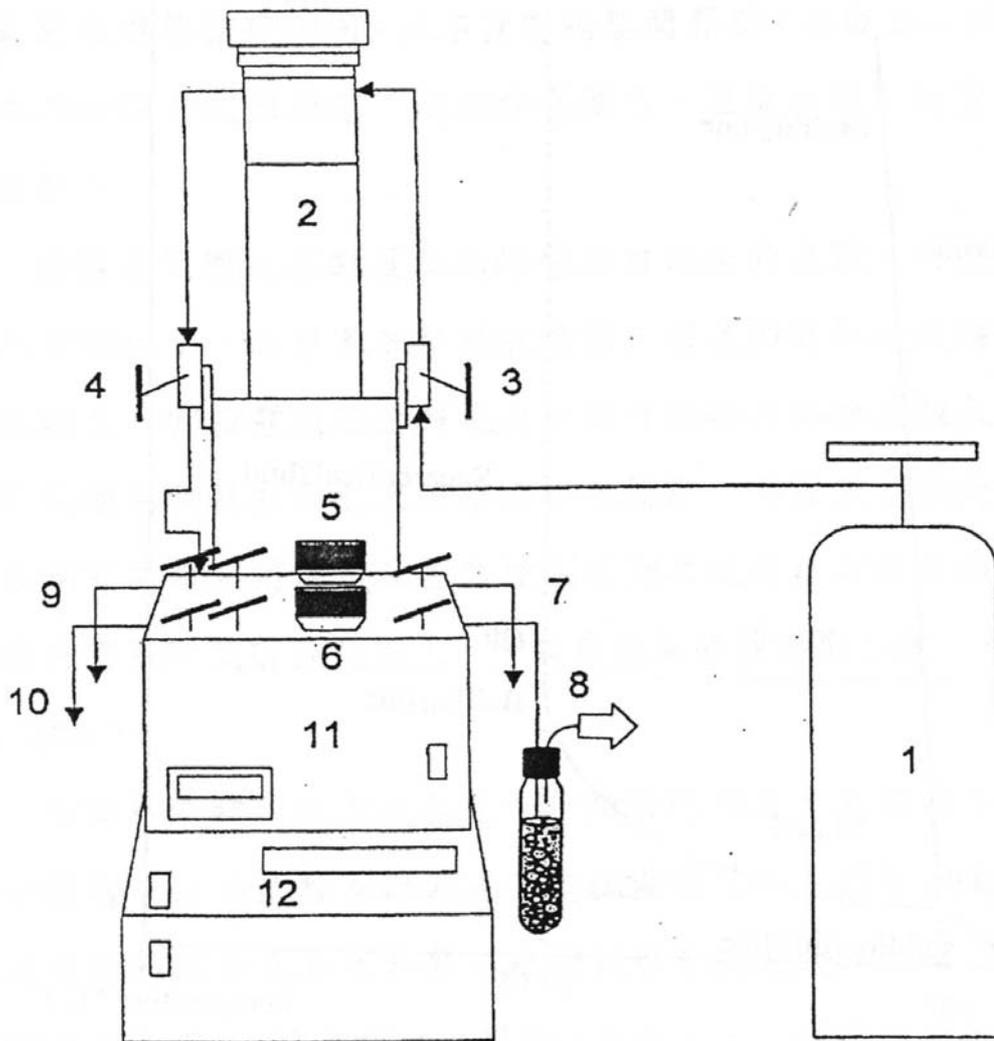


圖 77、超臨界二氧化碳之三相圖。

Fig 77. Various phases diagram of supercritical carbon dioxide.



1 : carbon dioxide supply tank , 2 : syringe pump , 3 : check valve ,
 4 : check valve for controlling compressed carbon dioxide , 5 & 6 :
 extraction vessel , 7 & 8 : restrictor , 9 & 10 : vent , 11 : jacket of
 extraction vessel , 12 : controller of extraction apparatus

圖78、超臨界流體萃取法裝置圖。

Fig 78. Diagram of supercritical fluid extraction equipment.

第二節 篇蓄揮發性成分之研究

材料與方法

一、實驗材料及分析儀器

1. 樣品

本實驗所使用的中藥篇蓄於2003年7月購自苗栗市宏達科學中藥行。樣品先以磨粉機(台中榮聰鐵工廠製)磨碎至可通過200 mesh 篩網孔目之粗粉。

2. 藥品

2-1 萃取篇蓄揮發性萃取物使用之溶劑

本實驗所使用之萃取溶劑乙醚 (diethyl ether)、正戊烷 (*n*-pentane)、二氯甲烷 (dichloromethane) 為德國 Merck 公司 GR 級試藥，使用前先經蒸餾純化。

2-2 抗氧化性檢測所使用之標準抗氧化劑

α -生育醇 (α -tocopherol, 純度 95%) 及丁基甲氧苯 (butylated hydroxyanisole, BHA) 為購自美國 Sigma 公司之特級試藥。

2-3 抗氧化性檢測所使用之其它試劑

亞麻油酸 (linoleic acid)、硫氰酸銨 (NH_4SCN)、氫氧化鈉 (NaOH)、磷酸二氫鉀 (KH_2PO_4) 等皆購自日本 Wako 公司。氯化亞鐵 (FeCl_2) 購自德國 Merck 公司。

3. 氣相層析儀 (gas chromatograph)

使用美國 Hewlett-Packard 公司製造之 HP-5890II 機型。

4. 氣相層析質譜儀 (GC-MS)

使用美國 Hewlett-Packard 公司製造之 HP-5972A MSD 及 5890II 機型 GC。

二、實驗方法

1.揮發性萃取物分析流程

篇蓄精油之分析流程示如圖 79。

2.揮發性萃取方法

(1) 水蒸氣蒸餾溶劑萃取 (Likens-Nickerson extraction)

秤取篇蓄粉末 200 g、水 2000 mL 及內標液 100 μ l (1 ppm 3-ethyl pyridine) 放入 Likens-Nickerson 裝置之圓底燒瓶中，以水蒸氣當熱源，同時以 50 mL 溶劑 (正戊烷：乙醚=1：1, v/v) 蒸餾萃取 2 小時，連續萃取三次。

(2) 超臨界二氧化碳萃取法 (supercritical carbon dioxide extraction)

秤取篇蓄粉末 80 g 放入 100 mL 的萃取槽中，利用超臨界萃取裝置 (model 260D, 美國的 Isco 公司)，以液態二氧化碳 (20 mL, 0.3 mL/min) 為流體，萃取溫度為 40°C，萃取物的收集採用液體捕捉法 (solvent trap)，使用溶劑為 90 mL 之正戊烷/二氯甲烷=2：1，萃取壓力為 1500 psi。

3.揮發性萃取液之濃縮

將上述含有篇蓄揮發性成分之萃取物，先分別利用充填玻璃珠之蒸餾管柱，於 40°C 下濃縮至體積大約僅剩 1 mL；繼續以氮氣吹乾至 0.3 mL 之揮發性萃取物。

4.揮發性萃取物之分離及鑑定

將上述水蒸氣蒸餾溶劑萃取所得之篇蓄揮發性萃取物，分別以氣相層析儀 (GC) 及氣相層析 - 質譜儀 (GC-MS) 進行分析鑑定。

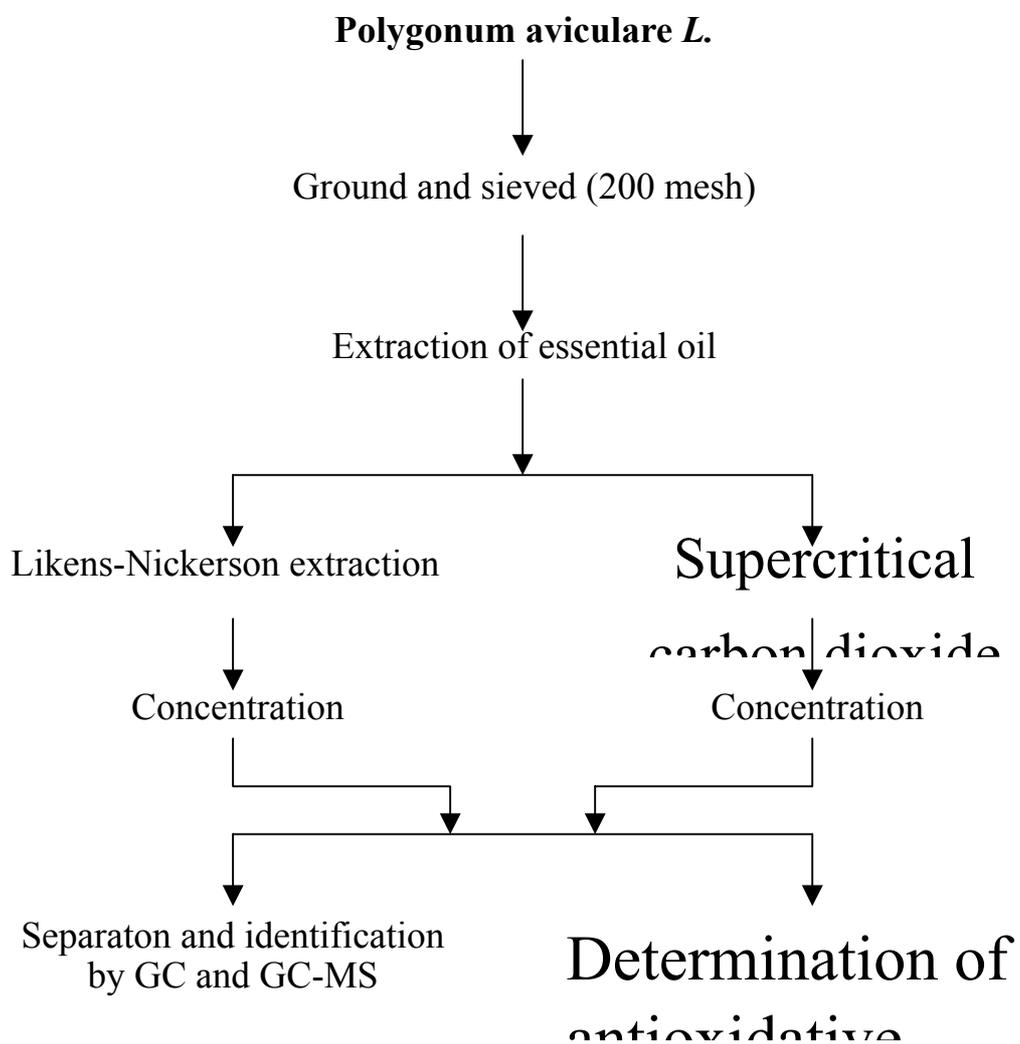


圖 79、蒨蓄以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法及超臨界二氧化碳萃取法所得精油之化學組成及抗氧化性之分析流程圖。

Fig 79. Flow sheet of experimental for the study on chemical compositions and antioxidant activities for volatile extracts from *Polygonum aviculare L.* by Likens-Nickerson extraction

and supercritical carbon dioxide extraction.

4-1 氣相層析

氣相層析以極性管柱進行分析，即 CP-Wax 52CB (60 m ×0.25 mm I.D., 0.25 μ m film thickness, WCOT, 荷蘭 Chrompack 公司)；遞載氣體(氮氣)流速為 1.0 mL/min，注入口及偵測器溫度皆為 250 °C，烘箱條件為初溫 40°C，升溫速度 3°C/min，終溫為 220°C。使用之儀器為 Hewlett-Packard 之 HP-5890 II GC(Palo Alto, CA, USA)；檢測器為火焰燃燒離子化偵測器(flame ionization detector, FID)。

4-2 氣相層析-質譜分析

成分分析鑑定採用氣相層析質譜儀(Hewlett-Packard 之 HP-5890 II GC 和 HP-5973A MSD, Palo Alto, CA, USA)，採用之分離管柱同上述氣相層析用之管柱。遞載氣體(氮氣)流速為 1 mL/min，注入口溫度為 250°C，氣相層析儀與質譜儀之界面溫度為 260°C，烘箱之升溫條件同上述。質譜儀分析條件如下述：離子源溫度為 250 °C，採用電子撞擊是離子化(electron impact ionization, EI)方式分析，電子能量為 70 eV，電子倍增器電壓為 1353V。

將經由氣相層析 - 質譜儀所得之質譜圖與參考文獻之質譜資料庫 (Wiley 及 NIST / NBS Spectrum Library) 質譜圖互相比對鑑定。本實驗所得之實驗數據，乃經三重覆實驗所得之平均值。

由氣相層析儀分析所得的波峰面積可與內標液 (3-ethyl pyridine) 波峰面積及濃度比較，以計算出蒟蒻每公斤粉末揮發性成分的含量。

5.揮發性萃取物及溶劑萃取物之抗氧化性檢測

本實驗採用對脂質氫過氧化物反應極為靈敏之硫氰酸鐵法(滿

田等，1968；蘇等，1991）做為抗氧化性的檢測。其檢測原理為利用各種樣品添加於含反應基質之亞麻油酸中經過一段時間放置後，依亞麻油酸因自氧化所產生的氫過氧化物的相對含量，描繪各樣品之油脂氧化曲線，並加以比較得知各樣品間之抗氧化性之強弱，揮發性萃取物、溶劑萃取物、BHA 及 α -生育醇之添加量皆為 0.2 mg。其詳細檢測過程請參閱第三章之實驗方法。

結果與討論

篇蓄粉末經水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法及超臨界二氧化碳萃取法萃取後，將含有篇蓄揮發性成分之萃取物，先分別利用充填玻璃珠之蒸餾管柱，於 40°C 下濃縮至體積大約僅剩 1 mL；繼續以氮氣吹乾至 0.3 mL，再經由氣相層析及氣相層析質譜檢測，經參考 Wiley Spectrum Library 之圖譜，共鑑定出主要的 33 種化合物，其組成分為醛類 10 種，醇類 7 種，酯類 4 種，酮類 3 種，其他 3 種酚型化合物，酸類 2 種， 喃 2 種及 烯類 2 種 (表 12)。

以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得精油之產率為 0.011 ±0.001%，而以超臨界二氧化碳萃取法所得萃取物之產率為 0.153 ±0.055%，表示超臨界二氧化碳萃取法較水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法有較好的產率，這可能是在使用水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法萃取時，部分低分子揮發性化合物較易揮發而流失，而超臨界二氧化碳萃取法則無此缺點；另一可能原因為以超臨界二氧化碳萃取時，部分之蠟質、色素及油脂同時被萃取而增加萃取率。

以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得之精油經 GC 及 GC-MS 分析，共鑑定出 33 種化合物(圖 80)，組成分包括醛類 10 種，醇類 7 種，酯類 4 種，酮類 3 種，其他 3 種酚型化合物，酸類 2 種， 喃 2 種及 烯類 2 種，其化合物以 *E*-anethole (波峰 22) 含量最多約佔 3.18%，其次分別為 4-vinyl-2-methoxy-phenol (波峰 27) 約佔 2.92%、 β -ionone (波峰 24) 約佔 2.52%、methyl hexadecanoate (波峰 28) 約佔 2.29%、linolenic acid methyl ester (波峰 33) 約佔 1.80%、caryophyllene oxide (波峰 25) 約佔 1.53%、dihydroactinidiolide (波峰 30) 約佔 1.48%、methyl linoleate (波峰 32) 約佔 1.33%、crysanthenyl acetate (波峰 20) 約佔 1.11% 及 furfural (波峰 18) 約佔 1.00%；以超臨界二氧化碳萃取法所得之萃取物經 GC 及 GC-MS 分析，共鑑定出 13 種化合物(圖 81)，其組成分包括醛類 3 種，酯類 3 種，酸類 2 種，醇類 2 種，酮類 1 種，其他 1 種酚型化合物及 烯類 1 種，其化合物以 4-methyl-2-pentenal (波峰 1)

含量最多約佔 16.80%，其次分別為 methyl linoleate (波峰 32)約佔 2.37%、lauric acid (波峰 31)約佔 1.78 %、linolenic acid methyl ester (波峰 33) 約佔 1.27%。

在篇蓄揮發性成分抗氧化性方面，除了以原有的水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得之精油及超臨界二氧化碳萃取法之萃取出物外，另外再以篇蓄之各層萃取出物比較其抗氧化性，所得到的抗氧化性結果為：BHA > 乙酸乙酯萃取出物 > 甲醇萃取出物 > 正己烷萃取出物 > α -生育醇 > 控制組 > 水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法 > 超臨界二氧化碳萃取法(圖 82)。不同萃取方法所萃取出之揮發性萃取出物，其抗氧化性大多比利用溶劑直接萃取出之萃取出物差，原因可能是利用溶劑直接萃取可萃取得到較多量的具有抗氧化性之酚型化合物。

表 11、以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得篇蓄精油之主要揮發性成分

Table 11. The chemical composition of essential oil from *Polygonum aviculare* L. by Likens-Nickerson extraction

Peak No.	Compound	Retention time	Peak area (%)	Content (mg/kg)
1	4-Methyl-2-pentenal	7.73	0.13±0.03	0.16±0.04
2	Hexanal	10.25	0.74±0.09	0.88±0.10
3	1-Penten-3-ol	12.82	0.19±0.04	0.22±0.05
4	Heptanal	13.96	0.21±0.00	0.25±0.00
5	3-Methyl 2-butenal	14.70	0.48±0.09	0.57±0.10
6	Isoamyl alcohol	14.94	0.08±0.00	0.09±0.00
7	1,8-Cineole	15.04	0.09±0.00	0.11±0.00
8	E-2-Hexenal	15.20	0.42±0.09	0.50±0.10
9	2-Pentyl furan	15.53	0.29±0.01	0.35±0.01
10	1-Pentanol	16.17	0.20±0.01	0.23±0.01
11	2-Isobutenyl furan	16.37	0.19±0.03	0.22±0.04
12	P-Cymene	17.52	0.07±0.00	0.09±0.00
13	1-Octanal	18.49	0.13±0.00	0.15±0.00
14	E-2-Heptenal	19.50	0.53±0.10	0.63±0.12
15	6-Methyl-5-hepten-2-one	20.56	0.43±0.00	0.51±0.00
16	Hexanol	21.79	0.31±0.08	0.37±0.09
17	Nonanal	23.85	0.39±0.02	0.46±0.02
18	Furfural	27.17	1.00±0.08	1.19±0.09
19	Benzaldehyde	28.13	0.80±0.06	0.95±0.07
20	Crysanthenyl acetate	30.77	1.12±0.27	1.33±0.32
21	ar-Curcumene	37.04	0.77±0.05	0.91±0.06
22	E-Anethole	38.83	3.18±0.11	3.78±0.13
23	Geranyl acetone	39.81	0.81±0.01	0.97±0.01
24	β -Ionone	42.76	2.52±0.19	3.00±0.22
25	Caryophyllene oxide	44.39	1.53±0.07	1.83±0.09
26	Thymol	47.96	0.52±0.16	0.62±0.19
27	4-Vinyl-2-methoxy-phenol	49.11	2.92±0.24	3.47±0.28
28	Methyl hexadecanoate	49.49	2.29±0.04	2.73±0.05
29	Decanoic acid	55.18	0.65±0.06	0.77±0.07
30	Dihydroactinidiolide	58.61	1.48±0.04	1.77±0.05
31	Lauric acid	61.11	0.95±0.06	1.13±0.08
32	Methyl linoleate	62.76	1.33±0.14	1.58±0.17
33	Linolenic acid methyl ester	65.01	1.80±0.04	2.14±0.05
Total			28.55±2.21	33.96±2.61

¹Each value is expressed as means±SD(n=3)

表 12、以超臨界二氧化碳萃取法所得篇蓄精油之主要揮發性成分
 Table 12. The chemical composition of essential oil from *Polygonum aviculare* L. by supercritical carbon dioxide extraction

Peak No.	Compound	Retention time	Peak area (%)
1	4-Methyl-2-pentenal	8.15	16.80
18	Furfural	26.91	0.05
19	Benzaldehyde	28.28	0.08
20	Crysanthenyl acetate	30.69	0.06
21	ar-Curcumene	37.11	0.09
22	<i>E</i> -Anethole	38.87	0.16
24	β -Ionone	42.79	0.22
25	Caryophyllene oxide	44.42	0.18
26	Thymol	48.05	0.07
29	Decanoic acid	55.14	0.70
31	Lauric acid	61.24	1.78
32	Methyl linoleate	62.76	2.37
33	Linolenic acid methyl ester	65.06	1.27
Total			23.82

¹Each value is expressed as means \pm SD(n=3)

層析圖譜

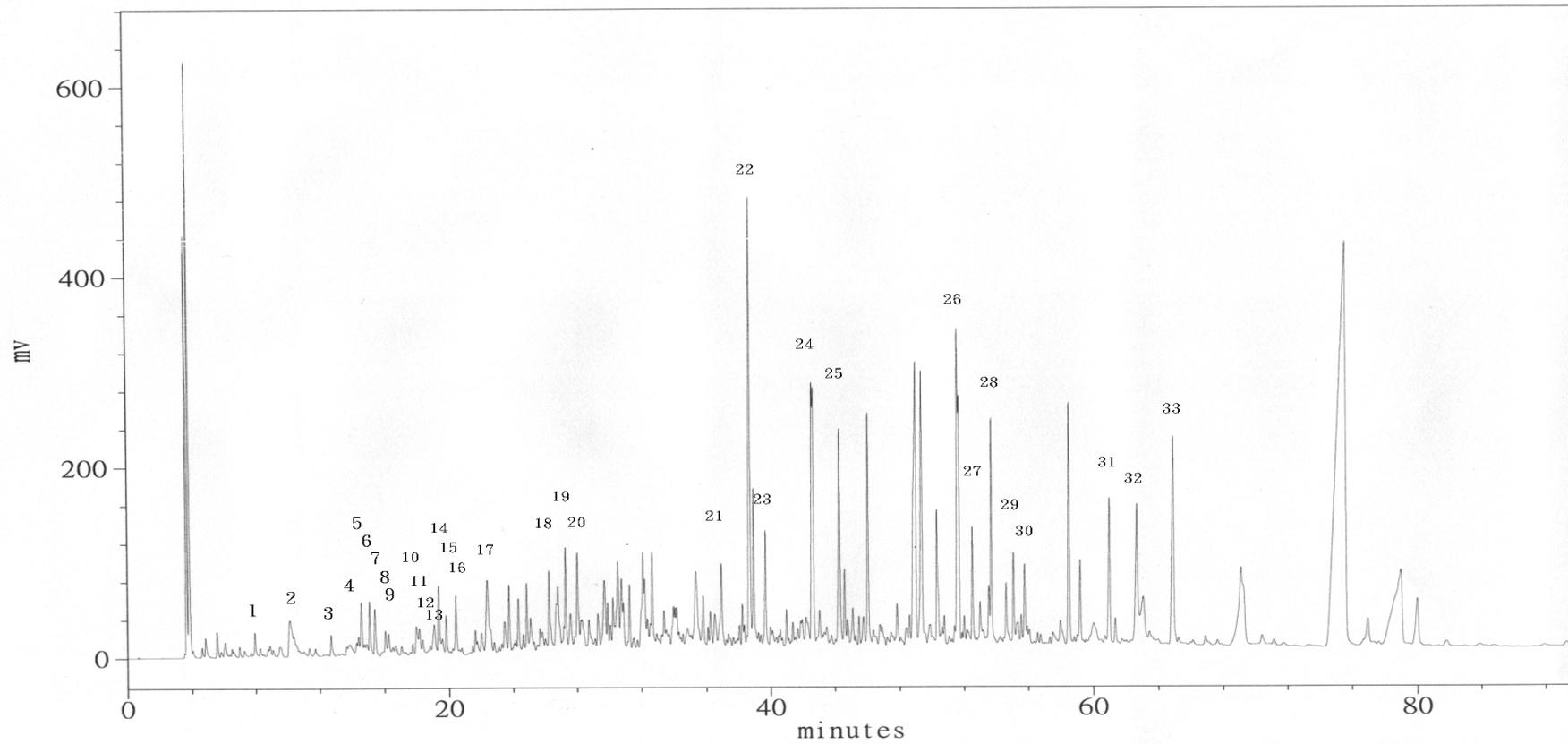


圖 80、篇蓄以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得揮發性氣相層析圖。

Fig80. Capillary gas chromatogram of volatile extracts from *Polygonum aviculare* L. by Likens-Nickerson extraction.

層析圖譜

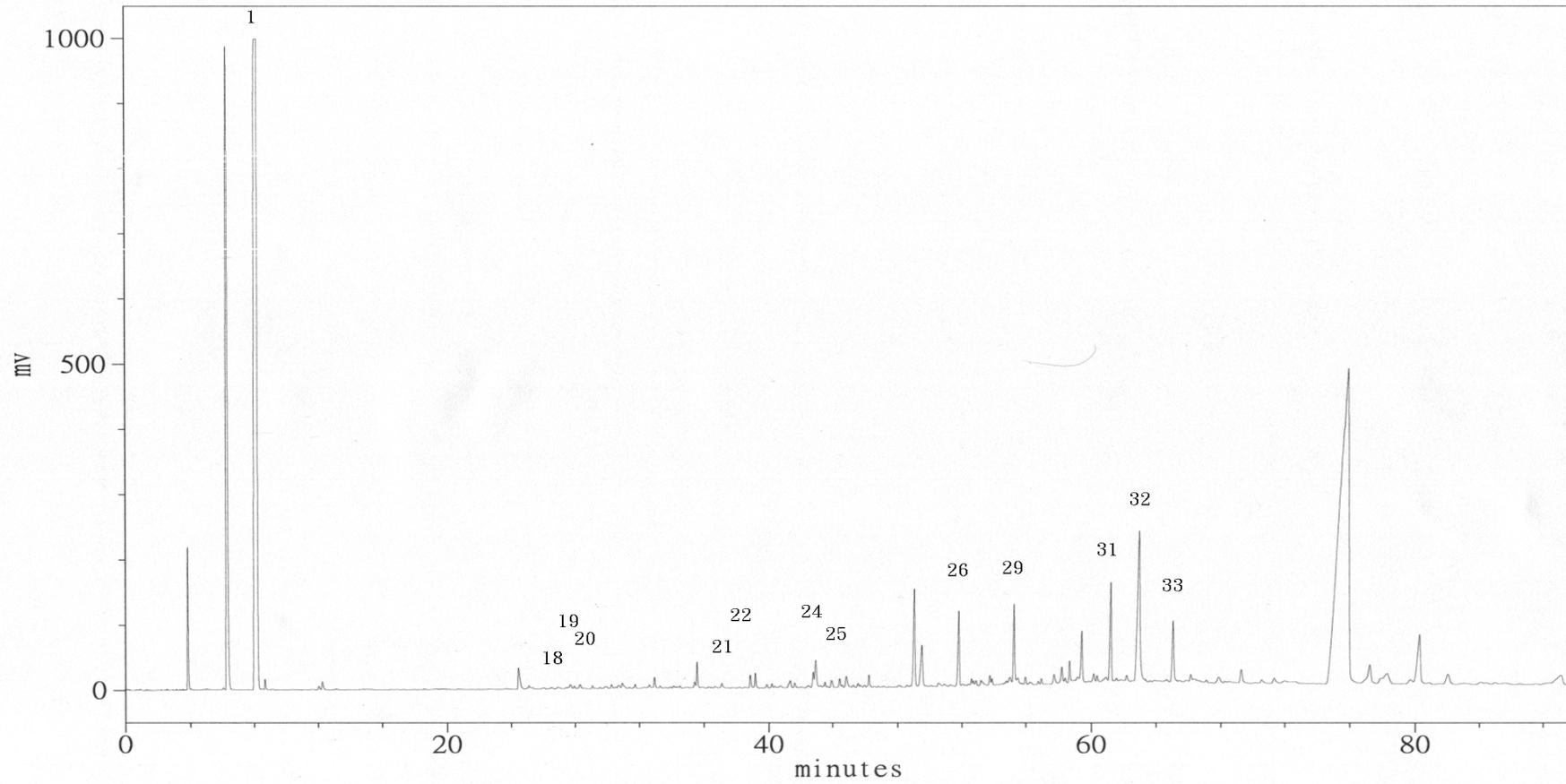


圖 81、蒨蓄以超臨界二氧化碳萃取法所得揮發性氣相層析圖。

Fig 81. Capillary gas chromatogram of volatile extracts from *Polygonum aviculare* L. by supercritical carbon dioxide extraction.

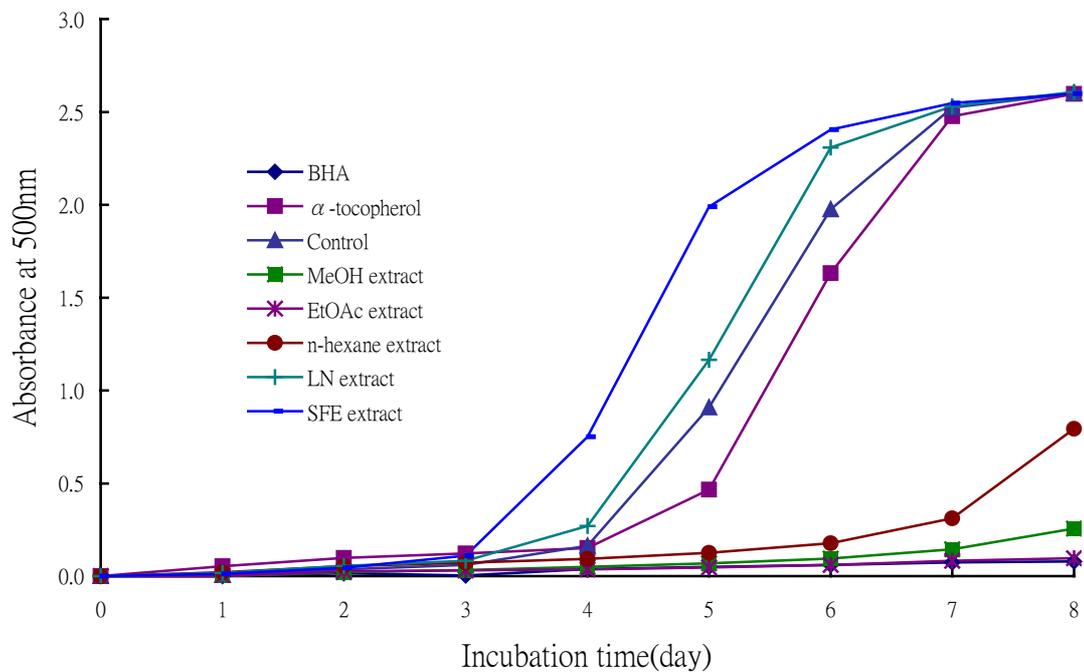


圖 82、蒨蓄以不同方法所得揮發性萃取物及溶劑萃取物之抗氧化性。

Fig 82. Antioxidative activity of the extracts from *Polygonum aviculare* L. by various extractions.

結 論

本研究以中藥-篇蓄 *Polygonum aviculare* L. 為材料，進行抗氧化成分及揮發性成分的分離、純化及結構鑑定。

篇蓄的乙酸乙酯萃取物經由分離純化鑑定後，獲得 4 個純化物質，分別為 luteolin-7- *O*- β -D-glucopyranoside (1)、apigenin 7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside (2)、apigetrin (apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside)(3)、quercetin-7,4'-*O*- β -D-diglucopyranoside(4) 等四種類黃酮配。

篇蓄揮發性萃取物鑑定出主要的 33 種化合物，其中醛類 10 種，醇類 7 種，酯類 4 種，酮類 3 種，其他 3 種酚型化合物，酸類 2 種，喃 2 種及 烯類 2 種。各種萃取物抗氧化性利用硫氰酸鐵法檢測，其強弱依序為 BHA > 乙酸乙酯萃取物 > 甲醇萃取物 > 正己烷萃取物 > α -生育醇 > 控制組 > 水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法 > 超臨界二氧化碳萃取法。