

第一章 前言

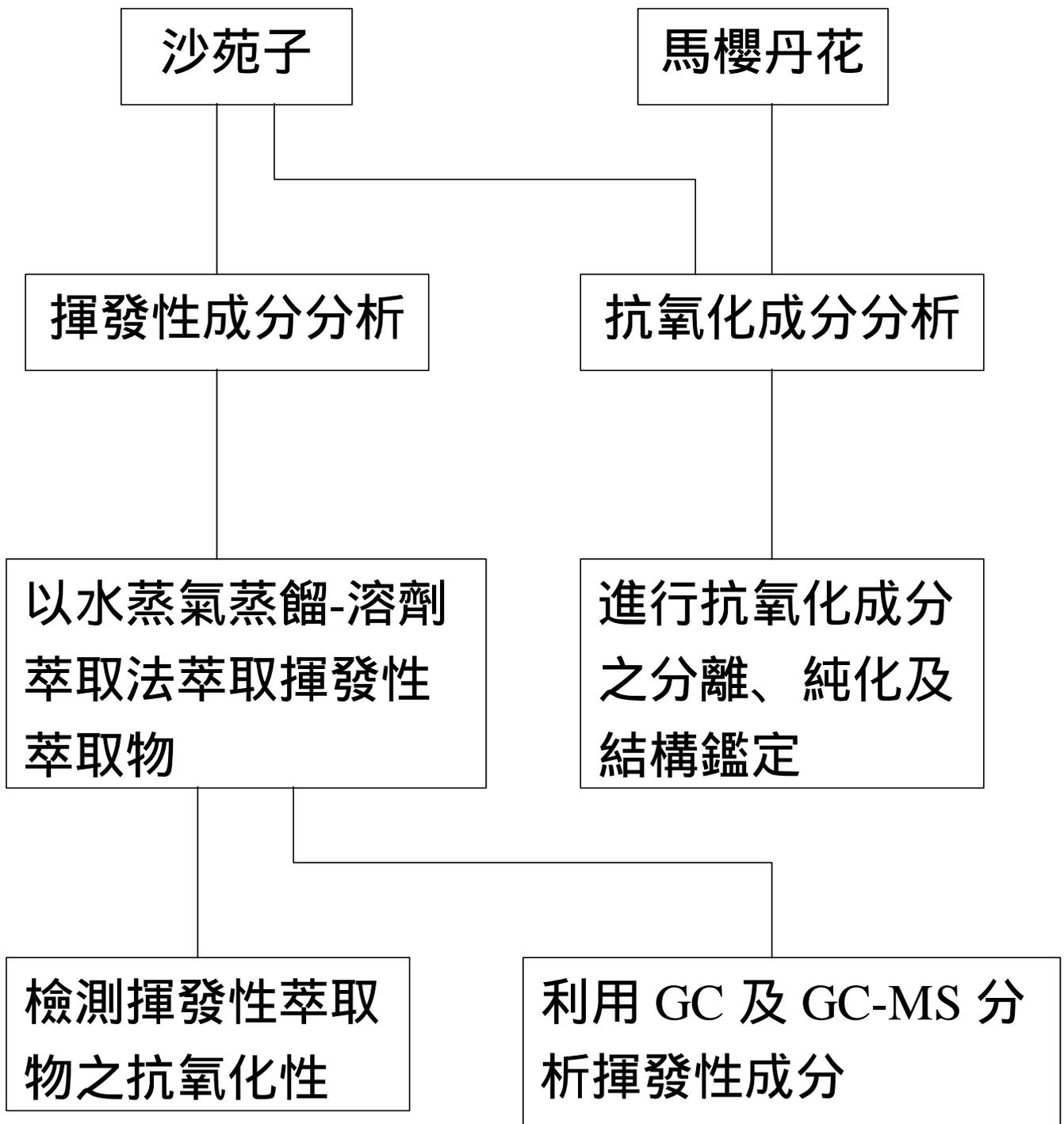
基於食品需要長期貯存及不能含有危害因子的兩大基本要求下，防止食品敗壞，尤其是防止食品所含脂質的氧化酸敗（rancidity）便成為食品業者在食品加工上特別關注的一個重大問題。

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（Branen，1975；Chang and Branen，1975；Imida 等，1983；Ito 等，1985 與 1986；Phillips 等，1989），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 (pepper)、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, 1995; 林, 1996)。

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近十五年，已稍具基礎，此次本研究以中藥沙苑子及馬櫻丹花為研究對象，一方面利用水蒸氣蒸餾溶劑萃取法(Likens-Nickerson extraction) 萃取沙苑子的揮發性萃取物進行化學組成之分析，並探討其抗氧化性；另一方面，基於嘗試開發天然抗氧化劑之目標，亦進行對沙苑子及馬櫻丹花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，實驗流程如圖一。



圖一、實驗設計流程圖

Fig. 1 Scheme of experimental design

第二章 抗氧化成分之研究

第一節 文獻整理

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, 這是因為脂質酸敗除了會產生油耗味及因脂質酸敗裂解而促使食品品質劣變外, 伴隨脂質酸敗所裂解的產物, 對生物體也有不良的影響 (白等, 1976、1978; Matsuo, 1954; 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的自氧化作用 (autoxidation)。這類型酸敗是最常見且最主要的油脂酸敗。

2. 自氧化作用 (autoxidation)

脂質自氧化作用是由於油脂所含戊二烯雙鍵中間之甲烯基

(-methylene group ; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) 上因某種外在因素失去一個氫原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)

藉由單重態氧 (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 (R) 及脂質自氧化自由基 (ROO) 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 (-methylene group ; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) 脫落一個氫原子，形成活性極高的脂質自由基。此步驟反應較慢，是脂肪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 (圖二) 的過程中與氧反應形成過氧化自由基 (ROO)，過氧化自由基再去攻擊其它不飽和脂肪酸，拔取其氫原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。圖三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 (圖四) ([Aller and Hanilton, 1983](#) ; [Frankel, 1984](#))。

3.脂質氧化與疾病

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；對生物體亦會造成腹瀉、食慾降低、生長遲緩、溶血性貧血及肝病等症狀，嚴重者甚至釀成中毒事件 ([金田與石井, 1953](#) ; [金田與渡邊, 1963](#) ; [Kubow, 1990](#))。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](#))。

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氫原子被拔除而形成自由基時，亦會誘發產生氧化連鎖反應，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; Buttriss, 1989; 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), 麩胱甘 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 (tocopherol, 生育醇)、維生素 C (ascorbic acid, 抗壞血酸)、類胡蘿蔔素 (-carotenoid), 麩胱甘、尿酸及膽汁酸等物質, 皆能中斷脂質過氧化的連鎖反應 (圖五)(五十嵐等, 1986)。在正常狀態下, 自然防禦系統即可完善的保護生物體(圖六), 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種種傷害。

4. 抗氧化劑

在油脂的自氧化反應過程中, 含多元不飽和脂肪酸脂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, 此時吸氧量仍繼續緩慢增加, 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顏色變深, 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, 造成食品營養成份的損失和食品品質的劣敗, 因而降低食品的商品價值 (Gardner, 1983)。

圖二 脂質自氧化連鎖反應

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

圖三 油脂自氧化的反應階段

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

圖四 油脂二級氧化產物

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

圖五 生物體中過氧化脂質之形成及抗氧化機制

Fig.5 Formation of lipid peroxides and mechanisms of
antioxidation *in vivo*.(五十嵐等 , 1986)

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（Coppen，1983；Hudson，1990）：

- (1) 低濃度即具有抗氧化效果
- (2) 適用性廣
- (3) 無感官上之不良影響
- (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：

4-1 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放出氫氧基上的氫原子，提供一個電子或直接提供一個氫原子與脂質氧化所生成如alkylperoxy radical（ROO·）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 (圖七) (Sherwin, 1978)。

此種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) (圖八) 等人工合成抗氧化劑為代表。

4-2 單重態氧之消光劑 (singlet oxygen quencher)

氧氣含量占空氣的 20.9%，其主要以較安定的基態三重態氧 (triplet oxygen, $^3\text{O}_2$) 狀態存在。在油脂氧化反應中，三重態氧只能與已脫去氫原子的脂肪酸作用或在脂肪加氧 (lipoxygenase) 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重態氧吸收而提升至氧的激發態單重態氧 (singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)，此單重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) 即為典型的單重態氧消光劑， β -胡蘿蔔素會吸收單重態氧的過多能量使其恢復較安定的三重態氧型態，藉由此降低單重態氧的含量，減少單重態氧直接與不飽和脂肪酸反應的機率 (Kellogg and Fridovich, 1975)。

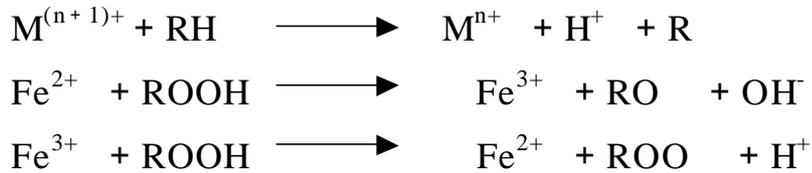
4-3 相乘劑 (synergist)

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

(Peter , 1990) 如 citric acid 及 ascorbic acid 等 (圖九)

4-4 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 (ethylenediaminetetraacetic acid , EDTA) (圖十) 及磷酸 (phosphoric acid) 衍生物等。

上述合成抗氧化劑 BHA、BHT 具有優異的抗氧化性及價格便宜、安定性佳等優點，但是自被發現有安全上的問題後，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(圖十一)，不過因其製造價格稍嫌昂貴且抗氧化性不及 BHA 及 BHT 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)。

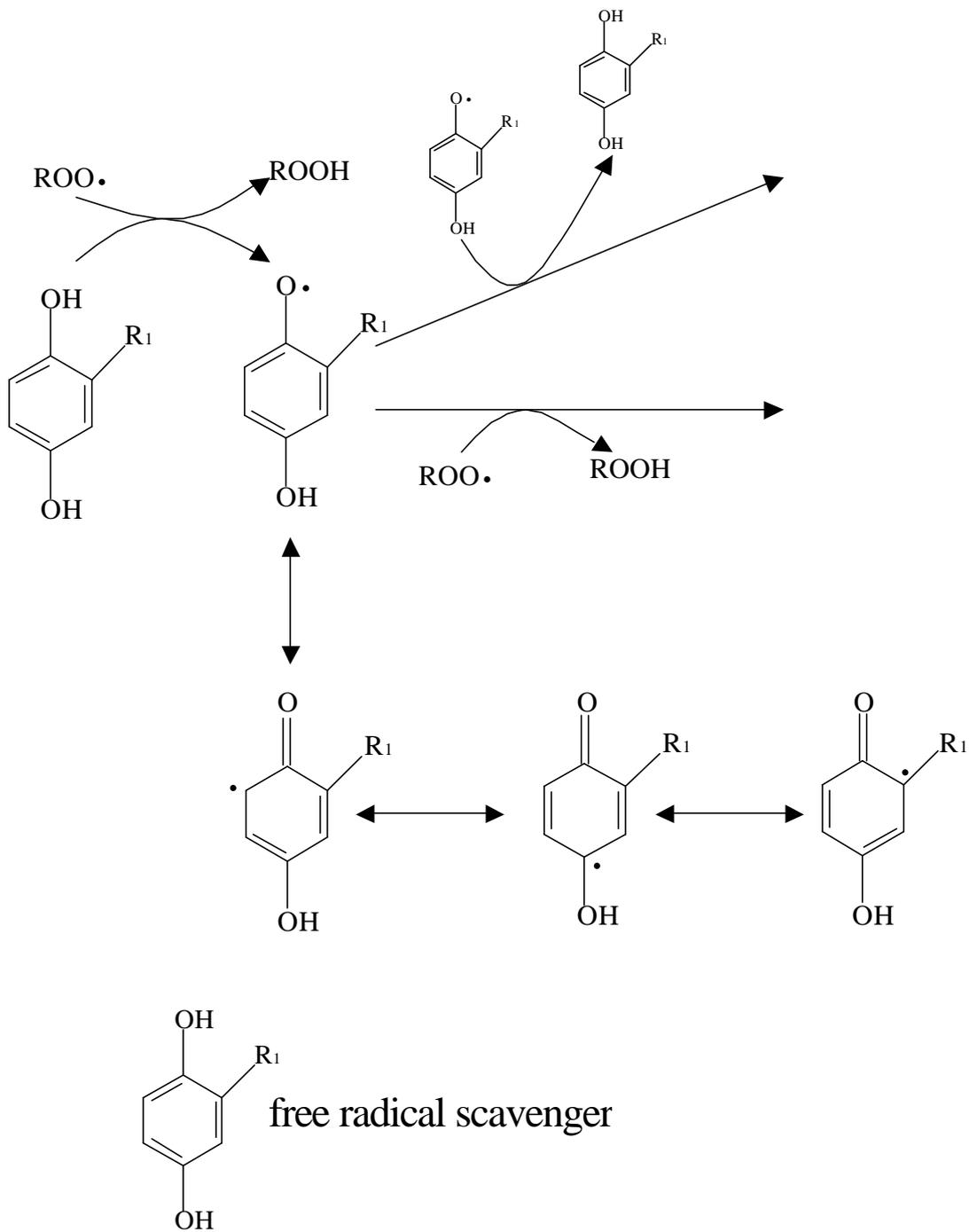
這些物質的存在是因植物暴露在可見光、紫外線及輻射的照射下，其對於活性氧及氧毒性（oxygen toxicity）的傷害特別敏感，因此植物組織中的成分便須扮演對抗氧自由基及激態分子（excited molecules）之角色，以防止組織受到傷害。Namiki（1990）將天然抗氧化物質如表一歸類。

表一 天然抗氧化物質

Table 1 Natural antioxidants

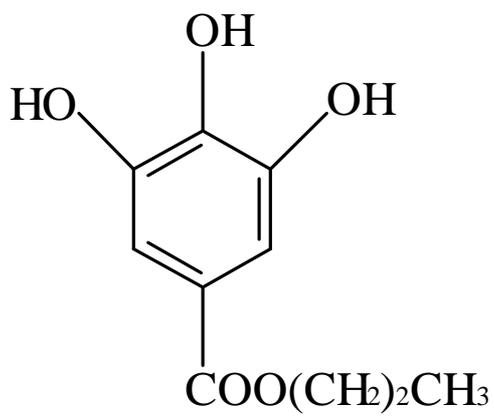
Plant	Oil seeds; Grains; Beans; Vegetables; Fruits; Leaf waxes; Bark and root
Spices	
Medicinal plants	
Seaweeds	
Microbial products	
Animal products	
Fermented products	
Protein hydrolysates	
Maillard reaction products	

(Namiki , 1990)

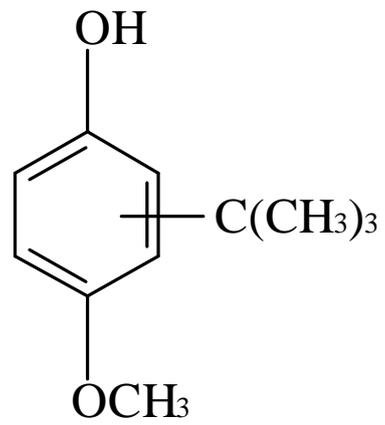


圖七 自由基清除劑之作用機制

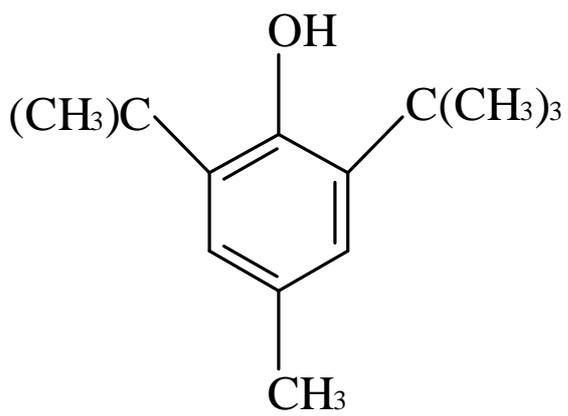
Fig.7 Mechanism of antioxidation for free radical scavenger.(Sherwin , 1978)



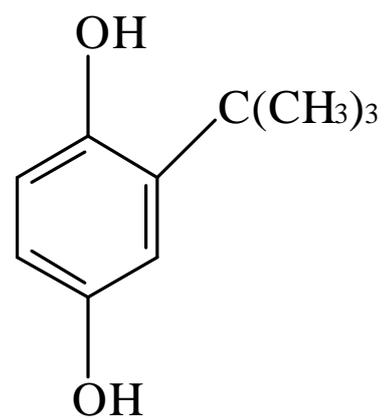
PG



BHA



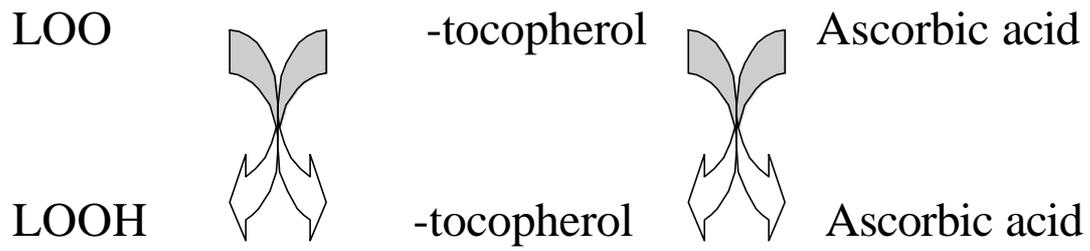
BHT



TBHQ

圖八 常用之人工合成抗氧化劑

Fig.8 Structures of main synthetic antioxidants

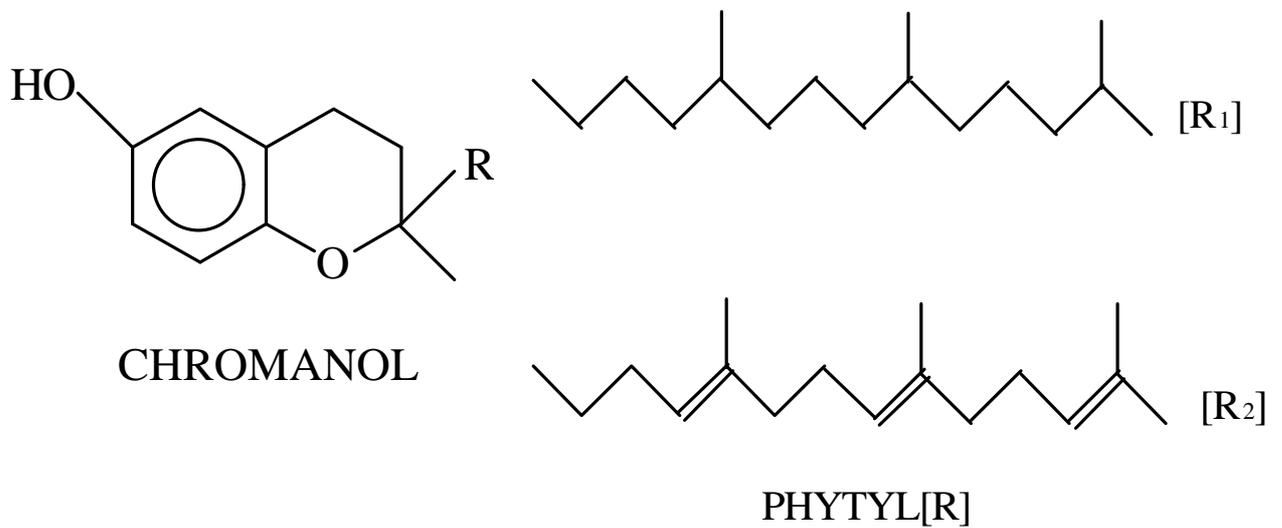


圖九 相乘劑之作用機制

Fig.9 Mechanism of antioxidation for synergist.

圖十 EDTA與金屬離子螯合物之結構圖

Fig.10 Structure of chelate formed between EDTA and metal ion.



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

圖十一 天然抗氧化劑生育醇之結構圖

Fig.11 Structures of natural antioxidant tocopherols.

(一) 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。Lyon (1972) Fukuda 等(1985、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、sesamolol、pinoresinol、sesamol dimer 等 lignans 類及 syringic acid、ferulic acid 等抗氧化物質(圖十二)。

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)。

(二) 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(圖十三)。

Igarashi 等 (1993) 在茄子 (*Solanum melongena* L.) 中純化 delphinidin-3-*p*-coumaroyl rutinoside 抗氧化效力頗強的抗氧化劑(圖十四)。

Lu 與 Foo (1999)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。

(三) 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 (7 β -)、epirosmanol (7 α -)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，其抗氧化效力可媲美 BHA(圖十五)。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。

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(圖十六)。

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。

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。

劉和蘇 (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(圖十七)。

(四) 茶葉

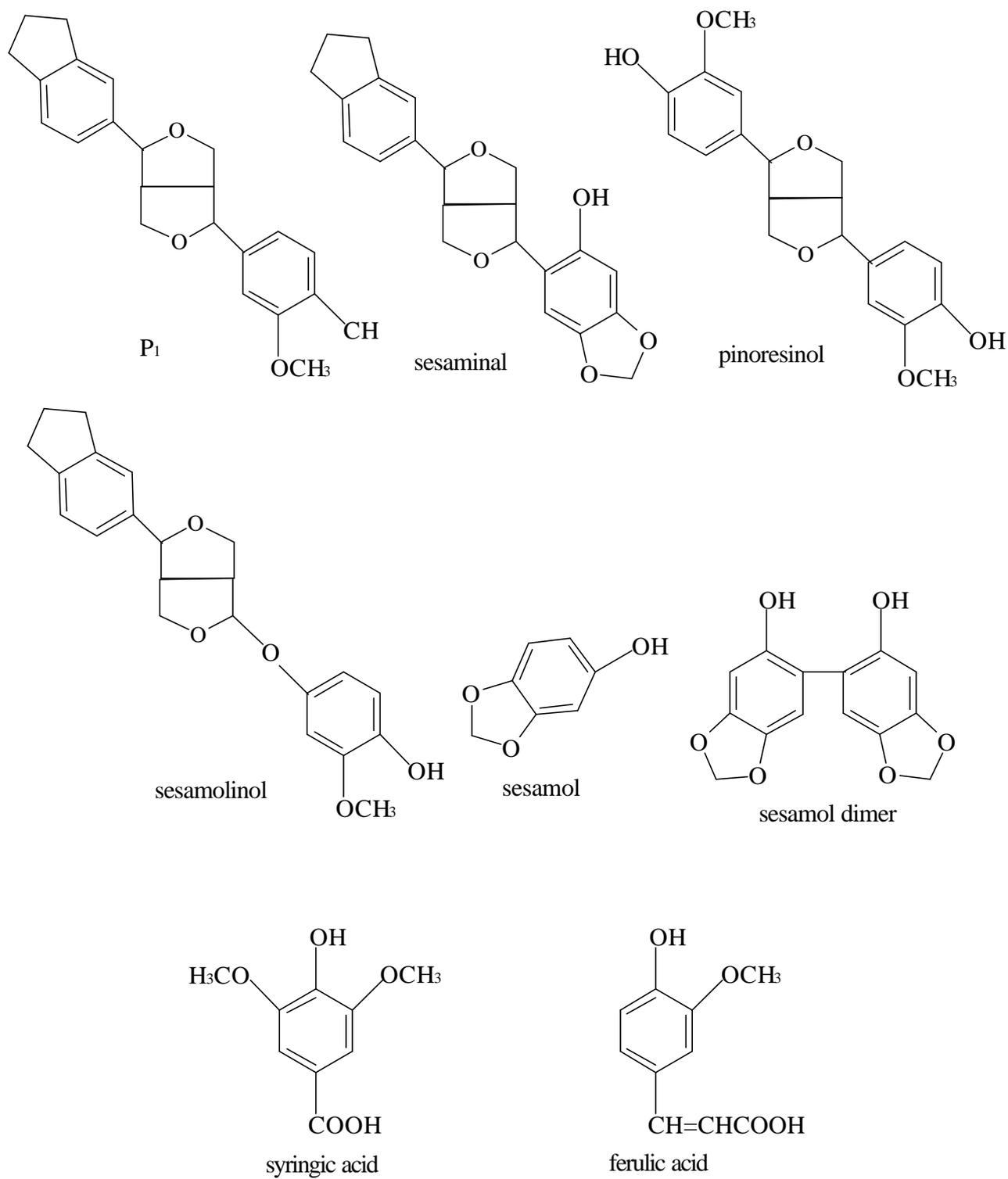
Hara 與 Kubota(1984) Matsuzaki 與 Hara(1985) Lee(1988) 從茶葉中分離純化並鑑定出強於 α -生育醇的抗氧化物 catechins 及 theaflavins。蘇等 (1991) 亦分析各種茶葉之 catechins 含量，並比較其抗氧化性與 catechins 之相關性。

(五) 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活性物質 2''(3'')-*O*-glycosyl isovitexin。

(六) 樹臘

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。



圖十二 芝麻之抗氧化成分

Fig.12 Structures of antioxidants in sesame seed(*Sesamum indicum* L.).

圖十四 茄子之抗氧化成分

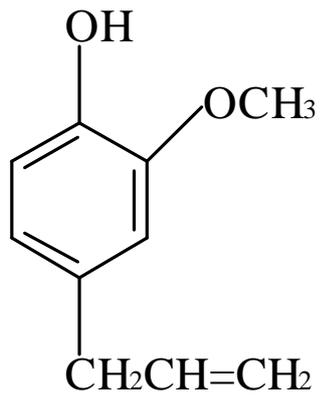
Fig.14 Structure of antioxidant in *Solanum melongena* L.

圖十五 迷迭香之抗氧化成分

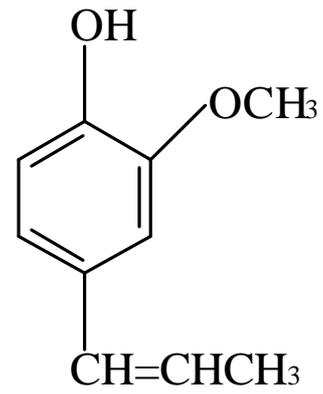
Fig.15 Structures of antioxidants in rosemary(*Rosmarinus officinalis* L.).

圖十六 披薩草之抗氧化成分

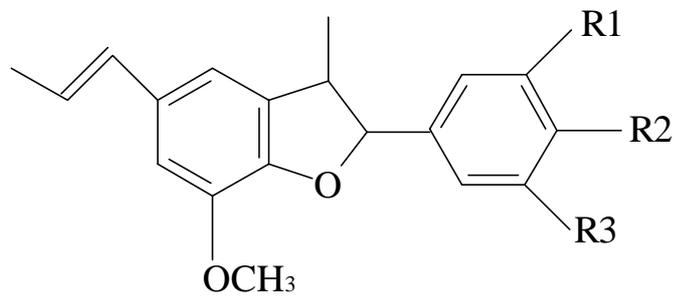
Fig.16 Structures of antioxidants in oregano(*Origanum vulgare* L.).



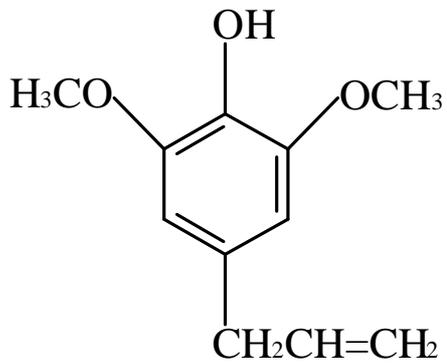
eugenol



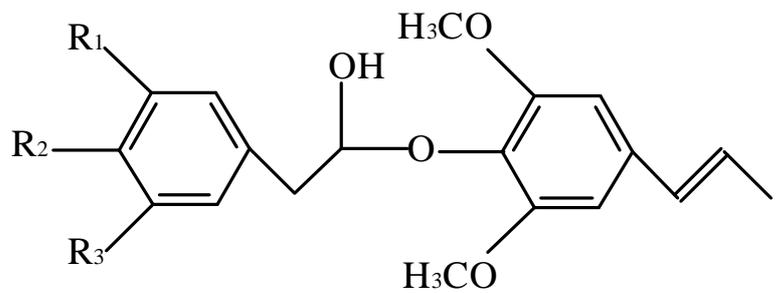
isoeugenol



diphenylpropanoid



6-methoxyeugenol



diphenylpropanoid

圖十七 肉豆蔻之抗氧化成分

Fig.17 Structures of antioxidants in Nutmeg

(七) 農產廢棄物

Ramarathnam 等 (1988、1989) 由稻殼 (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-glucoside 及 quercetin-3-O-(2-glucosyl-6-rhamnosyl-glucoside) 等二種非兒茶酚抗氧化成分(圖十八)。

樊和蘇 (1996) 從山竹果殼分離出 γ -mangostin 及 δ -mangostin。樊和蘇 (1997) 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) 亦自山竹果殼及鳳凰花分離、純化的抗氧化成分亦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。(圖十九)

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-glucose 等二種花青素，三者皆具抗氧化性。(圖二十)

(八) 中藥

Hirosue 等 (1978、1988) 及 Toda 等 (1984) 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)。(圖二十一、圖二十二)

孔 (1991) 從羌活氯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。(圖二十三)

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 (圖二十四、圖二十五)。

吳 (1995) 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(3*R*, 5*S*)-heptane 及抗氧化能力相當於 α -生育醇的 1,7-bis-4-hydroxyphenyl-3,5-dihydroxy(3*S*, 5*R*)-heptane(圖二十六)。

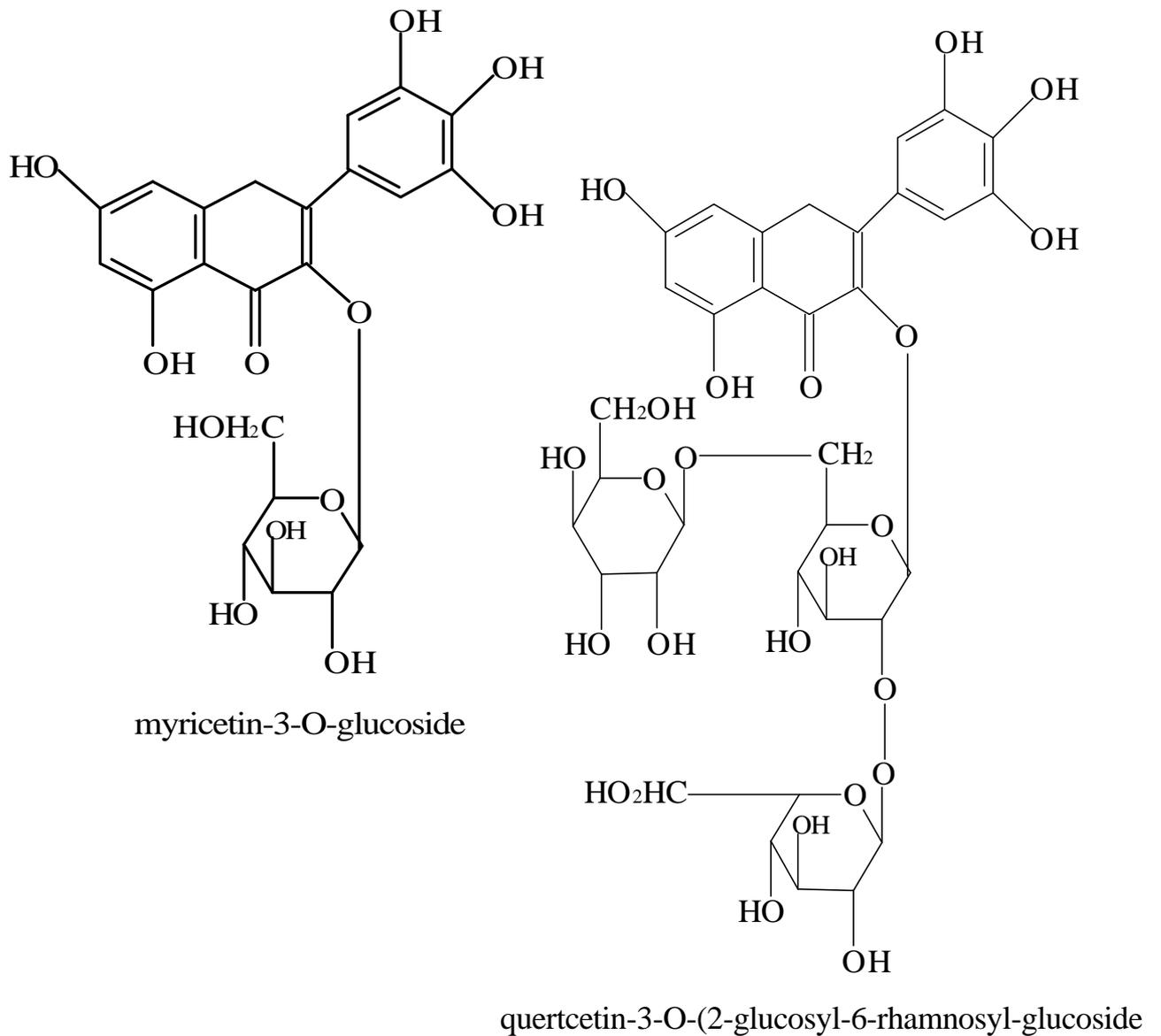
張和蘇 (1996) 從茵陳蒿甲醇萃取物中純化出相當 BHA 的黃酮素型抗氧化劑 quercetin-3-*O*-*D*-robinoside 及 isorhamnetin-3-*O*-*D*-robinoside(圖二十七)。

林 (1996) 從紅豆蔻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 (圖二十八)。

吳 (1998) 從高良薑乙酸乙酯萃取物中純化出 1,7-bis-diphenyl-3,5-diketo-2-heptene、1,7-bis-(4'-hydroxyl-3'-methoxyphenyl)-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(圖二十

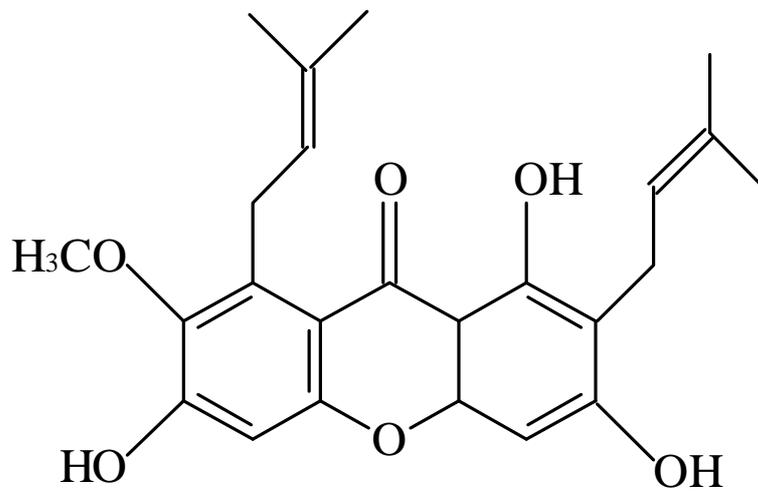
九)。

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)。

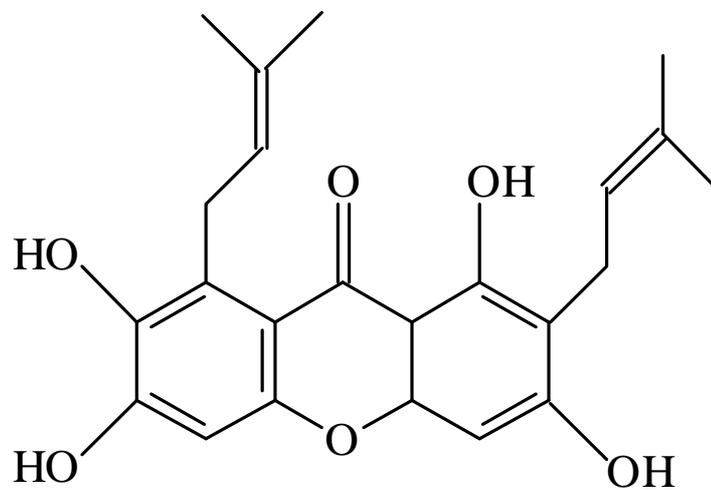


圖十八 茶梗之非兒茶素型抗氧化成分

Fig.18 Structures of noncatechin typical antioxidants in tea stalks.



-mangostin

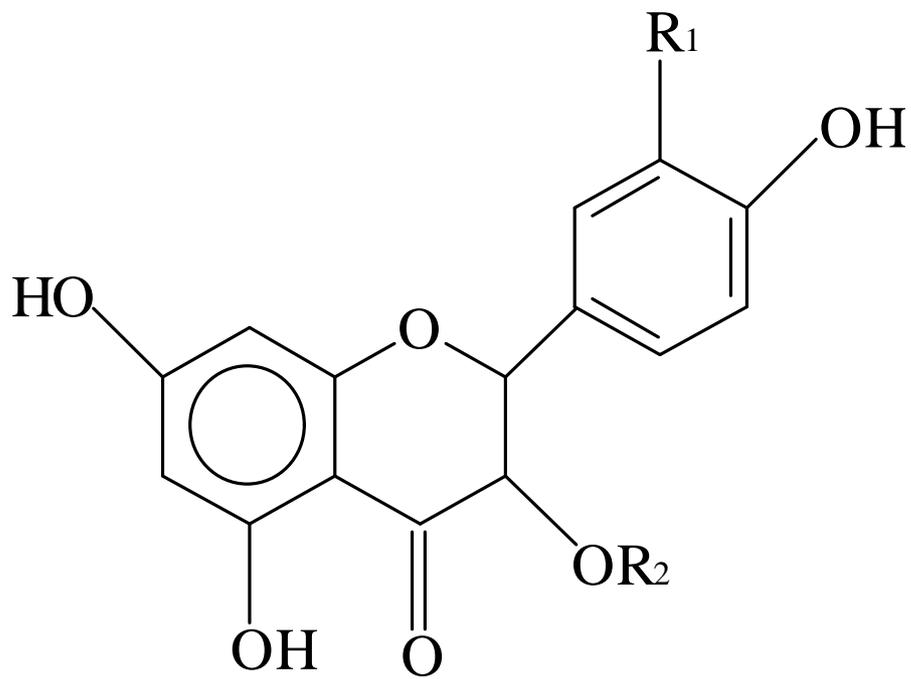


圖十九 山竹果殼之抗氧化成分

Fig.19 Structures of antioxidants in fruit hulls of *Garcinia mangostana* L.

圖二十 鳳凰花之抗氧化成分

Fig.20 Structures of antioxidants in flower of *Delonix regia*.



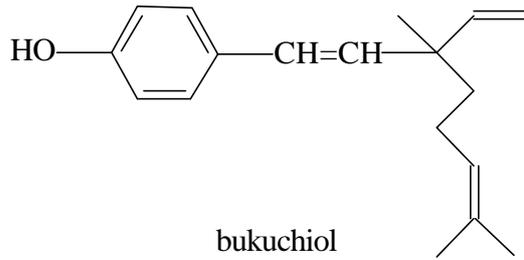
	R ₁	R ₂
1	H	H
2	OH	H
3	OH	g-D-glucopyranosyl-(1,6)-
4	OH	g-D-glucopyranosyl-(1,6)
5	H	g-D-glucopyranosyl-(1,6)

圖二十一 紫地丁之類黃酮素抗氧化成分

Fig.21 Structures of flavonoid antioxidants in *Osbeckia chinensis* L.

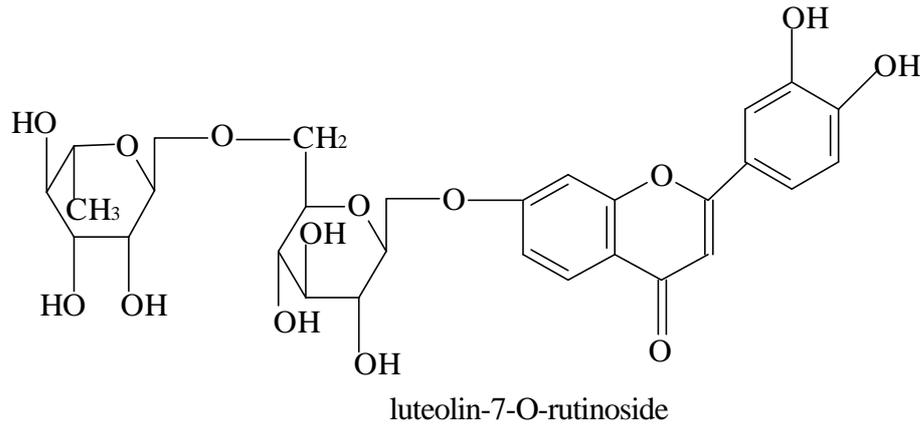
圖二十二 紫地丁之丹寧型抗氧化成分

Fig.22 Structures of tannin antioxidants in *Osbeckia chinensis* L.



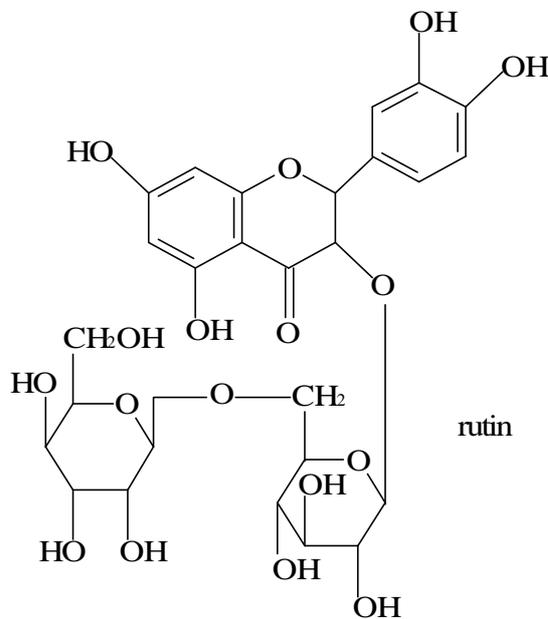
圖二十三 補骨脂之抗氧化成分

Fig.23 Structure of antioxidant in *Psoralea corylifolia* L



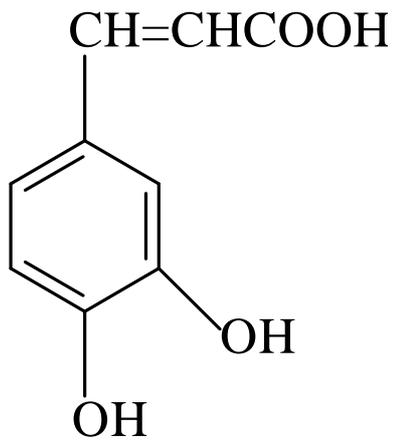
圖二十四 香薷之抗氧化成分

Fig.24 Structure of antioxidant in *Mosla formosana*.

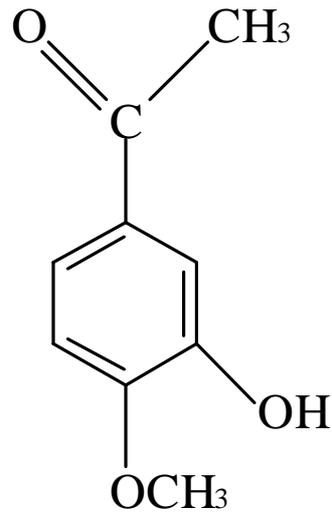


圖二十五 槐花之抗氧化成分

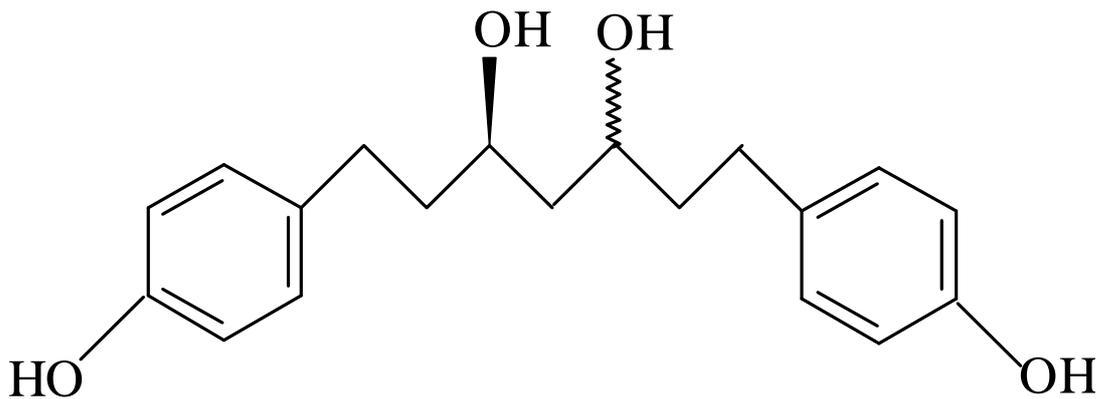
Fig.25 Structure of antioxidant in flower bud of *Sophora japonica* L.



caffeic acid



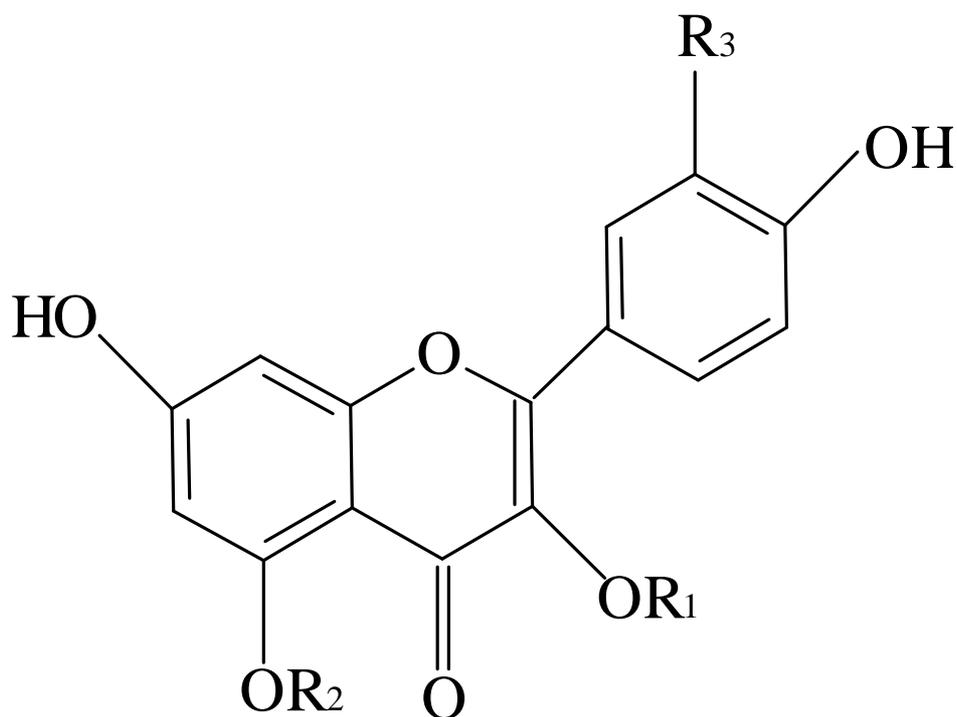
1-(4-hydroxy-4-methoxyphenol)-ethanone



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

圖二十六 草果之抗氧化成分

Fig.26 Structures of antioxidants in fruit of *Amomum tsao-ko* L.



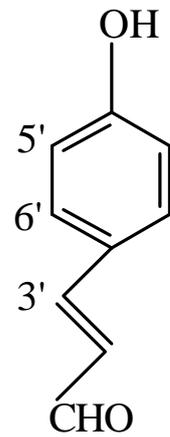
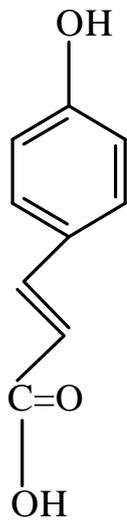
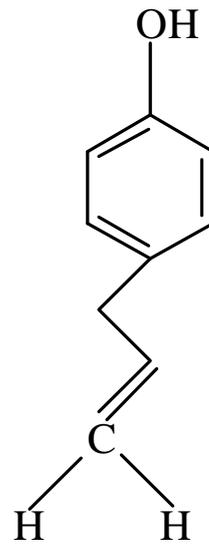
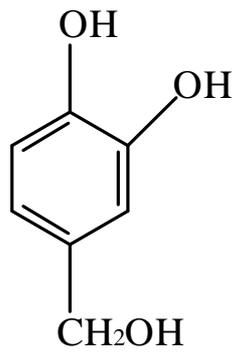
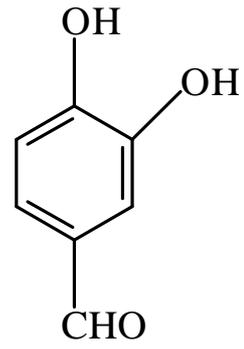
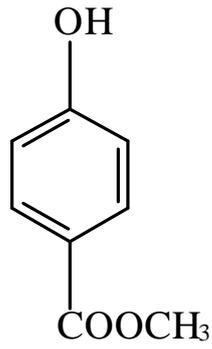
	R ₁	R ₂	R ₃
1	Gal(6 1)rha	H	OH
2	Gal(6 1)rha	H	OCH ₃

1 : quercetin 3-O-D-robinoside

2 : isorhamnetin 3-O-D-robinoside

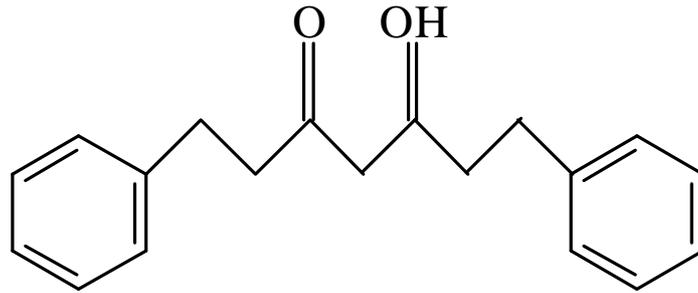
圖二十七 茵陳蒿之抗氧化性

Fig.27 Structures of antioxidants in *Artemisia capillaris* Thunb.

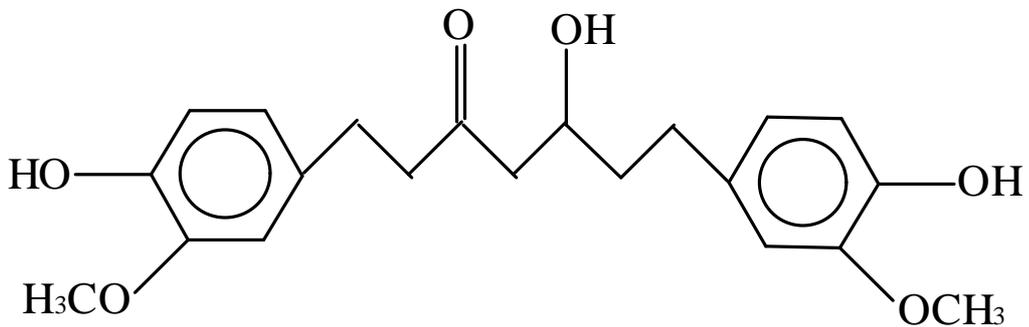


圖二十八 紅豆蔻之抗氧化成分

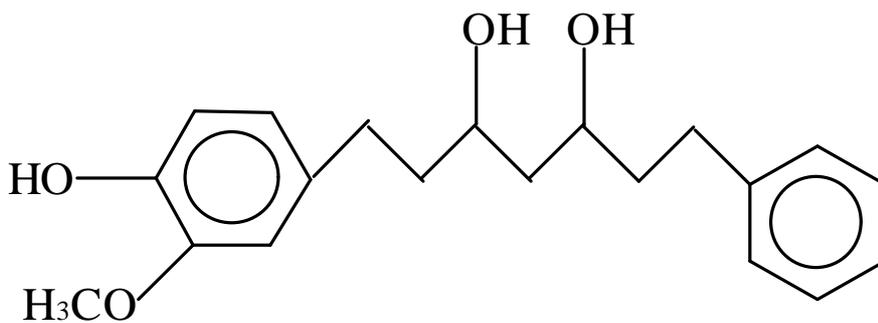
Fig.28 Structures of antioxidants in fruit hulls of *Alpinia galanga*.



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

圖二十九 高良薑之抗氧化成分

Fig.29 Structures of antioxidants in Rhizoma of *Alpiniae officinarum*.

第二節 沙苑子抗氧化成分之研究

材料介紹

沙苑子

為豆科植物扁莖黃 (*Astragalus complantus* R. Br) 之種子，腎臟形而稍扁，長約2毫米，寬約1.5毫米，厚不足1毫米(圖三十)。表面為灰褐色或褐綠色，光滑；一邊微向內凹陷，質堅硬不易破碎，子葉兩枚淡黃色，略微橢圓形，胚根彎曲，無臭，味淡。別名沙苑蒺藜、沙苑白蒺藜、潼蒺藜、夏黃草等，性味甘、溫，無毒。為強壯劑，功能補肝、益腎、明目、固精。主治：肝腎虛損，腰膝疼痛，目暗不明，遺精早洩，小便失禁；魏等(1995)指出其內含有植物固醇、rhamocitrin-3-O- β -D-glucopyranoside、astragalin、kämpferol、neocomplanoside及myricetin等類黃酮成分 (魏等，1995)。而其總黃酮類化合物對老鼠體內外均表現明顯的抗血小板凝集作用，其他生理活性則未述及。

圖三十 沙苑子之圖片

Fig.30 Seeds of *Astragalus complantus*

材料與方法

一、實驗材料與使用儀器

1. 實驗材料

本實驗所使用之沙苑子藥材係於一九九九年十二月購自沙鹿鎮德成中藥行。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 20mesh 篩網孔之粗粉。

2. 分析試劑及溶劑

實驗用之甲醇（methanol, MeOH）、乙酸乙酯（ethyl acetate, EtOAc）、正己烷（*n*-hexane）、正丁醇（*n*-butanol）、丙酮（acetone）購自我國皓峰公司， α -生育醇（ α -tocopherol）、重氫甲醇（CD₃OD）、重氫氯仿（CDCl₃）及丁基羥基甲氧苯（butylated hydroxyanisol, BHA）購自美國 Sigma 公司，氯化亞鐵（FeCl₂）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 Wako 公司。亞麻油酸經充氮減壓蒸餾後，分裝於 2 毫升褐色指形瓶中貯存於-20 冷凍庫備用，每隔二個月重新蒸餾再製。

3. 使用儀器

3-1 旋轉式減壓濃縮機

使用日本 Tokyo Rikakikai 公司的 EYELA 型濃縮機。

3-2 紫外線-可見光吸光光譜儀

使用日本 Hitachi 公司的 UV2000 Spectrophotometer。

3-3 質譜儀

使用日本電子公司（JEOL）JMS/SX/SX 102A 質譜儀。

3-4 核磁共振光譜儀

使用 VXR-300/51 型核磁共振光譜儀（¹H-NMR 以 600MHz、

$^{13}\text{C-NMR}$ 以 150MHz 檢測。檢測溶劑為 CD_3OD 或 CDCl_3 ，並以 TMS (tetramethylsilane) 充當比較基準點，光譜解析以 δ 表示化學位移 (chemical shift); 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)。

二、實驗方法

1. 抗氧化性檢測

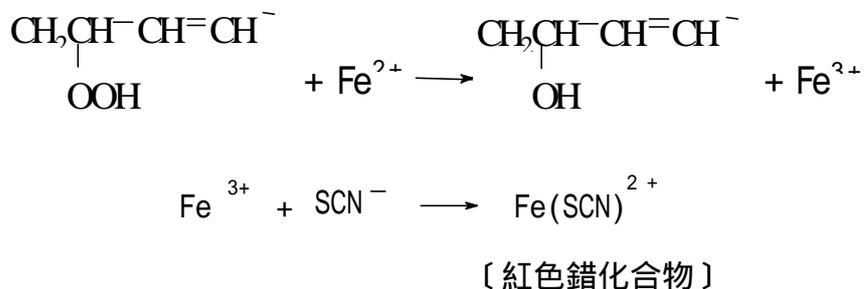
本實驗採用對脂質氫過氧化物反應極為靈敏之硫氰酸鐵法 (ferric thiocyanate method) (滿田等, 1967; 蘇等, 1991) 作為抗氧化性的檢測方法(圖三十一)。

將欲檢測物質、 α -生育醇及丁基羥基甲氧苯分別配製成濃度為 1 毫克/毫升之乙醇溶液，各取 0.2 毫升加入具有磨砂蓋子的 50 毫升三角錐型瓶中，對照組則僅加入等量乙醇 (0.2 毫升) 於三角錐型瓶中，再分別加入 0.13% 之亞麻油酸乙醇溶液 10 毫升及 $1/30\text{M}$ pH 7.0 之磷酸緩衝液 10 毫升，最後以去離子水定量至 25 毫升。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 毫升至含有 9.4 毫升 75% 乙醇水溶液的試管中，再依次加入氯化亞鐵鹽酸溶液 ($2.45 \times 10^{-2}\text{g FeCl}_2 / 10\text{ml } 3.5\% \text{HCl}$) 0.2 毫升，硫氰酸銨溶液 ($3\text{g NH}_4\text{SCN} / 7\text{ml dist. H}_2\text{O}$) 0.2 毫升。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 [$\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$]，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，並可獲知抗氧化效力強弱。



2. 沙苑子抗氧化成分之萃取、分離及純化

沙苑子抗氧化成分分離流程示如圖三十二。

2-1 萃取與粗分離

將磨碎之沙苑子 5 公斤依序以甲醇重覆萃取三次，經過濾收集其濾液，再依序用正己烷、乙酸乙酯及正丁醇以分液漏斗分層萃取後，利用旋轉式減壓濃縮機在低於 40℃ 下濃縮至黏稠狀態。

2-2 第一次矽膠液相管柱層析 (The first silica gel liquid column chromatography)

首先以 Silica gel 60 樹脂 (70-230 mesh, 德國 Merck 公司), 充填於玻璃管柱 (6.5 × 70cm), 再將沙苑子乙酸乙酯萃取物充填至管柱最上層, 依次利用正己烷: 乙酸乙酯 (v/v) = 100:0、80:20、60:40、40:60、20:80、0:100 及乙酸乙酯-丙酮 (v/v) = 50:50、0:100 沖提液每 500ml 收集一瓶, 並以紫外線吸光光譜儀檢測 280nm 吸光值, 而區分成 6 個區分。各區分分別濃縮後, 以硫氰酸鐵法檢測抗氧化性。

2-3 乙酸乙酯萃取物 沖提區分之第二次矽膠液相管柱層析 (The second silica gel liquid column chromatography)

將經矽膠液相管柱層析分離後, 具有抗氧化性之區分 經減壓濃縮後, 置入充填於矽膠液相管柱進行層析, 其沖提條件依序為正己

烷：乙酸乙酯 (v/v) = 70 : 30、 65 : 35、 60 : 40、 55 : 45、 50 : 50 ,
收集每一區分沖提液，濃縮後以分析型 HPLC 管柱來檢測，選擇沖提
液為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 65 : 35(-2)之區分收集物來進行分
離純化。

2-4 高效液相層析 (High performance liquid chromatography , HPLC)

將上述具抗氧化性之區分 -2 利用高效液相層析進行分析時，先
以分析型高效液相層析找尋分離條件，再以找到之條件套用於製備型
高效液相層析，重複分離抗氧化成分。將經高效液相層析分離之各區
分濃縮後，進行結構之鑑定。高效液相層析條件敘述如下：

分析型高效液相層析

管柱：Develosil silica 30-5

(4.6 × 250mm , 日本 Nomura 化學公司)

沖提液：n-hexane : EtOAc (v/v)

60 : 40

流速：1.0ml/min

偵測器：UV 265nm

製備型效液相層析

管柱：Develosil silica 30-5 及 60-5

(20 × 250mm , 日本 Nomura 化學公司)

沖提液：n-hexane : EtOAc (v/v)

60 : 40

流速：5.0ml/min

偵測器：UV 265nm

3.沙苑子抗氧化成分之構造鑑定

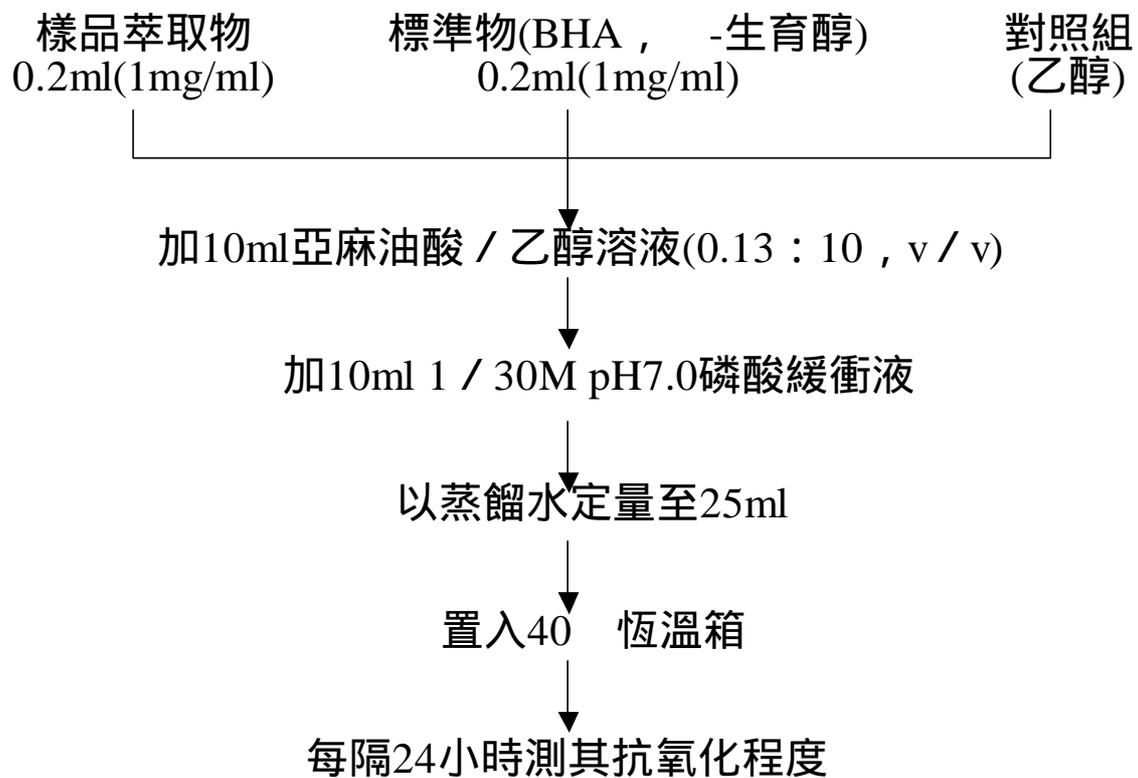
依序檢測：

3-1 ^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 CDCl_3 或 CD_3OD 中，以 VXR-300/51 型核磁共振光譜儀 (^1H -NMR 以 600MHz 、 ^{13}C -NMR 以 150MHz) 測定。分別獲得其 ^1H -NMR 及 ^{13}C -NMR 光譜。

3-2 質譜檢測

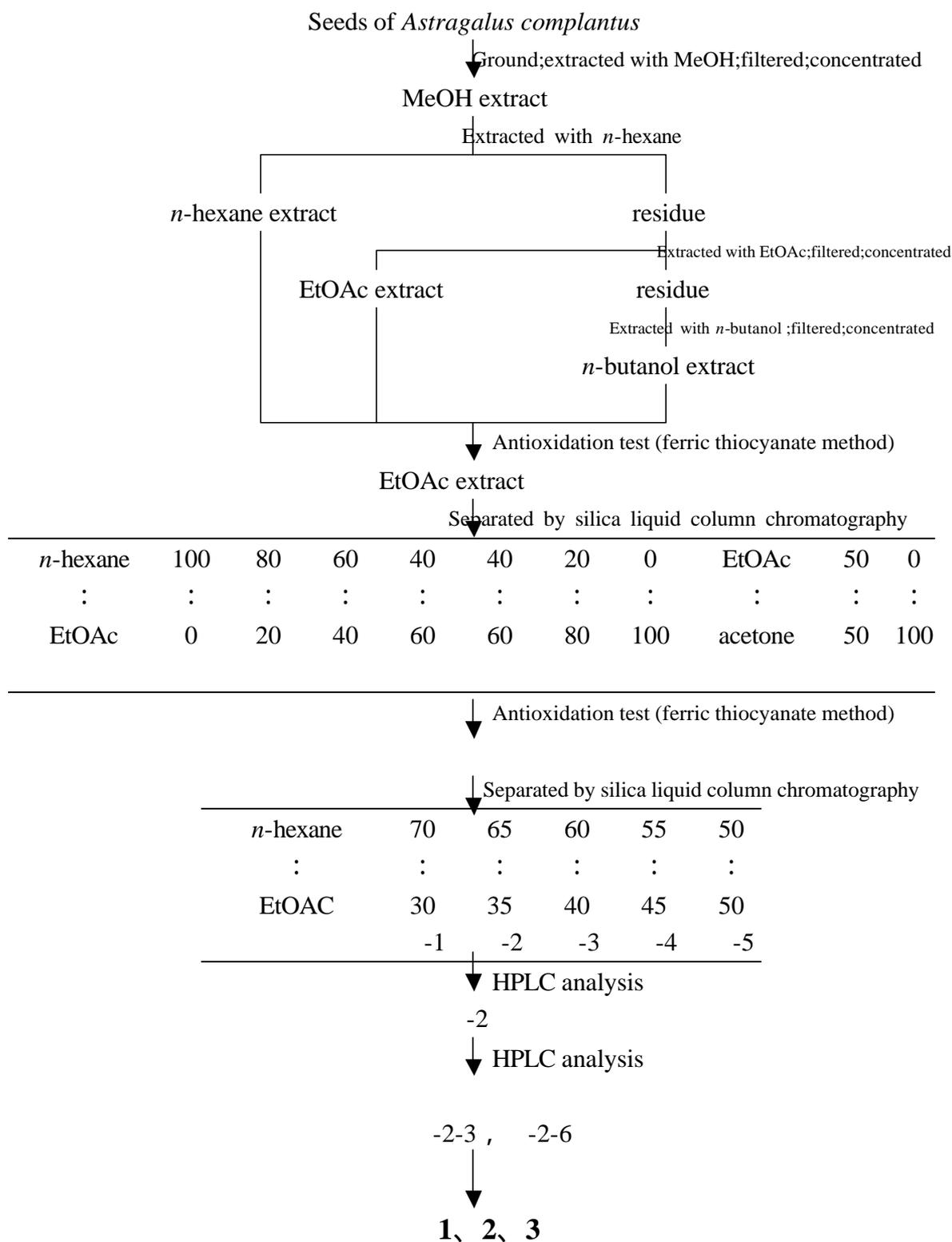
分子量之測定使用的為電子撞擊質譜法(electron impact, EI)及快速原子撞擊游離法質譜 (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometer, FAB-MS)。以硫代甘油或 NBA 為介質，中性的 Xenon 原子束為主要游離源。使用的質譜儀為 JMS/SX/SX 102A (JEOL) 質譜儀。



1. 取上述溶液 0.2ml
2. 加入75 % 乙醇9.4ml
3. 加入硫氰酸鉍溶液
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

圖三十一 硫酸氰鐵法之測定流程圖

Fig.31 Analytic procedure for the ferric thiocyanate method.



圖三十二沙苑子抗氧化研究之流程圖

Fig.32 Scheme on separation and isolation of typical antioxidants from seeds of *Astragalus complantus*

結果與討論

一、沙苑子抗氧化成分之萃取、分離及純化

1. 各種溶劑萃取物之抗氧化性

沙苑子經磨碎後，所得的粗粉末先經過甲醇重複萃取三次，過濾後收集其濾液，經減壓濃縮機濃縮後，所得的甲醇濃縮液依序以正己烷、乙酸乙酯及正丁醇分層萃取，過濾後所得濾液以減壓濃縮機濃縮，再分別利用硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性，結果以乙酸乙酯萃取物之抗氧化性較佳，因此選取乙酸乙酯萃取物進行液相管柱層析分離(圖三十三)。在本研究室曾經分析過的香辛中藥中乙酸乙酯萃取物顯示較高活性的有肉豆蔻、高良薑，而在香薷、草果、茵陳蒿、紅豆蔻等香辛中藥中則以甲醇萃取物較具抗氧化性。(劉和蘇，1996；吳，1998；洪，1994；吳，1995；張和蘇，1996；林，1996)

2. 第一次矽膠液相管柱層析

沙苑子乙酸乙酯萃取物首先利用充填矽膠之管柱進行液相管柱層析，其沖提液條件依序為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 100 : 0、80 : 20、60 : 40、40 : 60、20 : 80、0 : 100 及乙酸乙酯 - 丙酮 (v/v) = 50 : 50、0 : 100 沖提液以每瓶 500 毫升為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線可見光吸光光譜儀掃描波長 280 nm 之吸光值對收集瓶作圖，共可細分成六個區分(圖三十四)。這些沖提區分經濃縮後，以硫氰鐵法檢測其抗氧化性。其結果示於(圖三十五)，其中以區分顯示其抗氧化性較強，故選取區分 繼續進行抗氧化成分之分離。

3. 乙酸乙酯萃取物 沖提區之第二次矽膠液相管柱層析

區分 以充填著矽膠(silica-60)之液相管柱進行層析，其沖提液條件依序是正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 70 : 30、65 : 35、60 : 40、55 : 45、50 : 50，每一沖提條件收集濾液 500 毫升後濃縮，再分別以高效液相管柱層析進行分析，由分析結果顯示除了沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 65 : 35(-2)的波峰區隔較明顯且量較多，故選擇沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 65 : 35(-2)進一步的純化、分離。

4. 乙酸乙酯萃取物 -2 沖提區之高效液相層析分離純化

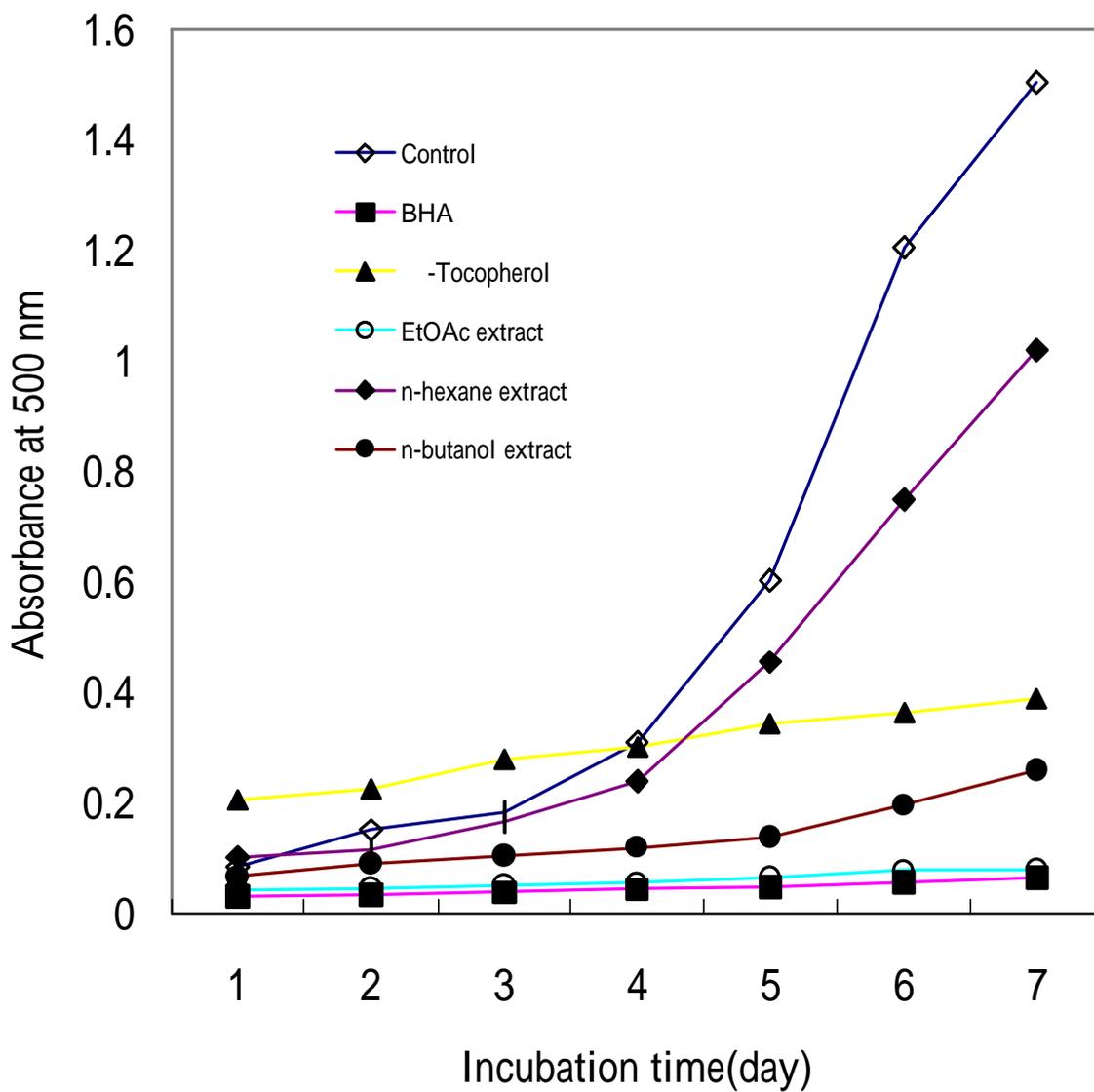
首先以紫外線吸收光譜儀掃描區分 -2 區，發現 -2 之最大吸收波長為 265nm，以其最大吸收波長作為高液相層析之 UV 檢測器的檢測波長。

將區分 -2 濃縮乾後，以適量乙酸乙酯溶解，並經 0.45 μm 之過濾膜過濾。 -2 以分析型高效液相層析儀(管柱：Develosil silica 30-5，檢測波長：265nm，流速：1 ml/min)找尋良好的分離條件為正己烷：乙酸乙酯 = 60：40 (v/v)，再以相同條件之製備型高效液相層析儀(管柱：Develosil silica 30-5，檢測波長：265nm，流速：5 ml/min)進行分離其中抗氧化成分後得 2 個區分(-2-3 及 -2-6)(圖三十六)，以相同之條件利用製備型高效液相層析儀(管柱：Develosil silica 60-5，檢測波長：265nm，流速：5 ml/min)進行分離純化之工作，獲得純化物質 1、2、3。

純化物質 a 的純化條件：沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 = 60：40 (v/v)，檢測波長：265 nm，純化出 1 物質 peak 的滯留時間為 33.72 分鐘，重複收集後再濃縮即為純化物質 1。(圖三十七)

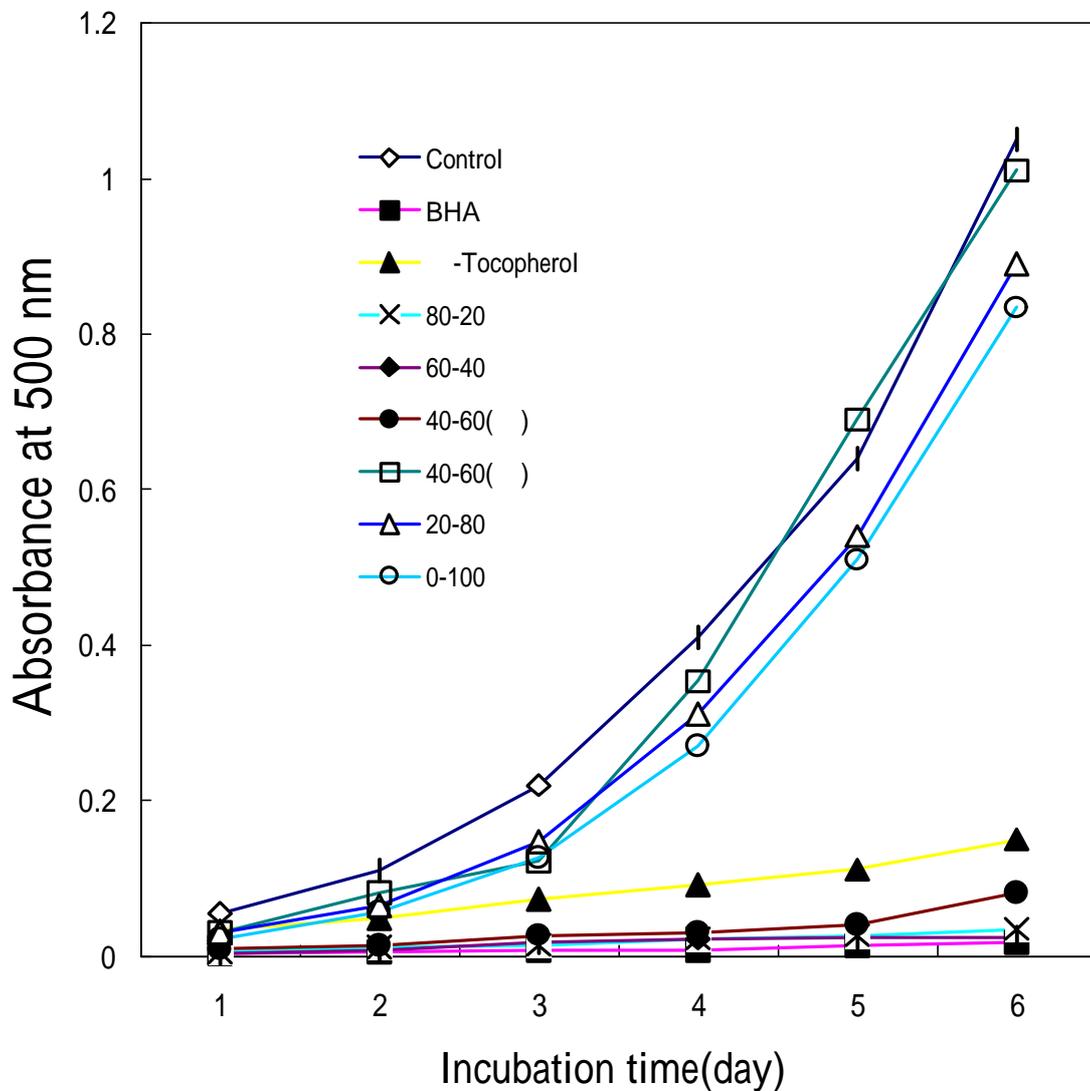
純化物質 2 的純化條件：沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 = 60：40 (v/v)，檢測波長：265 nm，純化出 2 物質 peak 的滯留時間為 47.74 分鐘，重複收集後再濃縮即為純化物質 2。(圖三十七)

純化物質 3 的純化條件：沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 = 60：40 (v/v)，檢測波長：265 nm，純化出 3 物質 peak 的滯留時間為 104.80 分鐘，重複收集後再濃縮即為純化物質 3。(圖三十八)



圖三十三 沙苑子各種溶劑萃取物之抗氧化性

Fig.33 Antioxidative activity of extracts from seeds of *Astragalus complantus*.



圖三十五 沙苑子乙酸乙酯萃取物經第一次矽膠液相管柱層析後各沖提區分之抗氧化性

Fig.35 Antioxidative activity of elution fractions from ethyl acetate extract of seeds of *Astragalus complantus* by the first silica liquid column chromatography.

圖三十六 沙苑子以酸乙酯萃取物 -2 沖提區分之二元液相
層析圖

Fig.36 Preparative HPLC chromatogram of fraction -2
separated from EtOAc extract of seeds of *Astragalus
complantus*.

圖三十七 沙苑子以酸乙酯萃取物 -2-3 沖提區分之高效液
相層析圖

Fig.37 Preparative HPLC chromatogram of fraction -2-3
separated from EtOAc extract of seeds of *Astragalus
complantus*.

圖三十八 沙苑子以酸乙酯萃取物 -2-6 沖提區分之高效液
相層析圖

Fig.38 Preparative HPLC chromatogram of fraction -2-6
separated from EtOAc extract of seeds of *Astragalus
complantus*.

二、沙苑子純化物質之結構鑑定

1. 純化物質 1 之結構鑑定

純化物質 1 為深黃色液狀物，UV 光譜 $\lambda_{\max}(\text{MeOH})$ (圖三十九) 顯示 301.0, 312.5 nm 亦為苯環接多重共軛之 K band 吸收。質譜(m/z) (FAB-MS, 圖四十)表示分子離子波訊為 611(M-H, 3 %)⁺, 147(*p*-coumaric acid-OH, 100 %)⁺為最主要的離子斷裂波峰。

¹H-NMR 光譜上(600 MHz, ppm, CDCl₃)(圖四十一)亦顯示出 *p*-coumaroyl 之質子波訊, 6.179 (1H, *J*=15.6Hz)與 7.531 (1H, *J*=15.6Hz)為互為偶合之 H-2, H-3 質子波訊, 且因偶合常數高達 15.6Hz, 故為 *trans*-form, 6.820 (2H, *J*=8.4Hz)與 7.046 (2H, *J*=8.4Hz)互為偶合, 屬於苯環 *p*-取代之 H-3', H-5', 與 H-2', H-6' 之質子波訊, ¹³C-NMR 光譜(圖四十二)亦支持 1 之結構上具 *p*-coumaroyl 基團之推論, 另外由分子離子波訊 611, ¹H-NMR 及 ¹³C-NMR 光譜光譜高磁場處有數十個離子及碳波訊, 推論 1 內尚存 triterpenoid 基團, 其與 *p*-coumaric acid 形成酯化鍵結。綜上所述可推測 1 之結構為 *p*-coumaroyl triterpenoidyl ester, 唯因純化量過於稀少, 無法進行水解及更詳盡的光譜分析, 今後須大量純化製備始能鑑定其結構。

圖三十九 沙苑子純化物質**1**之紫外光-可見光光譜圖

Fig.39 UV-visible spectrum for the isolated compound **1** from seeds of *Astragalus complantus*.

圖四十 沙苑子純化物質**1**質譜圖.

Fig.40 MS spectrum for the isolated compound **1** from seeds of
Astragalus complantus

Component 1

Formula :

UV λ_{\max} (MeOH) nm : 224.5 , 301.0 , 312.5

FAB-MS (m/z) : 611 [(M-H)⁺ , 3 %]

147[(*p*-coumaric acid-OH)⁺ , 100 %)

¹H-NMR (CDCl₃) :

6.179 (1H , J=15.6Hz , H-2)

6.820 (2H , J=8.4Hz , H-3' , H-5')

7.046 (2H , J=8.4Hz , H-2' , H-6')

7.531 (1H , J=15.6Hz , H-3)

¹³C-NMR (CDCl₃) :

115 (C-2' , C-6') , 127.29 (C-2) , 129.93 (C-3' , C-5') , 132.20 (C-4') ,

144.07 (C-3) , 157.63 (C-1') , 166.28 (C-1)

2. 純化物質 2 之結構鑑定

純化物質 2 為深褐色粉末，UV 光譜上(圖四十三) $\lambda_{\max}(\text{MeOH})$ 304.5, 322 nm 顯示其為苯環上接上共軛基團之 K band 吸收帶。再由質譜(FAB-MS; 圖四十四)得知分子離子波訊(m/z) : 242 (M^+ , 100 %), 並推測其分子式為 $C_{15}H_{14}O_3$ 。

$^1\text{H-NMR}$ 光譜上 (600 MHz, CDCl_3)(圖四十五) 1.625 (2H, s)為兩個 OH 之質子波訊, 3.010 (3H, s, broad)為接在苯環上 OCH_3 之質子波訊, 低磁場處顯示有三組苯環或雙鍵上的質子波訊, 6.223 (1H, s), 6.532 (2H, s)為苯環上相當對稱三取代之質子波訊, 分別為 H-4, H-2 及 H-6 之質子波訊。 6.809 (1H, d, $J=16.2\text{Hz}$)與 6.980 (1H, d, $J=16.2\text{Hz}$)互為偶合, 且偶和常數高達 16.2Hz, 得知其為 *trans*-form 之 $-\text{H}$ 與 $-\text{H}$ 之質子波訊, 6.875 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$)與 7.409 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$)互為偶合, 其為 1, 4 取代苯環上兩組質子波訊, 分別為 H-3', H-5' 與 H-2', H-6' 之質子波訊, $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜(圖四十六)亦支持上述之推論。綜上所述, 鑑定出 2 之結構為 *trans*-form stilbene 之氧化衍生物 3-5-dihydroxy-4'-methoxy-1,1'-(1' 2-ethylenediyl) bis[benzene]。

圖四十三 沙苑子純化物質**2**之紫外光-可見光光譜

Fig.43 UV-visible spectrum for the isolated compound **2** from seeds of *Astragalus complantus*

圖四十四 沙苑子純化物質**2**質譜圖

Fig.44 MS spectrum for the isolated compound **2** from seeds of *Astragalus complantus*.

Compound 2

Formula : C₁₅H₁₄O₃

UV λ_{\max} (MeOH) nm : 304.5 , 322

FAB-MS (m/z) : 242 [M⁺ , 100 %]

181 [(M-CH₃COOH-H×2)⁺ , 54 %]

¹H-NMR (CDCl₃) :

1.625 (2H , s , broad , OH)

3.810 (3H , s) phenyl-O-CH₃

6.223 (1H , s , H-4)

6.532 (2H , s , H-2 , H-6)

6.809 (1H , d , J=16.2 Hz , -H)

6.875 (1H , d , J=9.0 Hz , H-3' , H-5')

6.980 (1H , d , J=16.2 Hz , -H)

7.409 (1H , d , J=9.0 Hz , H-2' , H-6')

¹³C-NMR (CDCl₃) :

55.32 (phenyl-O-CH₃) , 101.86 (C-4) , 105.82 (C-2' , C-6') , 114.12

(C-2 , C-6) 125.87 (-C) , 127.81 (C-3' , C-5') , 129.02 (-C) ,

130.25 (C-4') , 140.31 (C-1) , 156.98 (C-3 , C-5) , 159.41 (C-1')

3. 純化物質之 3 結構鑑定

純化物質 3 為黃色粉末，UV 光譜(圖四十七)
 λ_{\max} MeOH(nm) 247.5, 295.0, 304.5sh 與 7 hydroxy isoflavone 之 UV 吸收(242, 299, 305sh nm)比對，推測 3 為異黃酮衍生物 (Harbone 等, 1975)。再由質譜(圖 FAB-MS ; 圖四十八)得知分子離子波訊(m/z) : 313[(M+H)⁺, 100 %] , 並推測其分子式為 C₁₈H₁₀O₅。

¹H-NMR 光譜上(600 MHz, , CDCl₃)(圖四十九) 3.896, 3.905, 3.913 為接在苯環上三個 OCH₃ 之質子波訊(C-7, C-3', C-5' 上之 O-CH₃) , 低磁場處共有七個質子, 其中 6.847, 6.982, 7.034 為苯環三取代之 ABX 質子波訊, 6.847, (1H, d, J=1.8Hz) 為 H-8 之質子波訊, 6.982(1H, dd, J=1.8, 7.2Hz)與互為耦合的 7.034(1H, dd, J=1.8, 7.2Hz)分別為 H-5 及 H-6 之質子波訊, 7.937(1H, s)為典型 isoflavone H-2 之質子波訊, 6.909(1H, d, J=9.0Hz), 7.192(1H, s)及 8.027(1H, d, J=9.0Hz)則分別為 B 環上 H-3', H-5' 及 H-2' 之質子波訊。¹³C-NMR 光譜(圖五十)亦支持上述之推論。(Harborne and Mabry, 1982)。因此 3 之結構為 6'-methoxy-7-methyl formononetin (7,4',6'-trimethoxy isoflavone)。

魏等(1995)報導自沙苑子分離純化出 sitosterol 及可能顯現抗氧化性的 calycosin, ononin, complanatoside A、B 等類黃酮素。本研究就抗氧化沖提區分並未分析到上述成分, 究其原因, 可能是因第二次矽膠管柱層析進行之後, 僅利用 HPLC 進行分析, 並選擇 HPLC 圖上波峰數較少區分進行製備純化, 這些類黃酮素極可能存在於極性較高或是波峰數較多區分, 仍可進行更進一步的探討。

圖四十七 沙苑子純化物質**3**之紫外光-可見光光譜

Fig.47 UV-visible spectrum for the isolated compound **3** from seeds of *Astragalus complantus*.

圖四十八 沙苑子純化物質**3**質譜圖

Fig.48 MS spectrum for the isolated compound **3** from seeds of
Astragalus complantus.

Compound 3

Formula : C₁₈H₁₆O₅

UV _{max}(MeOH)nm : 247.5 , 295.0 , 304.5sh

FAB-MS (m/z) : 313[(M+H)⁺ , 100 %]

¹H-NMR (CDCl₃) :

3.896 , 3.905 , 3.913 (3H × 3 , s) phenyl-OCH₃ × 3 , -OCH₃

linking at C-7 , C-4 , C -6'

6.847 (1H , d , J=1.8Hz , H-8)

6.909 (1H , d , J=9.0Hz , H-3')

6.982 (1H , dd , J=1.8 , 7.2Hz , H-5)

7.034 (1H , dd , J=1.8 , 7.2Hz , H-6)

7.192 (1H , s , H-5')

7.937 (1H , s , H-2)

8.027 (1H , d , J=9.0Hz , H-2')

¹³C-NMR (CDCl₃) :

56.2 , 56.0 , 55.9 (phenyl-OCH₃) , 101.8 , 101.9 , (C-8 , C-3') ,

102.3 (C-5') , 112.8 (C-1') , 115.3 (C-6) ; 118.4 (C-10) , 121.8

(C-3) , 125.3 (C-5) , 129.2 (C-6') ; 154.6 (C-2) , 158.5 (C-2') ,

159.0 (C-9) , 160.5 (C-4') , 164.3 (C-7) , 175.4 (C-4)

第三節 馬櫻丹花抗氧化成分之研究

材料介紹

馬櫻丹

馬櫻丹又名七變化，夏天會不斷開花，近年來成為夏季花圃的植材，也用於陽台和窗邊的擺設盆栽，十分受人歡迎；紅黃花馬櫻丹高度為三十公分 一公尺，自株基長出細小枝，先端著生花朵。花期初為橙色，然後轉為緋紅色。日名為七變化是因為花色會改變所致，元產地為熱帶非洲。變種的紅黃花馬櫻丹為矮性，分枝細，生長慢，葉型小，花色有黃、緋紅、身橙等色。開花次數比本種類頻繁，所以市面上所銷售的大都為此品種。紅紫花馬櫻丹較小型，枝較細，花與葉也較小，適於種植在吊盆中，原產地為巴西。(圖五十一)

圖五十一 馬櫻丹花之圖片

Fig.51 Figure of flowers of *Lanata camara*

材料與方法

一、實驗材料與使用儀器

1. 實驗材料

本實驗所使用以紅黃色為主的馬櫻丹花係於一九九九年八月自東海大學景觀系館庭園採得。樣品取其花瓣部分，去除其莖及花蕊部分。

2. 分析試劑及溶劑

實驗用之甲醇 (methanol, MeOH)、乙酸乙酯 (ethyl acetate, EtOAc)、正己烷 (*n*-hexane)、氯仿(chloroform)、丙酮 (acetone) 購自我國皓峰公司， α -生育醇 (α -tocopherol)、重氫甲醇 (CD₃OD)、重氫氯仿 (CDCl₃) 及丁基羥基甲氧苯 (butylated hydroxyanisol, BHA) 購自美國 Sigma 公司，氯化亞鐵 (FeCl₂) 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 Wako 公司。亞麻油酸經充氮減壓蒸餾後，分裝於 2 毫升褐色指形瓶中貯存於-20 冷凍庫備用，每隔二個月重近蒸餾再製。

3. 使用儀器

3-1 旋轉式減壓濃縮機

使用日本 Tokyo Rikakikai 公司的 EYELA 型濃縮機。

3-2 紫外線-可見光吸光光譜儀

使用日本 Hitachi 公司的 UV2000 Spectrophotometer。

3-3 質譜儀

使用日本電子公司 (JEOL) JMS/SX/SX 102A 質譜儀。

3-4 核磁共振光譜儀

使用 VXR-300/51 型核磁共振光譜儀 (¹H-NMR 以 600MHz、

^{13}C -NMR 以 150MHz 檢測。檢測溶劑為 CD_3OD 或 CDCl_3 ，並以 TMS (tetramethylsilane) 充當內部標準，光譜解析以 δ 表示化學位移 (chemical shift)；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)。

二、實驗方法

1. 抗氧化性檢測

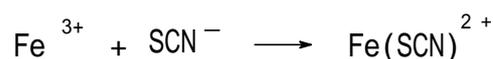
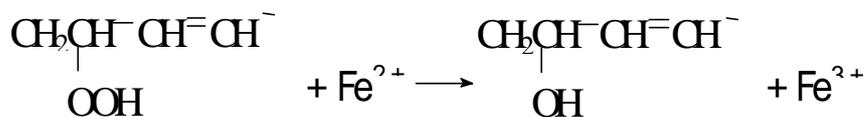
本實驗採用對脂質氫過氧化物反應極為靈敏之硫氰酸鐵法 (ferric thiocyanate method) (滿田等, 1967; 蘇等, 1991) 作為抗氧化性的檢測方法。

將欲檢測物質、 α -生育醇及丁基羥基甲氧苯分別配製成濃度為 1 毫克/毫升之乙醇溶液，各取 0.2 毫升加入具有磨砂蓋子的 50 毫升三角錐型瓶中，對照組則僅加入等量乙醇 (0.2 毫升) 於三角錐型瓶中，再分別加入 0.13% 之亞麻油酸乙醇溶液 10 毫升及 1/30M pH 7.0 之磷酸緩衝液 10 毫升，最後以去離子水定量至 25 毫升。將三角瓶密封，置入 40℃ 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 毫升至含有 9.4 毫升 75% 乙醇水溶液的試管中，再依次加入氯化亞鐵鹽酸溶液 ($2.45 \times 10^{-2}\text{g FeCl}_2 / 10\text{ml } 3.5\% \text{HCl}$) 0.2 毫升，硫氰酸銨溶液 ($3\text{g NH}_4\text{SCN} / 7\text{ml dist. H}_2\text{O}$) 0.2 毫升。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 [$\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$]，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，並可獲知抗氧化效力強弱。



〔紅色錯化合物〕

2. 沙苑子抗氧化成分之萃取、分離及純化

馬櫻丹抗氧化成分分離流程示如圖五十二。

2-1 萃取與粗分離

將馬櫻丹花瓣 150 公克依序用正己烷、乙酸乙酯、氯仿及甲醇重複萃取三次後，利用旋轉式減壓濃縮機在低於 40℃ 下濃縮至黏稠狀態。

2-2 第一次矽膠液相管柱層析 (The first silica gel liquid column chromatography)

首先以 Silica gel 60 樹脂 (70-230 mesh, 德國 Merck 公司), 充填於玻璃管柱 (6.5 × 70cm), 再將馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物充填至管柱最上層, 依次利用正己烷: 乙酸乙酯 (v/v) = 100:0、80:20、60:40、40:60、20:80、0:100 及乙酸乙酯-丙酮 (v/v) = 50:50、0:100 沖提液每 500ml 收集一瓶, 並以紫外線吸光光譜儀檢測 280nm 吸光值, 而區分成 7 區分。各區分分別濃縮後, 以硫氰酸鐵法檢測抗氧化性。

2-3 乙酸乙酯萃取物 沖提區分之第二次矽膠液相管柱層析 (The second silica gel liquid column chromatography)

將上述經矽膠液相管柱層析分離後, 具有抗氧化性之區分 經減壓濃縮後, 置入充填於矽膠液相管柱進行層析, 其沖提條件依序為

n-hexane : EtOAc = 90 : 10、 85 : 15、 80 : 20、 75 : 35、 70 : 30 , 收集每一區分沖提液 , 濃縮後以分析型 HPLC 管柱來檢測 , 選擇 90 : 10(-1)來進行分離純化。

2-4 高效液相層析 (High performance liquid chromatography , HPLC)

將上述具抗氧化性之區分 -1 利用高效液相層析進行分析時 , 先以分析型高效液相層析找尋分離條件 , 再以找到之條件套用於製備型高效液相層析 , 重複分離抗氧化成分。將經高效液相層析分離之各區分濃縮後 , 進行結構之鑑定。高效液相層析條件敘述如下 :

分析型高效液相層析

管柱 : Develosil silica 30-5

(4.6 × 250mm , 日本 Nomura 化學公司)

沖提液 : *n*-hexane : EtOAc (v/v)

95 : 5

流速 : 1.0ml/min

偵測器 : UV 270nm

製備型效液相層析

管柱 : Develosil silica 60-5

(20 × 250mm , 日本 Nomura 化學公司)

沖提液 : *n*-hexane : EtOAc (v/v)

95 : 5

流速 : 5.0ml/min

偵測器 : UV 270nm

3.馬櫻丹花抗氧化成分之構造鑑定

3-1 ¹H-及 ¹³C-核磁共振 (¹H-及 ¹³C-NMR) 光譜測定

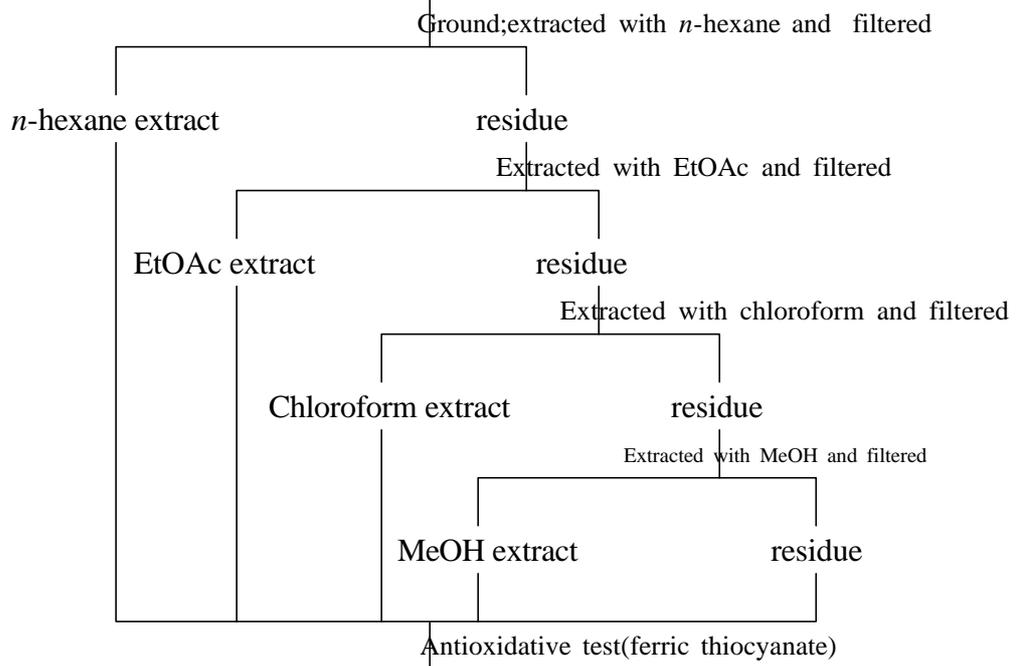
將純化之抗氧化成分分別溶於 CDCl₃ 或 CD₃OD 中 , 以

VXR-300/51 型核磁共振光譜儀 ($^1\text{H-NMR}$ 以 300MHz 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 以 75MHz) 測定。分別獲得其 $^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

3-2 質譜檢測

分子量之測定使用的為電子撞擊質譜法(electron impact , EI)及快速原子撞擊游離法質譜 (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometer , FAB-MS)。以硫代甘油或 NBA 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。

Flowers of *Lantana camara*



EtOAc extract

Separated by silica liquid column chromatography

<i>n</i> -hexane	100	80	60	40	20	0	EtOAc	50	0
:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
EtOAc	0	20	40	60	80	100	acetone	50	100

Antioxidative test(ferric thiocyanate)

Separated by silica liquid column chromatography

<i>n</i> -hexane	90	85	80	75	70
:	:	:	:	:	:
EtOAc	10	15	20	25	30
	1	2	3	4	5

↓ HPLC analysis

-1

↓ HPLC analysis

1, 2

圖五十二 馬櫻丹花抗氧化研究之流程圖

Fig.52 Scheme on separation and isolation of the antioxidant from flowers of *Lanata camara*.

結果與討論

一 馬櫻丹花抗氧化成分之萃取、分離及純化

1. 各種溶劑萃取物之抗氧化性

自東海大學景觀系館採集的馬櫻丹黃紅色花瓣分別以正己烷、乙酸乙酯、氯仿及甲醇重複萃取三次，過濾後收集其濾液，經減壓濃縮機濃縮後，再分別利用硫氰酸鐵法檢測其抗氧化性，結果以乙酸乙酯萃取物之抗氧化性較佳，因此選取乙酸乙酯萃取物進行液相管柱層析分離(圖五十三)。

2. 第一次矽膠液相管柱層析

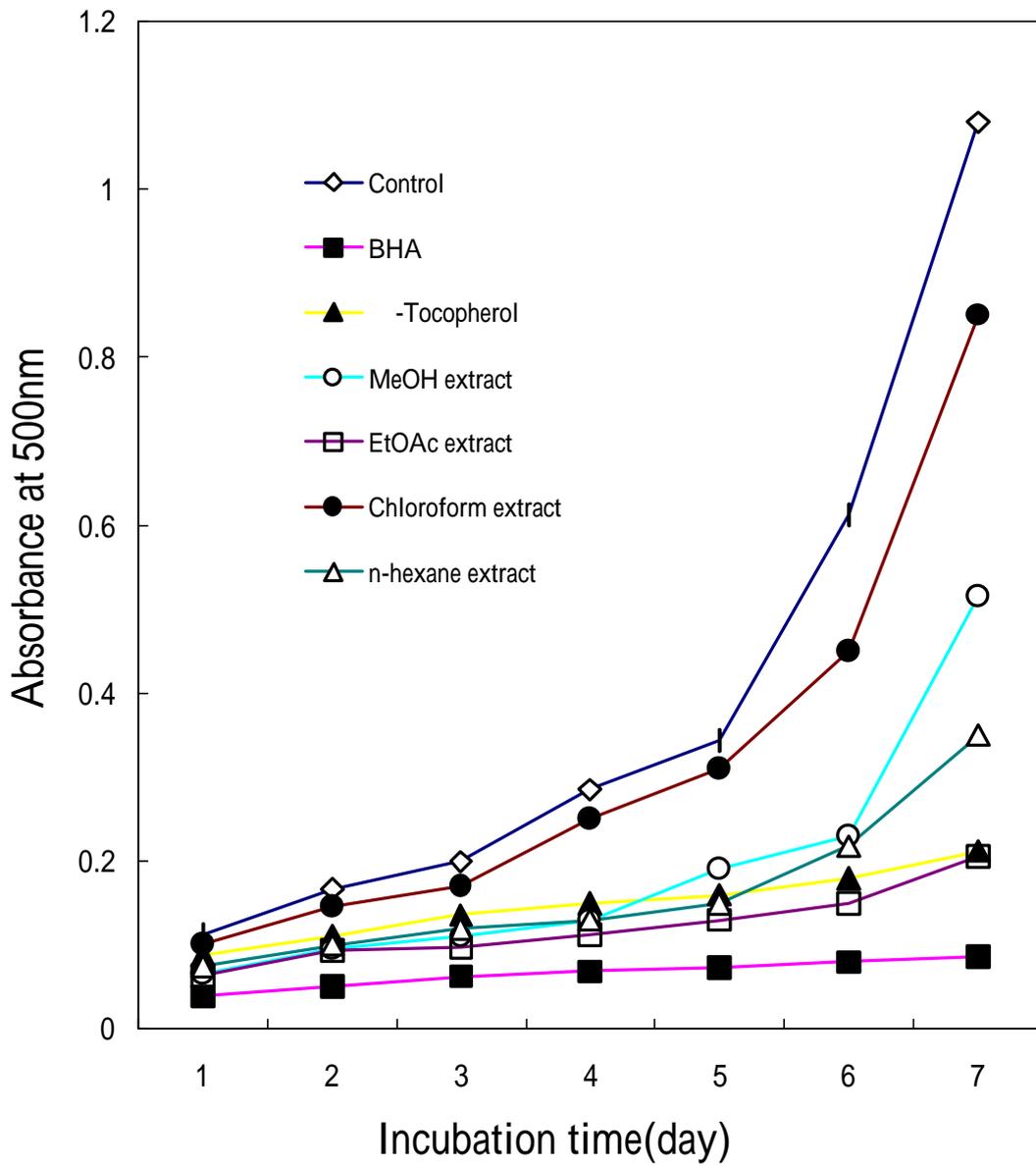
馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物首先利用充填矽膠之管柱進行第一次液相管柱層析，其沖提液條件依序為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 100 : 0、80 : 20、60 : 40、40 : 60、20 : 80、0 : 100 及乙酸乙酯 - 丙酮 (v/v) = 50 : 50、0 : 100 沖提劑以每瓶 500 毫升為單位收集沖提液，每瓶收集液經由紫外線可見光吸光光譜儀掃描波長 280 nm 之吸光值對收集瓶作圖，共可細分成六個區分(圖五十四)。這些沖提區分經濃縮後，以硫氰鐵法檢測其抗氧化性。其結果示於(圖五十五)，其中以區分 顯示其抗氧化性較強，故選取區分 繼續進行抗氧化成分之分離。

3. 乙酸乙酯萃取物 沖提區之第二次矽膠液相管柱層析

區分 IV 以充填著矽膠之液相管柱進行第二次層析，其沖提劑條件依序是正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 90 : 10、85 : 15、80 : 20、75 : 25、70 : 30，每一沖提條件收集沖提液 500 毫升後濃縮，再分別以高效液相層析(HPLC)進行分析，由分析結果顯示除了沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 90 : 10(-1)所含的成分較少但量較多，故選擇之沖提劑為正己烷：乙酸乙酯 (v/v) = 90 : 10(-1)區分進行進一步的分離純化。

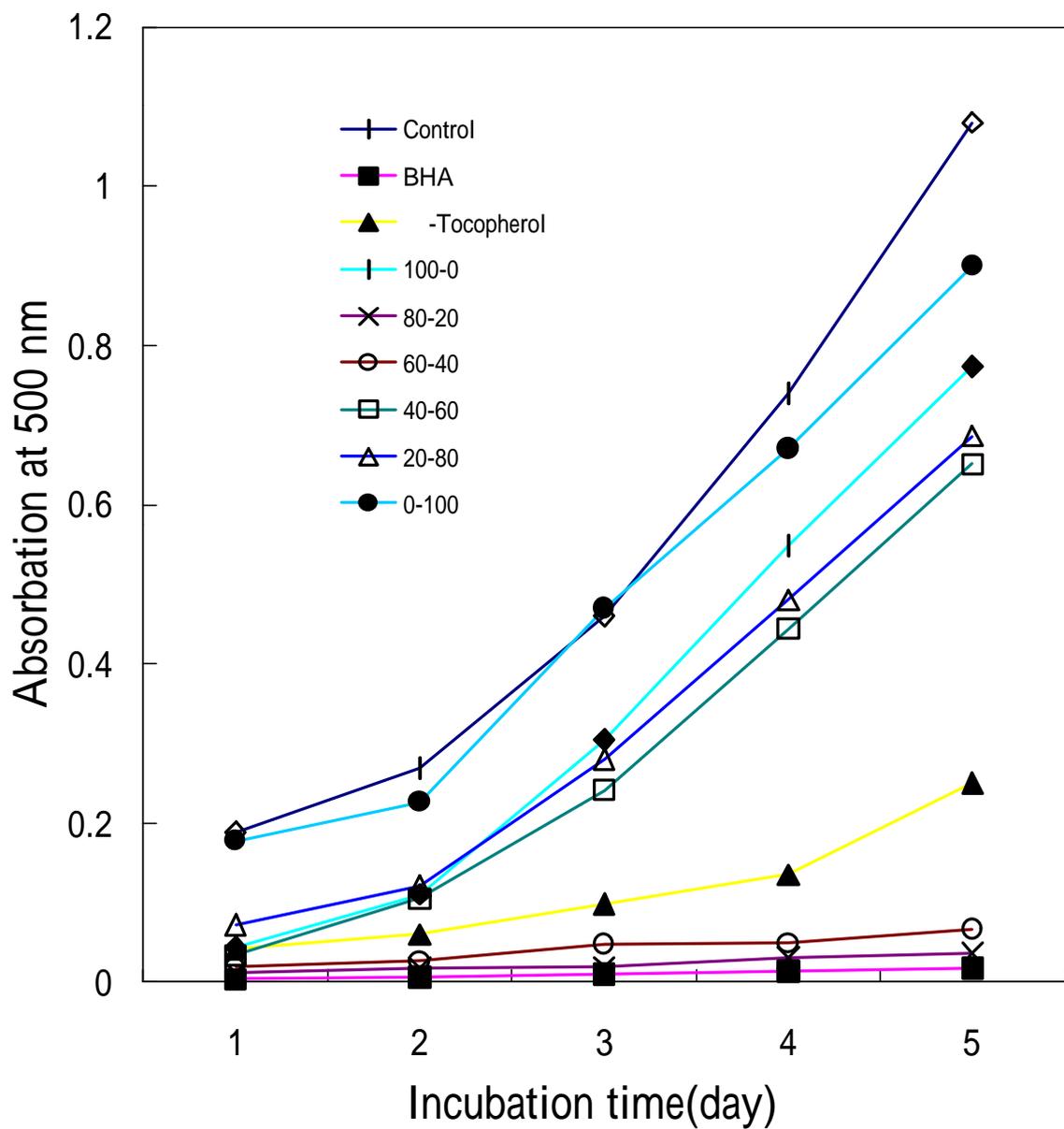
4. 乙酸乙酯萃取物 -1 沖提區之高液相層析分離

首先以紫外線吸收光譜儀掃描區分 -1 區，發現 -1 之最大吸收波長為 270nm，以其最大吸收波長作為高液相層析之 UV 檢測器的檢測波長。將區分 -2 濃縮乾後，以適量乙酸乙酯溶解，並經 0.45 μm 之過濾膜過濾。 -1 以分析型高效液相層析儀(管柱：Develosil silica 30-5，檢測波長：270nm，流速：1 ml/min)找尋良好的分離條件為正己烷：乙酸乙酯 = 95：5 (v/v)，再以相同條件之製備型高效液相層析儀(管柱：Develosil silica 60-5，檢測波長：270nm，流速：5 ml/min)進行分離其中抗氧化成分重複收集滯留時間 4.22 分鐘之波峰沖提液，獲得純化物質 1 與 2 之混合物 (圖五十六、圖五十七)；再經高效液相層析分析，將 1、2 分離、純化。



圖五十三 馬櫻丹花各種溶劑萃取物之抗氧化性

Fig.53 Antioxidative activity of extracts from flowers of *Lanata camara*.



圖五十五 馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物經第一次矽膠液相管柱

層析後各沖提區分之抗氧化性

Fig.55 Antioxidative activity of elution fractions from ethyl acetate extracts of flowers of *Lanata camara* by the first silica liquid column chromatography.

圖五十六 馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物 -1沖提區分之製備型
高效液相層析圖

Fig.56 Preparative HPLC chromatogram of fraction -1
separated from EtOAc extract of flowers of *Lantana
camara*.

圖五十七 馬櫻丹花乙酸乙酯萃取物 -1-2沖提區分之分析
型高效液相層析圖

Fig.57 Analytical HPLC chromatogram of fraction -1-2
separated from EtOAc extract of flowers of *Lantana
camara*.

二 馬櫻丹花純化物質之結構鑑定

馬櫻丹花純化物質 1 為淡黃色結晶，其甲醇溶液之 UV 光譜在 272.0, 283 nm 有極大吸收波峰(圖五十八)，推測為苯環 B band 之吸收帶。

由質譜圖(FAB-MS, 圖五十九)得知 1 之分子離子波訊 $[M^+]$ m/z 為 436, 並推測其分子式為 $C_{26}H_{44}O_5$ 。

圖六十為純化物質 1 之 1H -NMR ($CDCl_3$,) , 圖中 0.882, 1.289, 1.431 為飽和脂肪酸烷鏈上質子波訊, 2.599 (2 H, t, $J=7.8$ Hz) 為 H-2 質子之波訊, H-1' 與 H-2' 質子互為偶合, 其偶合常數為 7.8 Hz, 6.999 為 H-2'' 及 H-6'' 之質子波訊, 由 1H -NMR 光譜可推測純化物質 1 為含三個氫氧基且鍵結著一個酯化乙基之苯環結構。

從純化物質 1 之 ^{13}C -NMR 光譜可得知 14.35-36.75 為一端被酯化之脂肪酸碳基波訊, 64.83 為 C-1' 之波訊, 124.97 為 C-2'' 及 C-6'' 之碳原子波訊, 131.42 為 C-4'', 136.16 為 C-1'', 152.36 為 C-3'', C-5'', 173.50 為 C-1 之波訊, ^{13}C -NMR 光譜亦支持上述之推論, 綜上所述馬櫻丹花純化物質 1 鑑定為 2'-(3'',4'',5''-trihydroxyphenyl)-ethyl-stearate。

本研究室樊(1996)亦曾自鳳凰花分離到類似的物質, 2'-(3'',4'',5''-trihydroxyphenyl)-ethyl-margarate。當在進行 1H -NMR 光譜分析時, 亦發現另一組苯環上 ABX 典型之質子波訊 7.136 (1H, dd, $J=2.4, 9.0$ Hz), 7.362 (1H, d, $J=2.4$ Hz), 7.548 (1H, d, $J=2.4, 9.0$ Hz) 推測為 protocatechuic acid (2)。上述兩種純化物質皆為多酚化合物, 應為馬櫻丹花中低極性區分物中含量較高的抗氧化成分。

圖五十八 馬櫻丹花純化物質**1**之紫外光-可見光光譜

Fig.58 UV-visible spectrum for the isolated compound **1** from flowers of *Lanata camara*.

圖五十九 馬櫻丹花純化物質**1**質譜圖

Fig.59 MS spectrum for the isolated compound **1** from flowers of *Lanata camara*.

Compound 1

Formular : $C_{26}H_{44}O_5$

UV λ_{max} (MeOH) nm : 272.0 , 283.0

FAB-MS (m/z) : 436[M⁺]

¹H-NMR (CDCl₃) :

0.882 , 1.289 , 1.436 (33 H , alkyl protons)

2.559 (2H , t , $J=7.8\text{Hz}$, H-2)

2.875 (2H , t , $J=7.8\text{Hz}$, H-2')

4.074 (2H , t , $J=7.8\text{Hz}$, H-1')

6.999 (2H , s , H-2'' , H-6'')

¹³C-NMR (CDCl₃) :

14.35-36.75 (18C , alkyl carbons) , 64.83 (C-1') , 124.97 (C-2'' and

C-6'') , 131.42 (C-4'') , 136.16 (C-1'') , 152.36 (C-3'' , C-5'') ,

173.50 (C-1)

第三章 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) 所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 (Piggott and Paterson , 1994)。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 (Schreier and Idstein , 1985 ; Emberger , 1985)。

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

1992年 Reverchon 等提出以水蒸氣蒸餾及超臨界萃取兩種方法萃

取迷迭香揮發性成分時，帖烯類化合物以水蒸氣萃取量較多，而芳香族(aromatic)化合物則反之。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 (nature 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、樹皮及、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) (IOFI , 1976)。

食品中香氣的特性，歸納如下 (喬，1989)：

- (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、揮發性成分的種類及其感官特性

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）如表二所示。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（rancid 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；的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（heptyl 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 -己烯醇（-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）具有新鮮奶油中甜的香氣，另外，-紫羅蘭酮（-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，一般而隨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. 萜烯類 (terpenes)

一些單不飽和萜烯化合物如 (citronellol) 及雙不飽和萜烯化合物 (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 γ -、 δ -、 ϵ -、 ζ - 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 ϵ -lactones 為乳酪、奶油及牛乳製品的重要香氣化合物。

表二 主要的發香團

Table 2 The major osmophoric groups

發香物質	發香團
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)	- $\boxed{\text{RCOO}}$
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：

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(圖六十二)。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，裝置圖示如圖六十三。優點為節省人力，缺點為溶劑使用是稍大。

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，終至如圖六十四所示；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 , 於 20 - 40 °C 下進行萃取。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。裝置如圖六十五。

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) 裝置如圖六十六 , 利用惰性氣體吹入樣品中 , 例如氮氣或氬氣 , 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 (圖六十七) (陳 , 1992) 。此物質為超臨界流體 , 其兼具氣體及液體的特性 , 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）裝置如圖六十八。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，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。

圖六十三 索氏萃取裝置圖

Fig.63 Diagram of Soxhiet extraction equipment.

圖六十四 水蒸氣蒸餾法裝置圖

Fig.64 Diagram of steam distillation equipment.

圖六十五 水蒸氣蒸餾-溶劑裝置圖

Fig.65 Diagram of Likens-Nickerson extraction equipment.

圖六十六 上部空隙吹除捕捉法裝置

Fig.66 Diagram of headspace adsorption equipment.

圖六十八 超臨界流體萃取法裝置圖

Fig.68 Diagram of supercritical fluid extraction equipment.

第二節 沙苑子揮發性成分之研究

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沙苑子於 1999 年 12 月購自沙鹿鎮德成中藥行。樣品先以磨粉機(台中榮聰鐵工廠製)磨碎至可通過 20mesh 篩網孔目之粗粉。

2. 藥品

2-1 萃取沙苑子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) 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

dl- α -生育醇 (dl- 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。亞麻油酸經充氮減壓蒸餾後，分裝於 2 毫升褐色指形瓶中儲存於 -20 冷凍庫備用，每隔兩個月重新蒸餾再製。

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. 沙苑子揮發性成分之萃取方法

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

稱取沙苑子粉末 150g 及水 1350g 放入 Likens-Nickerson 裝置之圓底燒瓶中，以水蒸氣當熱源，同時以 50 毫升溶劑 (正戊烷：乙醚 = 1：1，v/v) 蒸餾萃取 2 小時，連續萃取五次。

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

稱取沙苑子粉末 2g 放入 10 毫升的萃取槽中，利用超臨界萃取裝置(modle 260D，美國的 Isco 公司)，以液態二氧化碳 (20ml，0.3ml/min) 為流體，萃取溫度為 40℃，萃取物的收集採用液體捕捉法(solvent trap)，使用溶劑為 40 毫升之正己烷，萃取壓力為 120 Bar。

2. 沙苑子揮發性萃取液之濃縮

將上述含有沙苑子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℃ 下濃縮至體積大約僅剩 1 毫升；繼續以氮氣吹乾至 0.3 毫升之揮發性萃取物。

3. 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沙苑子揮發性萃取物，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。

3-1 氣相層析

氣相層析以兩種不同極性管柱進行分析，包括 CP-Wax 及 DB-5 (60m × 0.25mm I.D. , 0.25 μ m film thickness , WCOT , 美國 J & W Scientific 公司) ; 遞載氣體(氮氣)流速為 1.2 ml/min , 注入口及檢測器溫度皆為 250 , 烘箱條件為初溫 40 , 升溫速度 3 /min , 終溫為 220 。使用之儀器為 Hewlett-Packard 之 HP-5890 GC(Palo Alto , CA , USA) ; 檢測器為火焰燃燒離子化檢器 (flame ionization detector , FID)。

3-2 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 GC 和 HP-5972A 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 , 氣相層析儀與質譜儀之界面溫度為 260 , 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 , 採用電子撞擊是離子化(alaceron 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，揮發性成分之氣相層析滯留係數 (GC-retention index) 乃是以 5 碳至 25 碳正烷類標準品之混合液，於相同分析條件下以 HP-5890II 氣相層析儀所得的滯留時間為參考依據，依 Kovat's 之氣相層析滯留係數計算方程式計算出之參考值。

4.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过氧化物的相對含量，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-生育醇之添加量皆為 0.2 mg。

結果與討論

沙苑子粉末經水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法萃取後，將含有沙苑子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 毫升；繼續以氮氣吹乾至 0.3 毫升，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，鑑定出主要的 28 種化合物，其中酮類 5 種，醛類 5 種，醇類 4 種，烯類 5 種，酸類 5 種，烷類 1 種，酯類 3 種，圖六十九為沙苑子之氣相層析圖。

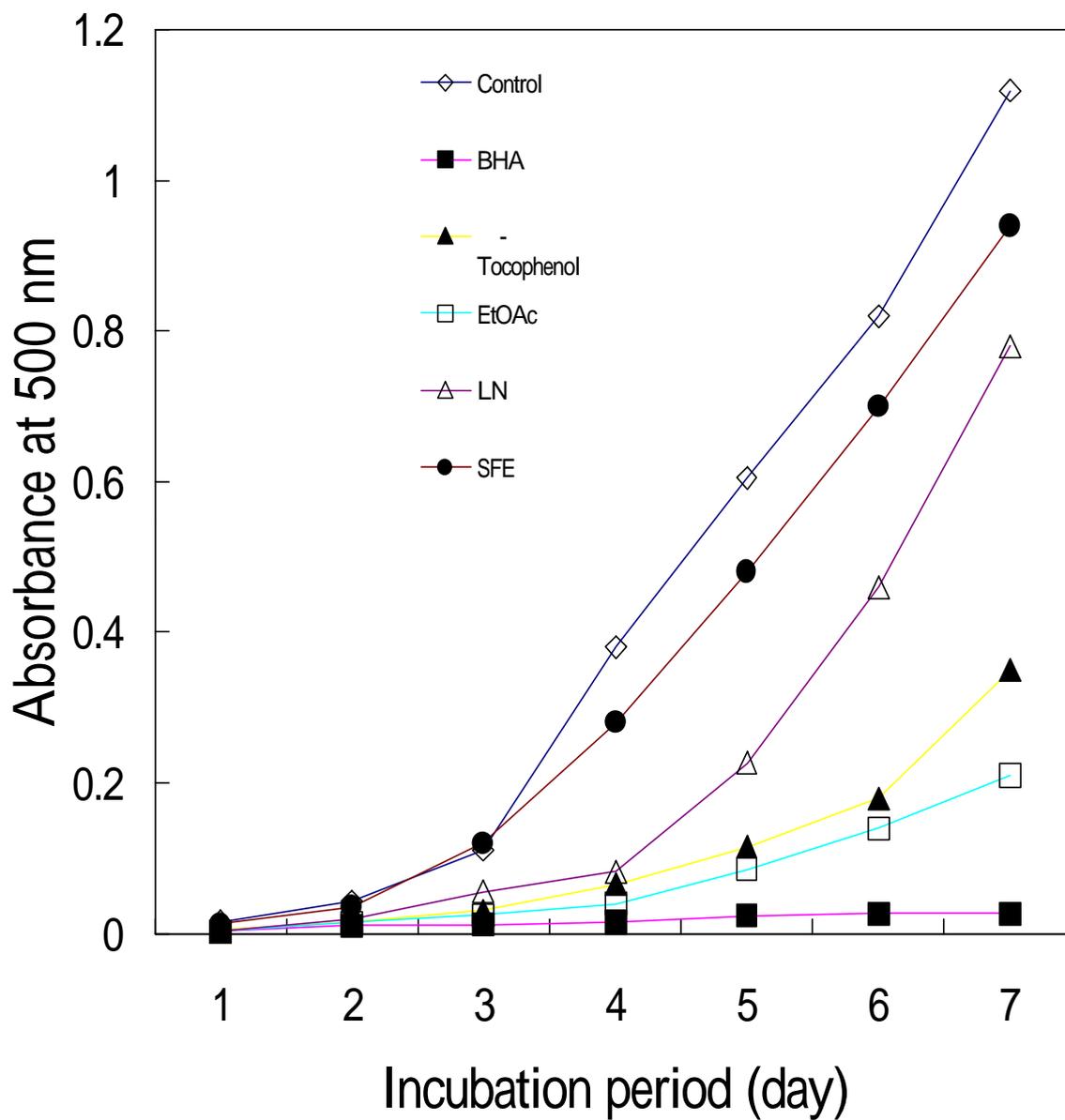
由於沙苑子屬於植物之種子，故其脂肪酸含量較高，如波峰 28 (hexadecanoic acid)，佔揮發性成分高達 16 %，其次就是波峰 19 (benzene ethanol)及波峰 16 (trans-anethole)的醇類，波峰 26 (Methyl ester ,9,12,15-octadecatrienate)的酯類，上述這四個為沙苑子揮發性成分中含量較多的成分，但是因為沙苑子的揮發性成分含量並不高，故本次實驗只針對水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法來重複萃取五次，其產率亦不高，表三為沙苑子以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得揮發性萃取物之主要揮發性成分，從已鑑定出來的主要成分進行分析，得知沙苑子中並無較特殊且突出的風味成分。

在沙苑子揮發性成分抗氧化性方面，除了以原有的水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得之萃取物及超臨界流體萃取法之萃取物外，另外再以沙苑子之乙酸乙酯層萃取物比較其抗氧化性，所得到的抗氧化性結果為：BHA > 乙酸乙酯萃取物 > α -生育醇 > 水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法 > 超臨界流體萃取法 > 控制組 (如圖七十)。不同萃取方法所萃取之揮發性萃取物質，其抗氧化性大多比利用溶劑直接萃取的萃取物差，原因是利用溶劑直接萃取可萃取得到較多的具有抗氧化性之酚型化合物。

表三 沙苑子以水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法所得揮發性萃取物之主要揮發性成分

Table 3 The chemical composition of volatile extracts from seeds of *Astragalus complantus* by Likens-Nickerson extraction

Peak No.	Compound	Retention Index		Peak area(%)
		CP-wax52CB	Ultra-2	
1	Valeraldehyde	928.09		0.22 ± 0.04
2	Hexanol	1068.88		1.66 ± 0.34
3	Limonene	1141.34		0.71 ± 0.40
4	2-Hexanol	1167.64		0.26 ± 0.06
5	Styrene	1184.52		0.34 ± 0.04
6	4-Isopropyltoluene	1189.26	1017.23	0.29 ± 0.01
7	4-Methyl-1-pentanol,	1223.47		0.45 ± 0.18
8	[E]-1-hydroxy-1,3-butadiene	1245.55		1.18 ± 0.31
9	Acetic acid	1314.12		0.27 ± 0.10
10	-ionone	1402.07		0.39 ± 0.04
11	Dihydro- α -ionone	1423.55	1157.80	1.23 ± 0.29
12	3,5-Octadiene-2-one	1508.64	1179.98	1.50 ± 0.50
13	3-Penten-2-ol	1520.59	1198.99	0.86 ± 0.22
14	Naphthalene	1696.62		0.42 ± 0.15
15	Trans,trans-2,4-decadienal	1771.76	1306.45	0.86 ± 0.16
16	Trans-anethole	1794.22	1322.22	2.09 ± 0.38
17	Butane,1-bromo-2-methyl	1819.93		0.89 ± 0.38
18	Phenyl,2,6-bis[1,1-dimethyl]-4-methyl	1863.68	1377.68	1.39 ± 0.11
19	Benzene ethanol	1950.18	1432.47	6.51 ± 1.78
20	2[3H]-furanone,dihydro-5-pentyl	2017.75	1489.93	1.35 ± 0.30
21	Octanoic acid	2028.56	1501.41	0.78 ± 0.08
22	Megastigmatrienone	2213.11		0.69 ± 0.02
23	Methyl ester ,9-octadecenate[Z]-	2367.19		0.84 ± 0.06
24	Dodecanoic acid	2388.22		1.41 ± 0.15
25	Methyl ester ,8,11-octadecatrienate	2408.67		1.61 ± 0.49
26	Methyl ester ,9,12,15-octadecatrienate	2476.29		2.95 ± 0.22
27	Tetradecanoic acid	2610.51		1.03 ± 0.08
28	Hexadecanoic acid	2929.54	1985.20	15.91 ± 1.62



圖七十 沙苑子以不同方法所得揮發性萃取物之抗氧化性
 Fig.70 Antioxidative activity of the volatile extracts from seeds of *Astragalus complantus* by various extractions.

結論

本研究以中藥-沙苑子(Seeds of Astragalus complantus)及庭園觀賞植物-馬櫻丹花(Flowers of Lanata camara)為材料，進行抗氧化成分的分離、純化、結構鑑定，以及沙苑子揮發性成分分析及其抗氧化性測試。

沙苑子的乙酸乙酯萃取物經由分離純化鑑定後，獲得三個純化物質，已鑑定出的 3-5-dihydroxy-4'-methoxy-1,1'-(1'2-ethylenediyl) bis[benzene] 及 6'-methoxy-7-methyl formononetin (7,4',6'-trimethoxy isoflavone)；另一純化物質推測為 *p*-coumaroyl triterpenoid ester。

二 馬櫻丹化抗氧化性成分之研究

馬櫻丹花的乙酸乙酯萃取物經由分離純化鑑定後，獲得有 2'-(3'',4'',5''- trihydroxyphenyl)-ethyl -sterate 及 protocatechuic acid 兩種之多酚化合物。

三 沙苑子揮發性成分之研究

沙苑子揮發性萃取物鑑定出28種揮發性成分，其中包括烯類5種，醛類5種，酮類5種，酸類5種，醇類4種，酯類3種，烷類1種等及水蒸氣蒸餾-溶劑萃取法及超臨界流體萃取法所萃出之沙苑子揮發性萃取物之抗氧化性不如其乙酸乙酯萃取物。

參考文獻

- 八木國夫和五島雄一郎(1981)過氧化脂質與疾病。醫學書院，東京。
- 中谷延二(1989)香辛料的抗氧化性、抗菌性。香辛料成分的食品機能，岩井和夫、中谷延二編，p.69-96。光生館。
- 孔祥琳(1991)羌活揮發性、藥理活性及抗氧化性成分之研究。靜宜大學食品營養研究所碩士論文。
- 內山充、松尾光芳、嵯峨井勝(1985)過氧化脂質與生物體。學會出版中心，東京。
- 五十嵐脩、金田尚志、福場博保、美濃真(1986)過氧化脂質與營養。光生館，東京。
- 江蘇新醫學院(1986)中藥大辭典(上，下)。上海科學技術出版社，上海。
- 宋禮邦(1994)茶梗抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。
- 金田尚志，石井清之助(1953)多元不飽和脂肪酸之營養價值與毒性。日水誌 19:171-177。
- 金田尚志，渡邊寬子(1963)加工食品中油脂之過氧化物量。營養與食糧 16:211-212。
- 吳芳真(1995)草果抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。
- 吳芳真，蘇正德(1996)草果抗氧化成分之分離，純化及構造鑑定。中國農業化學會誌 3:438-451。
- 吳怡蓉(1998)高良薑揮發性及抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。

- 林天送(1995)你的生命活力-從自由基談起。健康世界雜誌社，台北。
- 林書玉(1997)紅豆蔻揮發性及抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。
- 洪千雅(1994)香薷及槐花抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。
- 章錦瑜(1987) 景觀植物(五),p78-87 淑馨出版社，台北。
- 陳惠英(1996)茶葉萃取物抗致突變性及抗氧化特性之研究。中興大學食品科學研究所博士論文。
- 喬長誠 (1986) 香味研究方法之簡介。食品工業 18:2-27。
- 楊宗熙(1996)油脂氧化安定性與天然抗氧化劑效力之評估。食品工業月刊 23-33。
- 葉佳聖和蘇正德(1993)芡實抗氧化成分之研究。東海學報 34:1115。
- 葉佳聖和蘇正德(1993)補骨脂抗氧化成分之研究。食品科學 20:574。
- 滿田久輝、安本教傳、岩見公和(1967) 化合物對於亞麻油酸自氧化之抗氧化作用。營養與食糧 19:210-214。
- 樊謙騰(1996)鳳凰花及山竹果殼抗氧化成分與花青素之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。
- 蘇正德和陳怡蓉(1991)省產稻米外殼抗氧化性之研究調查。東海學報 32:719。
- 蘇正德、蔡文騰、張基煌、蘇女淳(1991)茶湯與茶渣兒茶酚含量及抗氧化性之調查研究。食品科學 18:234。
- 張為憲等(1995)食品化學。華香園出版社，台北。
- 張明慧，蘇正德和吳天賞(1996)茵陳蒿抗氧化成分之研究。食品科學

23:594-607。

張毅偉、蘇正德(1997) 益智仁主要揮發性成分及其抗氧化性之研究，東海學報 38:93-105。

劉姍姍(1996) 肉豆蔻揮發性及抗氧化成分之研究。東海大學食品科學研究所碩士論文。

魏璐雪、李家實、崔寶良 (1995) 沙苑子類的研究。常用中藥藥材品種整理和質量研究(北方編) 第三冊，p.277-309。

Allen, J.C. and Hamilton, R. T. (1983) Rancidity in Foods, Applied Science Publishers, New York.

Aruoma , O. I. (1994) Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chem. Toxic. 32:671-683.

Bawn, C. E. H.(1953) Free-radical reactions in solution initiated by heavy metal ions. Disc. Farad. Soc. 14:181-199.

Branen, A. C.(1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxy toluene, JAOCS 53 : 59.

Buttriss, J. (1989) Free radical. Nutrition and Food Science, p.12.

Carroll (1987). Oxygen radicals and human disease. Annals. of Internal. Med. 107:526.

Chan. H. W. S.(1987) Autoxidation of unsaturated lipids. Academic Press INC., New York.

Chang, H. C. and Branen, A. L. (1975) Antimicrobial effects of butylated hydroxyanisole (BHA) [Food products, antioxidant]. J. Food Sci. 40:349-351.

Cillard, J., Cillard, P. and Cormier, M. (1980) Effect of experimental

- factors on the prooxidant behavior of α -tocopherol, JOACS 57 : 225.
- Coppen, P. P.(1983)Use of antioxidants in Foods, Allen, J. C. and Hamilton, R.J., Eds., p.67-93. Applied science, London.
- Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H. (1994) Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis* L.) . J. Agric. Food Chem. 42 : 665.
- Das N. P. and Pereira, T. A. (1990) Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil : structure activity relationships. JAOCS 67 : 255.
- Duh, P. D. Yeh, D. B. and Yen, G. C.,(1992)Extraction and identification of antioxidative component from peanut hulls. JAOCS 69 : 814.
- Duve, K. J. and White P. J. (1991) Extraction and identification of antioxidants in oats, JAOCS 68 : 365-370.
- Farmer, E. H., Bloomfield, G. F., Sundralingam, A. and Sutton, D. A. (1942) The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. Trans Faraday Soc. 38:348-356.
- Frankel E. N. (1984) Lipid oxidation : Mechanisms, products and biological significance. JAOCS 61 : 1908.
- Fukada, Y., Osawa, T., Namiki, M.and Ozaki, T. (1985) Studies on antioxidative substances in sesame seed. Agric. Biol. Chem.49 : 301.
- Fukada, Y. (1986) Chemical studies on antioxidative components of sesame. Ph. D. Dissertation of Nagoya University, Japan.
- Fukada, Y., Nagata, M., Osawa, T., and Namiki, M. (1986) Contribution

of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. JAOCS 63 : 1027.

Fukuda, Y., Osawa, T., Kawakishi, S., and Namiki, M. (1988) Oxidative stability of food fried with sesame oil. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi35 : 28.

Fukuda, Y. and Namiki, M. (1988) Recent studies on sesame seed and oil, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 35:552-562.

Gardner, H. W. (1983) Effect of lipid hydroperoxides on food components. In "Xenobiotics in Food and Feeds" p.63-81., American Chemical Society.

Gutteridge, J. M. C. (1993) Free radicals in disease process : A compilation of cause and consequence. Free Radical Research Communication.19:141.

Gutteridge, J. M. C. and Halliwell, B. (1994) Antioxidant in nutrition, health and disease, Oxford University Press, Oxford.

Halliwell, B. and Gutteridge John M. C. (1984) Oxygentoxicity, oxygenradicals, transition metals and disease. Biochem. J. 219 : 1.

Hamada, S., Torii, M., Kotani, S. and Tsuchitani, Y. (1981) Adherence of *Streptococcus sanguis* clinical isolates to smooth surfaces and interaction of the isolates with *Streptococcus mutans* glucosyltransferase. Infection and Immunity 32 : 364.

Hara, T. and Kubota, E. (1984) Changes in aroma components of green tea during the firing process. Nippon Nogeikagaku Kaishi 58:25-30.

Harborne, J. B., Mabry, T. J. and Mabry, H. (1975) "The Flavonoids", p.54, Chapman and Hall Ltd., London.

- Harborne, J. B., Mabry, T. J. (1982) "The Flavonoids: Advances in Research", Chapman and Hall Ltd., London.
- Hatsuzaki, T. and Hara, Y. (1984) Antioxidative activity of tea leaf catechins, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59:129-134.
- Hirosue, T., Matsuzawa, M., Irie, I., Kawai, H. and Hosogai, Y. (1988) On the antioxidative activities of herbs and spices. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35 : 630.
- Hirosue, T., Kawai, H. and Hosogai, Y. (1978) On the antioxidative activities of crude drugs. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 25 : 691.
- Hirosue, T., Kawai, H. and Hosogai, Y. (1982) Antioxidative substance in *Glycyrrhizae radix*. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 29 : 418.
- Houlihan, C.M. Ho C.T. and Chang, S.S., (1984) Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosemaridi-phenol; isolated from rosemary. *JAOCS* 61 : 1036.
- Houlihan, C. M., Ho, C. T., and Chang, S. S. (1985) The structures of rosemariquinone a new antioxidant isolated from *Rosemarinu officinalis* L. *JAOCS* 62 : 96.
- Hudson, B. J. F., (1990) Food antioxidants, Elsevier science publishing Co. New York.
- Huang, M.T., Smart, R.C., Wong, C. Q., and Conney, A.H. (1988) Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O-teradecanoylphorbol-13-aceate, *Cancer Res.* 48 : 5941.
- Huang, M. T., Lysz, T., Ferraro, T., Abid, T.F., Laskin, J.D., and Conney,

- A.H. (1991) Inhibitory effects of curcumin on *in vitro* lipoxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis, *Cancer Res.* 51 : 813.
- Hudson, B. J. F., (1990) *Food Antioxidants*, Elsevier Science Publishing Co., New York.
- Igarashi, K., Takanashi, K., Makino, M. and Yasui, T. (1989)
Antioxidative activity of major anthocyanin isolated from wild grapes (*Vitis coignetiae*). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36 : 852.
- Igarashi, K. Yoshida, T. and Suzuki, E (1993) Antioxidative activity of nasunin in Chouja-nasu (little eggplant, *Solanum Melongena* L. Chouja'). *Nippon shokuhin Kogyo Gakkaishi* 40:138-143.
- Inatani, R., Nakatani, N. and Seto, H. (1982) Structure of a new antioxidative phenolic diterpene isolated from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., *Agric. Biol. Chem.* 46 : 1661.
- Inatani, R., Nakatani, N. and Fuwa, H. (1983) Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives. *Agric. Biol. Chem.* 47 : 521.
- Ingold, K. U. (1960) Inhibition of oil oxidation by 2,6-di-*t*-butyl-4-substituted phenols. *J. Phys. Chem.* 64:1636-1642.
- Ito, N., Hirose, M., Fukuashima, S., Tsuda, H., Shirai, T. and Tatematsu, M. (1986) Studies on antioxidant : their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxic.* 24 : 1071.
- Jacob, R. A. (1994) *Nutrition, health and antioxidants*. *INFORM.* 11:1271-1275.

- Kellogg, E. W. and Fridovich, I. (1975) Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. *J. Biol. Chem.* 250:8812-8815.
- Kikuzaki, H. and Nakatani, N. (1987) A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Oreganum Vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.* 51:2727-2731.
- Kikuzaki, H. and Nakatani, N. (1993) Antioxidant effects of some ginger constituents, *Journal of Food Science* 58 : 1407.
- Kubow, S., (1990) Toxicity of dietary lipid peroxidation products. *Trends in Food Science & Technology*. September : 67.
- Larson, R. A. (1988) The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 27:123-126.
- Lee, M.-H. (1988) Natural antioxidant from teas. "Proceedings of the international symposium on recent development in tea of production" p.299. Taiwan Tea Experiment Station, Taoyuan.
- Loft, S. Vistisen, K. Ewertz, Z. Tjonneland A. Overvad, K. and Poulsen, H. E. (1992) Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxyquanosine excretion in humans : influence of smoking, gender and body mass index. *Carcinogenesis* 13:2441-2447.
- Lyon, C.K. (1972) Sesame: Current knowledge of composition and use. *JAOC* 49:245.
- Matsuzaki, T. and Hara, Y. (1985) Antioxidative activity of tea leaf catechin. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 59 : 129.
- McCord, J. M. (1994) Free radicals and prooxidants in health and nutrition. *Food Technol.* 48(5):106-111.

- Minetti, M., Mallozzi, C., Scorza, G. and Scott, M. D., (1993) Role of oxygen and carbon radicals in hemoglobin oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 302 : 233.
- Mistry, B.S. and Min, D.B. (1992) Oxidized flavor compounds in edible oils, in "Off-Flavors in Foods and Beverages." Charalambous, g.(Ed). Elsevier, Amsterdam, The Netherlands p.171-209.
- Nakatani, N and Kikuzaki, H. (1989) Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Oreganum vulgare* L.) . *Agric. Biol. Chem.* 53 : 519.
- Nakatani, N and Kikuzaki, H. (1993) Antioxidant effects of some ginger constituents, *J. of Food Science* 58:1407.
- Nakatani, N., Miura, K., and Inagaki, T. (1989) Structure of new deodorant biphenyl compounds from thyme (*Thymus Vulgaris* L.) and their activity against methylmercaptan. *Agric. Biol. Chem.* 53 : 1375.
- Nakatani, N., and Miura, K. (1989) Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus Vulgaris* L.). *Agric. Biol. Chem.* 53 : 3043.
- Namiki, M. (1990) Antioxidants / antimutagens in Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* 29:281-300.
- Nawar, W. W. (1985) Lipid in "Food Chemistry", p. 139-244. Fennema, O. R. Ed., Marcel Dekker, INC., New York.
- Niki, E., Yamamoto, Y., Komuro, E. and Sato, K. (1991) Membrane damage due to lipid oxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 : 201.
- Osawa, T. and Namiki, M. (1985) Natural antioxidants isolated from *Eucalyptus* leaf waxes. *J. Agric. Food Chem.* 33 : 777.

- Osawa, T., Nagata, M., and Fukuda, Y. (1985), Sesamolol, a novel antioxidant isolated from sesame seeds. *Agric. Biol. Chem.* 49 : 3351.
- Osawa, T. (1992) Phenolic antioxidants in dietary plants as antimutagens. In *Phenolic compounds in food and their effects on health* ; Ho, C. H., Lee, C. Y. and Huang, M. T., Eds.; American Hemical Society symposium series 506, New York, p.135.
- Partt, D.E. and Miller, E.E. (1984). A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (*Arachia hypogoea*). *JAOCS* 61 : 1064.
- Perkins, E. G. (1967) Formation of nonvolatile decomposition products in heated fats and oils. *Food Technol.* 21:125-134.
- Pongracz, G., Kracher, F. and Schuler, P., (1978-1987) Unpublished results from Technical Services for the Food and Pharmaceutical Industries, Vitamin Division, Roche Basel.
- Peters. (1990) Natural antioxidants exploited commercially; Hudson, B. J. F., Ed.; Food antioxidants, p.99. Elsevierscience Publishing Co. New York.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, T. and Kawakishi, S. (1988) Chemical studies on novel rice hull antioxidants. I. Isolation, Fractionation and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.* 36:732-737.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, T. and Kawakishi, S. (1989) Chemical studies of novel rice antioxidants. . Identification of isovitexin, a C-glycosyl flavonoid. *J. Agric. Food Chem.* 37:316-319.
- Reid, T. M. and Loeb, L. A. (1993) Effect of DNA Repair enzymes on

- mutagenesis by oxygen free radicals. *Mutat. Res.* 389:181-186.
- Robak, J. and Gryglewski, R. J. (1988) Flavonoids are scavengers of superoxide anions, *Biochem, Pharma.*37:837-841.
- Sherwin, E. R. (1978) Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J. Am.Oil Chem. Soc.*55 : 809
- Su, J.-D., Osawa, T., and Namiki, M. (1986) Screening for antioxidative activity of crude drugs. *Agric. Biol. Chem.* 50:199-203.
- Su, J.-D., Osawa, T., and Namiki, M. (1987a) . Antioxidative flavonoids isolated from *Osbeckia chinensis* L. *Agric. Biol.Chem.* 51 : 2801.
- Su, J.-D., Osawa, T., Kawakishi, S. and Namiki, M. (1987b). A novel antioxidative synergist isolated from *Osbeckia chinensis* L. *Agric. Biol. Chem.*51 : 3449.
- Thomson, D. M. (1986) *The meaning of flavour*. Academic Press, Inc., New York.
- Timberlake, C.F. and Bridle,P. (1975) *The Flavonoids*,Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H. Eds., Chapman & Hall, London,p.214.
- Toda, S., Tonizawa, H., Arichi, S. and Takino, Y., (1984) Inhibitory effects of methanol extracts of crude drugs on the air oxidation of linoleic acid. *Yakugaku Zasshi* 104 : 394.
- Toda, S., Miyase, T., Arichi, H., Tanizawa, H., and Takino, Y. (1985) Natural antioxidants II. Antioxidative compounds isolated from seeds of *Plantago asiatica* Linne. *Chem. Pharm. Bull.* 33 : 1725.
- Waters, W.A.(1971)The kinetics and mechanism of metal-catalysed autoxidation. *J.Am. Oil Chem. Soc.* 48:427-433.

- Weatwood, S. A. (1993) Supercritical fluid extraction and its use in chromatographic sample preparation. Balckie, Glasgow.
- Yagi, K. (1987) Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipids.* 45:337-341.
- Yen, G.C. and Duh, P.D., (1993) Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *JAOCS* 70 : 383.
- Lu, Y. L. Foo, Y. (1999) Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry* 68:81-85.