台灣香檬枝葉萃取物之成分分析

宋佳穎，黃啟瑞，黃信綸，楊繼江*

摘要

台灣香檬*(Citrus depressa Hayata)*為台灣原生柑橘。台灣香檬果實因富含類黃酮及多酚成分，多用於保健功效產品開發。在種植果實之時，枝條的修剪是必要的工作，修剪枝條後會產生許多農業廢棄物，無法處理的狀況下通常直接露天焚燒，如此一來便造成空氣及生活環境的汙染，甚至引發火災。若能再利用枝條及葉子，不但減少廢棄物，更能創造台灣香檬的額外價值。本研究取用台東縣長濱鄉的台灣香檬枝條及葉子，乾燥磨粉以不同溶劑萃取後，以 LC-MS/MS 分析台灣香檬枝葉萃取物的成分。成分測定結果顯示，水萃取物的主要成分為 5-O-Caffeoylquinic acid 與 Quinic acid，酒精萃取物的主要成分為 Rutin, 5-O-Caffeoylquinic acid, Chrysoeriol, Kaempferol, Isorhamnetin, Baicalein，酒精與水混合萃取物的主要成分為 5-O-Caffeoylquinic acid, Quinic acid, Pyrogallol, Secoisolariciresinol，其他成分為 p-Coumaric acid, Neohesperidin, Umbelliferone, Coumaroylquinic acid。本研究提供了不同方式萃取台灣香檬枝葉的成分分析結果，並針對萃取物中的各種化合物、生物活性及保健功效進行探討，發現台灣香檬枝葉萃取物中含有多種抗氧化與抗發炎之酚類物質，可作為動物或藥用保健產品之原料來源，提供台灣香檬枝葉未來可能的研究方向，除了促進廢棄農材再利用，更可作為台東原生特色農產品開發之新標的。

關鍵字：台灣香檬、台東縣長濱鄉、抗氧化、多酚、LC/MS/MS

宋佳穎，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程研究生、台東馬偕紀念醫院營養課營養師。E-mail：a.g109@mmh.org.tw

黃啟瑞，國立臺東大學生醫農食研究中心助理研究員、國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組研究員、經濟部東部深層海水創新研發中心研究員。Email：crhuang.ksn@gmail.com

黃信綸，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、國立臺東大學食品生物技術應用二年制在職學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組專案經理、經濟部東部深層海水創新研發中心特色原料分析實驗室經理。Email：tom1203@srdc.org.tw

楊繼江(通訊作者)，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程教授、國立臺東大學生醫農食研究中心主任。Email：cyang@nttu.edu.tw

投稿日期:2021 年 6 月 1 日;修改日期:2021 年 6 月 15 日;通過日期:2021 年 6 月 18 日。

臺東大學綠色科學學刊 2021，11(1)，pp.20-38

Composition analysis of Citrus depressa branches and leaves extracts

Chia-Ying Sung, Ci-Ruei Huang, Hsin-Lun Huang, Chi-Chiang Yang *

Abstract

Citrus depressa Hayata is a native citrus in Taiwan. The fruit is rich in flavonoids and polyphenols, and is often used in dietary supplement. There are a lot of branches would be left after pruning. Open burning of these branches will cause pollution of the air and environment, even cause fires. If the branches can be reused, it will reduce wastes, as well as creating the additional value of *Citrus depressa* Hayata. In this study, the branches and leaves of *Citrus depressa* Hayata were taken from Changbin Township, Taitung County. The branches and leaves were grounded into powder and then extracted with different water, alcohol, or mixed water and alcohol. Finally, the components of the extract were analyzed by LC-MS/MS. The results show that the main components of the water extract are 5-O-Caffeoylquinic acid and Quinic acid. The main components of the alcohol extract are Rutin, 5-O-Caffeoylquinic acid, Chrysoeriol, Kaempferol, Isorhamnetin, and Baicalein. The components of mixed water and alcohol extract are 5-O-Caffeoylquinic acid, Quinic acid, Pyrogallol and Secoisolariciresinol. The other components are p-Coumaric acid, Neohesperidin, Umbelliferone, Coumaroylquinic acid. This study provides results of the main components from *Citrus depressa* Hayata branches and leaves. It is found that the extract contains a variety of antioxidant and anti-inflammatory phenols. Such substances can be used as the source of raw materials for animal or medicinal health products, providing the future research directions for the branches and leaves of *Citrus depressa* Hayata. In addition to promoting the reuse of discarded agricultural materials, it can also be used as a new target for the development of Taitung's original specialty agricultural products.

Keywords: *Citrus depressa* Hayata, Changbin Township, Taitung County, Antioxidant, Polyphenols, LC/MS/MS

Chia-Ying Sung, Master Student, Master Program in Biomedicine, National Taitung University; Clinical Dietitian, Taitung MacKay Memorial Hospital. E-mail: a.g109@mmh.org.tw

Chi-Ruei Huang, Adjunct Assistant Researcher, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center; Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Researcher, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center; Researcher, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs. Email: crhuang.ksn@gmail.com

Hsin-Lun Huang, Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine; On-Job Degree Program of Food Biotechnology Application, College of Science and Engineering, National Taitung University; Manager, Functional Ingredients and Food Inspection Integration Laboratory, Eastern Taiwan Deep Sea

Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs; Project Manager, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center. Email: tom1203@srdc.org.tw

Chi-Chiang Yang, Professor, Master Program in Biomedicine; Director, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center, College of Science and Engineering, National Taitung University. Email: cyang@nttu.edu.tw.

壹、前言

台灣香檬*(Citrus depressa)*與南庄橙*(Citrus taiwanica)*、蘭嶼酸橙*(Citrus aurantium)*、橘柑*(Citrus tachibana)*同為台灣原生柑橘。台灣香檬果實因富含類黃酮及多酚成分，多用於保健功效產品開發(林書妍、陳右人, 2006)。在種植果實之時，枝條的修剪也是必要的工作，修剪枝條後會產生許多農業廢棄物，無法處理的狀況下通常直接露天焚燒，如此一來便造成空氣及生活環境的汙染，甚至引發火災。先前已有台灣香檬的農業廢棄物再利用的例子，畜產試驗所高雄種畜繁殖場將廢棄香檬皮渣，乾燥成粉末後，以固定比例添加於豬隻用飼料，可提高保育仔豬的平均日增重，並且達到豬糞除臭的效果(王漢昇, 2019)。飼料中添加 5%台灣香檬葉粉餵食尖吻鱸魚，可以增加對 Aeromonas hydrophila（親水產氣單胞菌）的抗病性(Shiu et al., 2016)。

本研究取用台灣香檬枝條及葉子，以不同溶劑萃取後，分析其成分。期望除了果實及果皮之外，提供更多農業廢棄物再利用的可能性，並且能對台灣原生柑橘有更多的認識與推廣。

貳、文獻探討

一、台灣香檬特徵

台灣香檬為台灣原生種，芸香科（Rutaceae）柑橘屬（Citrus）植物，又稱為扁實檸檬（Hirami lemon）或山桔仔，沖繩稱之為 Shiikuwasha，由台北帝大教授田中長三郎分類，學名 *Citrus depressa* Hayata。台灣香檬為常綠灌木，枝細長呈暗綠色，小枝具有長 1 公分的棘刺。葉為互生，卵狀橢圓形，長 7 公分、寬 3 公分，葉面光滑，葉柄長 8 毫米。果實為扁圓形，果直徑 3 公分，果肉味酸。台灣香檬原生地分布於台灣低海拔地區及日本沖繩 (特有生物研究保育中心; 許再文 et al., 2015)。

在日本沖繩大宜村、屏東九如鄉、麟洛鄉及台東長濱鄉皆有人工種植，日本沖繩將其作為酸味調料，1965 年代開始果汁生產。台灣主要產品為香檬整顆果粒榨成的原汁、香檬葉和果皮製成的茶包以及果皮乾燥製成的粉末。

二、台灣香檬的萃取成分

台灣香檬植物部位及萃取方法的選擇，對於萃取物成分及抗氧化活性有關鍵性的影響。大多數的研究針對從果皮及果肉獲得萃取物及精油進行成分分析。

過去的研究使用果實榨汁之殘渣，在過熱蒸氣 1 分鐘、水活性<0.5、90℃乾燥溫度的環境下，得到比真空冷凍乾燥更高產量的 PMFs，其中川陳皮素為 11.18 mg/g，橘皮素為 6.05 mg/g (趙麗萍, 2013)。

一篇研究將未成熟的外果皮，使用蒸氣蒸餾法（50g 切小片的果皮用 500 ml 水，蒸餾 5 小時）或冷壓法（手壓後收集在氯化鈉溶液中並置於冰上，將油在 4℃以 2900×g 離心 15 分鐘，油層在 5℃下用無水硫酸鈉脫水過夜後過濾），取得果皮萃取物。實驗結果發現，蒸氣蒸餾法可提高萃取產量，並獲得更多揮發性香氣化合物，如 limonene、γ-terpinene 及 p-cymene。DPPH 的自由基清除活性測定顯示，冷壓萃取物的抗氧化活性優於蒸氣蒸餾萃取物，因其減少了熱暴露，進而避免酚類成分的流失(Asikin, Taira, Inafuku, et al., 2012)。

將台灣香檬果皮烘乾後，用乙醇萃取的粗萃物中，總酚含量 2174.4 mg gallic acid equivalent/100 g DW，總黃酮含量 1396.1 mg quercetin equivalent/100 g DW，類黃酮化合物橙皮苷 30.65 mg、川陳皮素 54.74 mg 和橘皮素 15.75 mg (葉宣佑, 2018)。

另一研究使用果皮，以 methanol (MeOH)萃取後，以分配層析法得到乙酸乙酯 ethyl acetate (EA)、丁醇 n-butanol (n-BuOH) 及水層的不同樣本，使用 HPLC 定量分析，並進行抑制 NO 生成活性評估。成分分析發現果皮中含有 hesperidin 、nobiletin、 diosmin 、tangeretin 及 5F (5-hydroxy-3’,4’,6,7,8-pentamethoxyflavone)，以前兩者含量最高。抑制 NO 生成活性評估的實驗結果，以 EA 層中 nobiletin 與 tangeretin 較高的區段有較好的表現(蔡秉昌 & 賴宏亮, 2012)。

依據不同生物活性物質的特性，須選擇不同的分析方法，以測得正確的目標成分及含量。有研究將香檬果皮以冷壓方式萃取後，使用氣相層析(gas chromatography, GC)測定揮發性香氣含量與組成，並以氣相層析質譜儀(GC-MS)鑑定其中的化合物，發現主要成分為單萜碳氫化合物(monoterpene hydrocarbons)，包括 limonene（46.52-68.26％）及 γ-terpinene（21.48-30.52％）。使用高效液相層析法(high-performance liquid chromatography, HPLC)得到的結果，黃烷酮類的主要成分為橙皮苷，只有種植在 Izumi kugani 是新橙皮苷較高，而 PMFs 則為川陳皮素（56.74-64.77%）和橘皮素（23.17-34.70%） (Asikin, Taira, Inafuku-Teramoto, et al., 2012)。

關於台灣香檬其他部位的研究，1986 年的研究從香檬根部用乙醇萃取出 Citracridone-I，並評估其對實驗大鼠的小腸推進運動，實驗結果能舒緩小腸痙攣(Yang et al., 1987)。一篇日本研究將乾燥香檬的莖磨碎後，製作成乙醇萃取物並加入 DPPH，

觀察不同時間 HPLC 峰強度的變化，以判斷何種化合物具有較高的抗氧化能力，再使用 UV spectrum 確認其結構 (Masuda et al., 2003)。葉子萃取物的研究則有兩篇，一篇較早期的研究，以水蒸氣蒸餾萃取後，使用氣相液相層析(gas-liquid chromatography, GLC)分析，主要成分為 γ-Terpinene (51.3%)(Fujita & Yamashita, 1974)。另一篇使用固相微萃取(SPME)並以 GC-MS 分析，發現葉子中有較高量的芳樟醇(Linalool, 23.56%)及香茅醇(citronellol, 12.51%)(Lin et al., 2010)。將花朵以固相微萃取技術(SPME)萃取揮發性成分，經過 GC-MS 分析的結果，台灣香檬花朵的揮發性主成分為 β-pinene，佔總揮發性成分的 34.3%(曹乃文 et al., 2018)。

整理以上研究結果，發現台灣香檬富含類黃酮（Flavonoid），如多甲氧基黃酮化合物（polymethoxylated flavones, PMFs）的川陳皮素（Nobiletin）與橘皮素（Tangeretin），黃烷酮（Flavanones）的橙皮苷（Hesperidin）與新橙皮苷（Neohesperidin），以及黃酮醇（Flavonols）的芸香苷（Rutin）、槲皮素（Quercetin）及山奈酚（Kaempferol）。先前台灣香檬成分成分分析多聚焦於果實或果皮之揮發性成分，較少探討樹枝及葉子的萃取物成分，本研究主要探討台灣香檬枝葉萃取物之主要成分。

參、研究方法

一、樣品來源及處理

2019 年 7 月於台東縣長濱鄉，取得台灣香檬枝條與葉子 500 公克，將其剪碎後，以 60℃烘乾、磨粉後儲存於乾燥箱（溫度 25℃、濕度 40%）備用。台灣香檬枝葉萃取物樣品分為水萃取（Water extract, WE）、酒精萃取（Alcohol extract, AE）、酒精水混合萃取（Mixed water and alcohol extract, ME）。水萃溶劑為二次水，酒萃溶劑為 95%酒精，酒水萃溶劑為二次水與 95%酒精以 1:1 的比例混合。香檬乾燥粉末與溶劑以 1:10 的比例混合後，震盪 24 小時。取上清液以 0.45 μm 濾膜過濾，置於 40℃烘箱乾燥約 5~7 天，待樣品成為固體，秤重後以二次水回溶，0.22 μm 濾膜過濾，製成濃度 0.2 g/mL 之樣品，於-20℃冰箱冷凍備用。

二、成分分析方法

利用液相層析串聯質譜儀（LC/MS/MS）分析不同萃取方法得到的台灣香檬樹枝條萃取物，以檢測萃取物中的多酚或類黃酮等非揮發性物質。將上述過濾所得之原液稀釋 100 倍後，以 0.2 μm 濾膜過濾，使用 C18 管柱進行梯度分析試驗，移動相為乙晴與 2.5%之甲酸溶液，並以梯度之形式洗滌，有效分離出萃取物中的多酚與類黃酮物

質，並以相對應之標準品進行標準曲線繪製，訂定其內之含量。設備條件及規格如下：液相層析串聯質譜儀（LC/MS/MS）含 Shimadzu LC-30A 與 Ab SCIEX Triple Quad 4500 System 設備 (AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System)。層析管 Dikma tech HPLC，C18(2)，5 μm，內徑 4.6 mm × 150 mm。

肆、結果與討論

以 LC-MS/MS 分析台灣香檬枝葉萃取物的成分，WE 的主要成分為 5-O-Caffeoylquinic acid 與 Quinic acid (Figure 1)。AE 的主要成分為 Rutin, 5-O-Caffeoylquinic acid, Chrysoeriol, Kaempferol, Isorhamnetin, Baicalein (Figure 2)。ME 的主要成分為 5-O-Caffeoylquinic acid 及 Quinic acid，與 WE、AE 的分析結果稍有不同，ME 中多了 Pyrogallol 與 Secoisolariciresinol (Figure 3)。其他成分為 p-Coumaric acid, Neohesperidin, Umbelliferone, Coumaroylquinic acid。

與先前研究結果比較，本研究結果不同於果實或果皮提取的揮發性物質(Table 1)，台灣香檬枝葉含有較多綠原酸、奎尼酸、芸香苷等酚類化合物，以下為各種化合物之特性、生物活性與化學結構式(Table 2)。

5-O-Caffeoylquinic acid，咖啡醯奎尼酸，為綠原酸(Chlorogenic acid, CGA)最常見的一種形式，生咖啡豆中的含量最豐富，也存在於烘焙咖啡豆、蘋果、胡蘿蔔、馬鈴薯等食物中，具抗氧化、抗發炎、抗肥胖、以及抗代謝症候群的效果(Liang & Kitts, 2015; Santana-Gálvez et al., 2017)。一篇文獻回顧在搜集 69 篇動物實驗及 25 篇人體臨床試驗後發現，CGA 可藉由調節醣類與脂質代謝、減少自由基、具抗氧化及抗發炎等生物活性，進一步達到抗糖尿病、抗肥胖、心血管保護、神經保護、抗腫瘤、肝功能保護及鎮痛等作用(Tajik et al., 2017)。

Quinic acid (QA)，奎尼酸，又稱金雞納酸，通常與反式羥基肉桂酸(trans-hydroxycinnamic acid)酯化(esterification)合成綠原酸，反式羥基肉桂酸主要是對香豆酸(p-coumaric acid)、咖啡酸(caffeic acid)、阿魏酸(ferulic acid)及芥子酸(sinapic acids)。QA 在水醇混合之溶劑如 70% MeOH 較易萃取，並以 LC-MS 檢測(Clifford et al., 2017)。QA 抑制了小鼠血管平滑肌細胞中，TNF-α 誘導血管細胞黏附分子的 mRNA 及蛋白質的表達以及單核球的黏附，證明奎尼酸具有抑制血管發炎如動脈粥樣硬化的能力(Jang et al., 2017)。其他研究也顯示，綠原酸及奎尼酸可減少 X-ray 對血液淋巴細胞的 DNA 損傷，提供了輻射防護作用(Cinkilic et al., 2013)。

Rutin，芸香苷，結構為 Quercetin（槲皮素）加上雙醣基，多存在於蕎麥、蘆筍、櫻桃、葡萄、李子與柑橘類水果與果皮。rutin 可減少促發炎因子、提高抗氧化酵素活性、調節神經疾病相關 mRNA 的表達，對於多種神經退化性疾病，如阿茲海默症、帕金森氏症、亨丁頓舞蹈症，具有神經保護作用與治療神經退化性疾病的潛力(Enogieru et al., 2018)。在血糖調節的部分，數個動物實驗證明，rutin 可減少小腸對碳水化合物的吸收、抑制組織的糖質新生、增加組織對葡萄糖的汲取、刺激 β 細胞分泌胰島素，並且減少活性氧、糖化終產物前體及發炎細胞激素的形成，具有抗高血糖特性，對糖尿病併發症的發展有保護效果(Ghorbani, 2017)。體內實驗模型中，暴露於 UVA 或 UVB 的纖維母細胞，保護細胞膜的維生素 E、維生素 C 與麩胱甘肽等抗氧化物質會下降，rutin 抑制了以上的作用、減少細胞內活性氧的生成，以及減少脂質過氧化作用，可以抵禦紫外線引起的磷脂膜結構及功能的變化(Gęgotek et al., 2017)。另一項研究以人類真皮纖維母細胞測定 rutin 的抗衰老作用，發現 rutin 增加了膠原蛋白 I 型的 mRNA 表達，並且刺激活性氧的清除活性，證明了 rutin 對活性氧誘導的皮膚老化作用(Choi et al., 2016)。

Chrysoeriol，金聖草素，在過氧化氫誘導視網膜色素上皮細胞(RPE)氧化壓力的實驗中，證明 Chrysoeriol 減少活性氧的產生，增強了轉錄因子 Nrf2 與抗氧化基因 HO-1 與 NQO-1，對 RPE 細胞的氧化壓力有保護作用(Kim et al., 2021)。其他研究發現 Chrysoeriol 可以針對參與癌症發生和發展的關鍵蛋白質作用，例如形成致癌物質的酵素 CYP1B1、抑制細胞凋亡的組成型蛋白激酶 CK2 等，Chrysoeriol 的衍生物也被發現可以通過與 Bcl2 抗凋亡蛋白 BH3 結構的結合以促進癌細胞凋亡(Barreca et al., 2020)。

Kaempferol，山奈酚，在菠菜、羽衣甘藍、中國白菜、蒔蘿、細香蔥中含量豐富，因其抗發炎活性，在體外及動物試驗發現具有潛在心臟保護作用，減少冠心病的死亡率(Dabeek & Marra, 2019)。

Baicalein，黃芩素，為中藥材黃芩根部的主要活性成分，可抑制金黃色葡萄球菌生物膜形成，具抗氧化活性，抗發炎、抗阿茲海默症。對缺乏葡萄糖的神經元有保護作用(Chen et al., 2016; Hsieh et al., 2007; Li et al., 2017; Zhang et al., 2013; 李欣學, 2001)。

p-Coumaric acid (p-CA)，對香豆酸，可作為酚酸、類黃酮及木質素的前驅物。以游離型態富含於亮蓋靈芝、雞油菌、繡球菌等真菌類中，也存在於洋蔥皮、胡桃、梨子等植物，具有抗菌、抗病毒、抗癌、抗血小板聚集等作用(Pei et al., 2016)。將大鼠注射 p-CA 或生理食鹽水共十天，在第八天以 LPS 引發急性肺部發炎，發現其支氣管

肺泡灌洗的檢體中，p-CA 組別的 IL-6 與 TNF-α 濃度較低，顯示 p-CA 的預先治療可調節肺損傷發炎狀態下的氧化壓力(Kheiry et al., 2019)。小鼠動物實驗顯示，誘導腦缺血再灌注(IR)前，預先餵食兩周 p-CA，相較於 IR 組，顯著降低了丙二醛濃度、全腦梗死體積及海馬神經元死亡，並增加過氧化氫酶與超氧化物歧化酶活性(Sakamula & Thong-Asa, 2018)。

Neohesperidin (NH)，新橙皮苷，多存在於柑橘類果皮。有研究指出，NH 可抑制切除卵巢小鼠的破骨細胞分化、骨質吸收與破骨細胞基因的表達，可防止小鼠的骨質流失，對骨質疏鬆症具有抗分解的潛力(Tan et al., 2017)。在大鼠大腦中動脈阻塞(Middle Cerebral Artery Occlusion, MCAO)的實驗模型中，發現 NH 可減輕大腦梗死體積、增強抗氧化能力，並透過 Akt/Nrf2/HO-1 途徑的調節抑制大腦的氧化壓力，從而減輕腦缺血再灌注的損傷(Wang & Cui, 2013)。

Umbelliferone，傘形花內酯，為香豆素的衍生物(7-hydroxycoumarin)，在豆科、蘭科、芸香科、繖形科、茄科和菊科中含量豐富。具有抗氧化、抗發炎、抗糖尿病(Su et al., 2016)、抗腫瘤(Vijayalakshmi & Sindhu, 2017)等生物活性。在心肌缺血的動物實驗中，發現 Umbelliferone 透過降低發炎細胞激素，對心肌缺血的損傷具有保護作用(Gan et al., 2018)。

Pyrogallol，連苯三酚，為芳香族化合物，沒食子酸加熱脫羧而得，由於 Pyrogallol 的強還原力，除了用作金、銀、汞鹽的活性還原劑，也用於製造藥物及殺蟲劑，並可作為鍋爐中的除氧劑以抑制腐蝕，Pyrogallol 也是乙醯膽鹼酯酶(AChE)的抑制劑，這類抑制 AChE 的藥物多用於治療阿茲海默症(Ozturk Sarikaya, 2015)。研究發現 Pyrogallol 有降低創傷弧菌的生長、抑制乳管原位癌的增生的功能，且可抑制 α-glucosidase 而具有抗糖尿病的潛力(Zheng et al., 2018)。

Secoisolariciresinol，開環異落葉松脂醇，苯丙烷類化合物，食物來源以亞麻籽含量最高。在哺乳類結腸中，腸道微生物可將糖苷型式的 secoisolariciresinol diglucoside (SDG) 轉化為 Secoisolariciresinol，再進一步轉化為木酚素(lignan) 的腸內脂(enterolignan)與腸內二脂(enterodiol) (魏至宇, 2010)。SDG 是一種抗氧化的植物雌激素，在高脂飲食誘導肥胖的小鼠實驗中，發現 SDG 可透過 AMPK 途徑抑制脂肪生成，減少肥胖小鼠的體重及脂肪組織的大小，具抗肥胖的作用(Kang et al., 2018)。Secoisolariciresinol 不但抑制乳腺癌細胞 MCF-7 增殖，並促進其細胞凋亡作用，以及顯著的抗雌激素作用(Scherbakov et al., 2020)。

由以上研究結果得知，台灣香檬枝葉萃取物中含有多種抗氧化、抗發炎之酚類及黃酮類化合物，大多可減少自由基的產生、增加體內抗氧化酵素的活性，對活性氧造成的細胞傷害具有保護作用，甚至能調節腫瘤相關基因或蛋白質的表現，進而抑制腫瘤細胞的增生與發展。酚類化合物對於高血糖或肥胖等代謝性疾病也有抑制與減緩的作用，例如 CGA, Rutin, Pyrogallol。因此，台灣香檬枝葉萃取物具有開發動物或藥用保健食品之潛力。

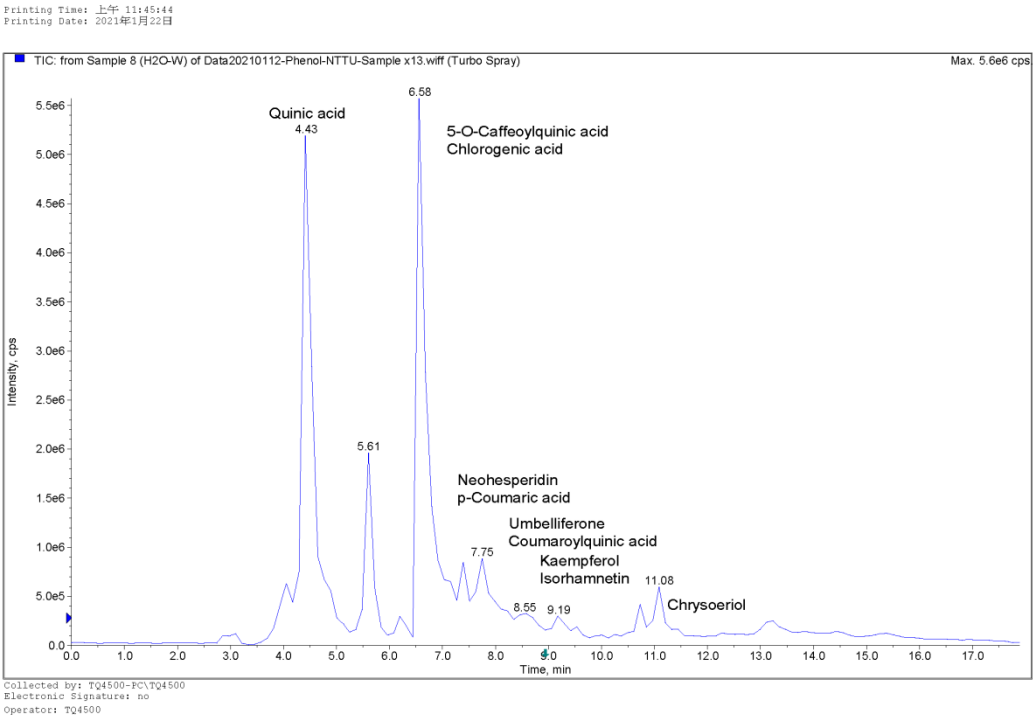


Figure 1 台灣香檬枝葉萃取物（WE）LC-MS/MS 成分分析之結果

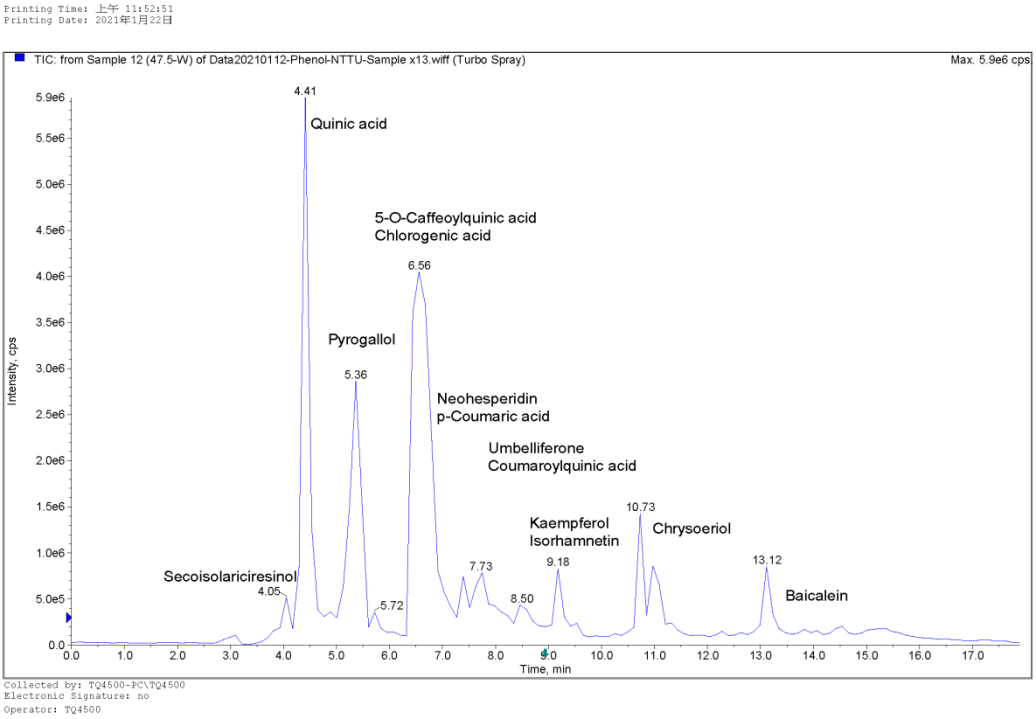


Figure 2 台灣香檬枝葉萃取物（AE）LC-MS/MS 成分分析之結果

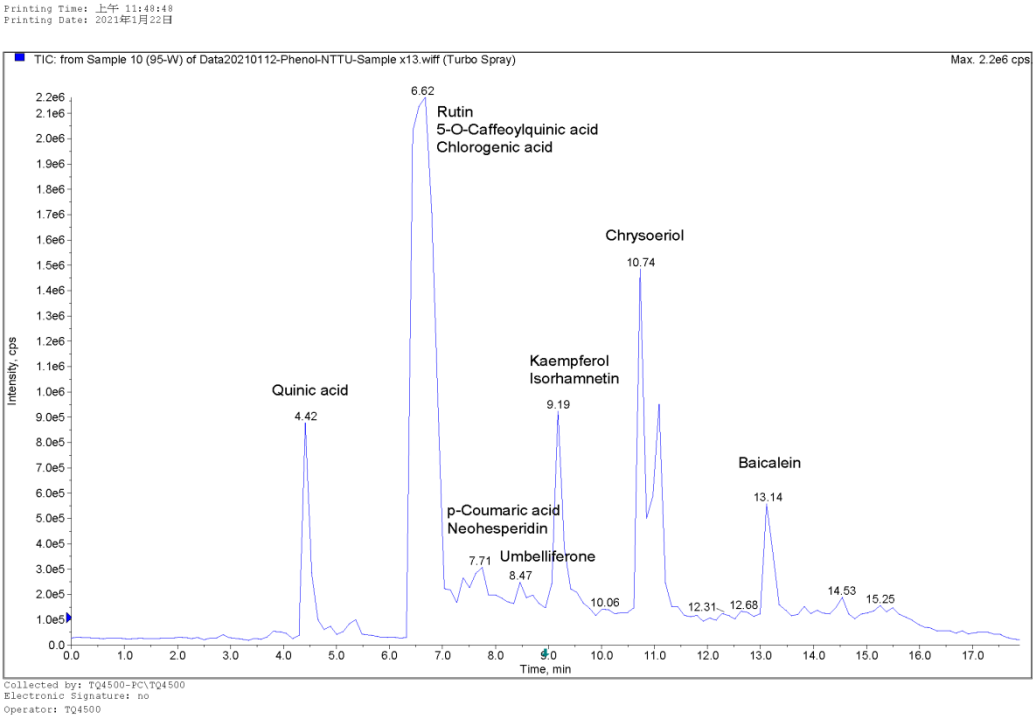
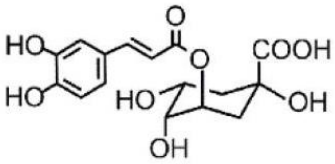
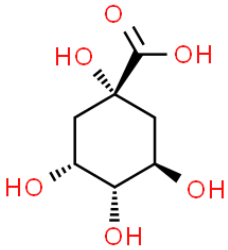
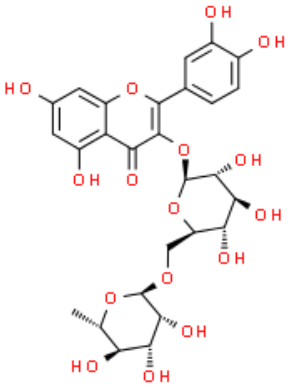
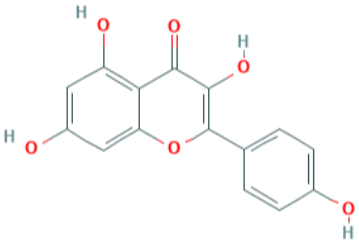
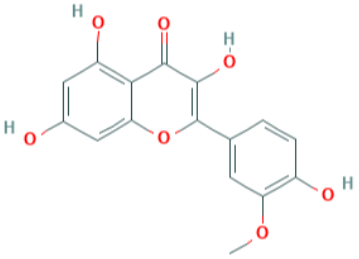


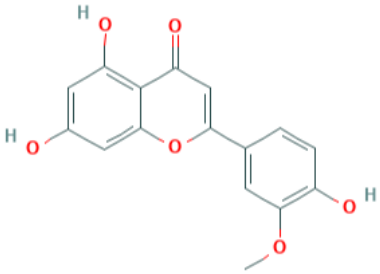
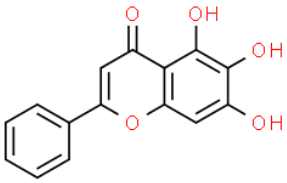
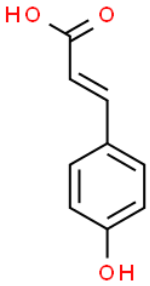
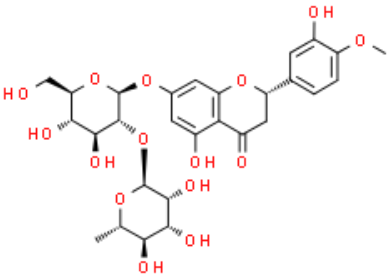
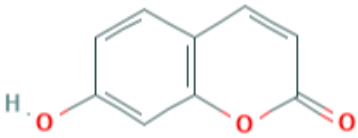
Figure 3 台灣香檬枝葉萃取物（ME）LC-MS/MS 成分分析之結果

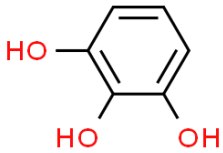
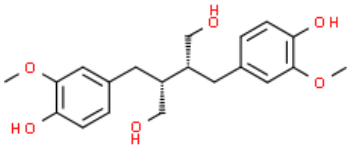
Table 1 台灣香檬各部位之萃取成分

萃取部位	萃取方式	分析方式	萃取成分	參考資料
果實榨汁之殘渣	過熱蒸氣 1 分鐘 水活性<0.5 90℃乾燥	HPLC LC/MS	Nobiletin Tangeretin	(趙麗萍, 2013)
未成熟果皮	蒸氣蒸餾 或冷壓	GC	Limonene γ-terpinene p-cymene	(Asikin, Taira, Inafuku, et al., 2012)
果皮	烘乾後 乙醇萃取	-	Nobiletin Tangeretin Hesperidin	(葉宣佑, 2018)
果皮	methanol 萃取 分配層析法 乙酸乙酯	HPLC	Hesperidin Nobiletin Diosmin Tangeretin	(蔡秉昌 & 賴宏亮, 2012)
果皮	冷壓	GC-MS	Monoterpene hydrocarbons Limonene γ-terpinene	(Asikin, Taira, Inafuku-Teramoto, et al., 2012)
果皮	冷壓	HPLC	Nobiletin Tangeretin Hesperidin	(Asikin, Taira, Inafuku-Teramoto, et al., 2012)
根部	乙醇萃取物	-	Citracridone-I	(Yang et al., 1987)
葉子	水蒸氣蒸餾萃取	GLC	γ-Terpinene	(Fujita & Yamashita, 1974)
葉子	固相微萃取 (SPME)	GC-MS	Linalool Citronellol	(Lin et al., 2010)
花朵	固相微萃取 (SPME)	GC-MS	β-pinene	(曹乃文 et al., 2018)
樹枝、葉子	水/酒精/ 酒精水混合 萃取	LC/MS/MS	5-O-Caffeoylquinic acid Quinic acid Rutin Chrysoeriol Kaempferol	本研究

Table 2 台灣香檬枝葉萃取物成分之化學結構式

化合物	分類	分子結構及資料來源
5-O-Caffeoylquinic acid 咖啡醯奎尼酸	Phenolic acid	 (Liang & Kitts, 2015)
Quinic acid 奎尼酸	Phenolic acid	 ChemSpider ID 10246715
Rutin 芸香苷	Flavonols	 ChemSpider ID 4444362
Kaempferol 山奈酚	Flavonols	 CID 5280863
Isorhamnetin 異鼠李素	Flavonols	 CID 5281654

Chrysoeriol 金聖草素	Flavonols	 CID 5280666
Baicalein 黃芩素	Flavones	 ChemSpider ID 4444924
p-Coumaric acid 對香豆酸	Phenolic acid	 ChemSpider ID 553148
Neohesperidin 新橙皮苷	Flavanones	 ChemSpider ID 390879
Umbelliferone 傘形花內酯	Phenolic acid	 CID 5281426

Pyrogallol 連苯三酚	Phenolic compound	 ChemSpider ID 13835557
Secoisolariciresinol 開環異落葉松脂醇	phenylpropanoid	 ChemSpider ID 58845

Note. Compound structure copyright by Royal Society of Chemistry (2021) for ChemSpider ID, and National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID.

伍、結論

本研究使用來自台東縣長濱鄉的台灣香檬枝葉乾燥粉末，提供了以不同方式萃取的成分分析結果，並與先前研究結果比較，例如不同植物部位、萃取方式及分析儀器等，以多面向瞭解台灣香檬植株之特性。本研究針對萃取物中的各種化合物、生物活性及保健功效進行探討，發現多種抗氧化與抗發炎之酚類物質，可作為動物或藥用保健產品的原料來源，提供台灣香檬枝葉未來可能的研究方向，除了促進廢棄農材再利用，更可作為台東原生特色農產品開發之新標的。

致謝

感謝台東馬偕紀念醫院提供研究計劃經費（計畫編號：TTMMH-109-11）。感謝東湘農創商行劉威麟先生提供台灣香檬枝葉作為實驗材料。

參考文獻

一、中文部分

王漢昇, 許. 李. 黃. 張. (2019)。台灣香檬應用在保育仔豬飼料之生長效益評估。*中國畜牧學會會誌, 48 增刊*, 336-336.

李欣學 (2001)。**漢黃芩素、黃芩甘與黃芩甘元之神經保護作用研究**。臺北醫學大學生藥學研究所碩士學位論文，臺北市。

林書妍、陳右人 (2006)。臺灣原生柑橘之研究及利用現況。*植物種苗, 8:1-12*.

特有生物研究保育中心。*台灣野生植物資料庫－台灣香檬*。取自 http://plant.tesri.gov.tw/plant106/WebPlantDetail.aspx?tno=417004171

曹乃文, 賴建興, 曾彥學, & 王升陽 (2018)。4 種台灣芸香科柑橘屬植物花朵之揮發性成份比較分析 [Comparative analysis of flowers volatiles from 4 citrus in taiwan]。*中華林學季刊, 51*(1), 87-92.

許再文, 陳祈男, & 何東輯 (2015)。台灣產柑橘屬（芸香科）植物 [Notes of Citrus (Rutaceae) in Taiwan]。*台灣生物多樣性研究, 17*(1), 67-73.

葉宣佑 (2018)。**扁實檸檬果皮粗萃取物預防肝細胞損傷之功效評估與機制探討**。中原大學中原大學生物科技研究所碩士學位論文，桃園市。

趙麗萍 (2013)。**探討扁實檸檬中多甲氧基黃酮之最適化熱處理**。國立屏東科技大學食品科學系所碩士學位論文，屏東市。

蔡秉昌, & 賴宏亮. (2012). 臺灣香檬果皮成分分析、抗氧化及抑制一氧化氮活性之研究 [Component Analysis and Antioxidant and Anti-nitric Oxide Activities of Peel of Citrus Depressa Hayata]. *作物、環境與生物資訊, 9*(1), 41-56.

魏至宇 (2010)。**融合松脂醇-落葉松脂醇還原酶及裂環落葉去氫酶將松脂醇連續轉化為羅漢松脂醇**。國立國立臺灣大學生化科技學系碩士學位論文，臺北市。

二、外文部分

Asikin, Y., Taira, I., Inafuku-Teramoto, S., Sumi, H., Ohta, H., Takara, K., & Wada, K. (2012). The composition of volatile aroma components, flavanones, and polymethoxylated flavones in Shiikuwasha (Citrus depressa Hayata) peels of different cultivation lines. *J Agric Food Chem, 60*(32), 7973-7980. https://doi.org/10.1021/jf301848s

Asikin, Y., Taira, I., Inafuku, S., Sumi, H., Sawamura, M., Takara, K., & Wada, K. (2012). Volatile aroma components and antioxidant activities of the flavedo peel extract of unripe Shiikuwasha (Citrus depressa Hayata). *J Food Sci, 77*(4), C469-475. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02604.x

Barreca, D., Mandalari, G., Calderaro, A., Smeriglio, A., Trombetta, D., Felice, M. R., & Gattuso, G. (2020). Citrus Flavones: An Update on Sources, Biological Functions,

and Health Promoting Properties. *Plants (Basel), 9*(3). https://doi.org/10.3390/plants9030288

Chen, Y., Liu, T., Wang, K., Hou, C., Cai, S., Huang, Y., Du, Z., Huang, H., Kong, J., & Chen, Y. (2016). Baicalein Inhibits Staphylococcus aureus Biofilm Formation and the Quorum Sensing System In Vitro. *PLOS ONE, 11*(4), e0153468-e0153468. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153468

Choi, S. J., Lee, S. N., Kim, K., Joo da, H., Shin, S., Lee, J., Lee, H. K., Kim, J., Kwon, S. B., Kim, M. J., Ahn, K. J., An, I. S., An, S., & Cha, H. J. (2016). Biological effects of rutin on skin aging. *Int J Mol Med, 38*(1), 357-363. https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2604

Cinkilic, N., Cetintas, S. K., Zorlu, T., Vatan, O., Yilmaz, D., Cavas, T., Tunc, S., Ozkan, L., & Bilaloglu, R. (2013). Radioprotection by two phenolic compounds: Chlorogenic and quinic acid, on X-ray induced DNA damage in human blood lymphocytes in vitro. *Food and Chemical Toxicology, 53*, 359-363. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.008

Clifford, Michael N., Jaganath, I. B., Ludwig, I. A., & Crozier, A. (2017). Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity [10.1039/C7NP00030H]. *Natural Product Reports, 34*(12), 1391-1421. https://doi.org/10.1039/C7NP00030H

Dabeek, W. M., & Marra, M. V. (2019). Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular-Related Bioactivity in Humans. *Nutrients, 11*(10), 2288. https://doi.org/10.3390/nu11102288

Enogieru, A. B., Haylett, W., Hiss, D. C., Bardien, S., & Ekpo, O. E. (2018). Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. *Oxid Med Cell Longev, 2018*, 6241017. https://doi.org/10.1155/2018/6241017

Fujita, H., & Yamashita, M. (1974). [The constituents of the essential oil from the leaves of Citrus depressa Hayata (author's transl)]. *Yakugaku Zasshi, 94*(5), 652-654. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.94.5_652

Gan, J., Qian, W., & Lin, S. (2018). Umbelliferone Alleviates Myocardial Ischemia: the Role of Inflammation and Apoptosis. *Inflammation, 41*(2), 464-473. https://doi.org/10.1007/s10753-017-0702-6

Gęgotek, A., Bielawska, K., Biernacki, M., Dobrzyńska, I., & Skrzydlewska, E. (2017). Time-dependent effect of rutin on skin fibroblasts membrane disruption following UV radiation. *Redox Biol, 12*, 733-744. https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.04.014

Ghorbani, A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomed Pharmacother, 96*, 305-312. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.001

Hsieh, C.-J., Hall, K., Ha, T., Li, C., Krishnaswamy, G., & Chi, D. S. (2007). Baicalein inhibits IL-1beta- and TNF-alpha-induced inflammatory cytokine production from human mast cells via regulation of the NF-kappaB pathway. *Clinical and molecular allergy : CMA, 5*, 5-5. https://doi.org/10.1186/1476-7961-5-5

Jang, S. A., Park, D. W., Kwon, J. E., Song, H. S., Park, B., Jeon, H., Sohn, E. H., Koo, H. J., & Kang, S. C. (2017). Quinic acid inhibits vascular inflammation in TNF-α-stimulated vascular smooth muscle cells. *Biomed Pharmacother, 96*, 563-571. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.021

Kang, J., Park, J., Kim, H. L., Jung, Y., Youn, D. H., Lim, S., Song, G., Park, H., Jin, J. S., Kwak, H. J., & Um, J. Y. (2018). Secoisolariciresinol diglucoside inhibits adipogenesis through the AMPK pathway. *Eur J Pharmacol, 820*, 235-244. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.12.038

Kheiry, M., Dianat, M., Badavi, M., Mard, S. A., & Bayati, V. (2019). p-Coumaric Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation in Rats by Scavenging ROS Production: an In Vivo and In Vitro Study. *Inflammation, 42*(6), 1939-1950. https://doi.org/10.1007/s10753-019-01054-6

Kim, M. H., Kwon, S. Y., Woo, S. Y., Seo, W. D., & Kim, D. Y. (2021). Antioxidative Effects of Chrysoeriol via Activation of the Nrf2 Signaling Pathway and Modulation of Mitochondrial Function. *Molecules, 26*(2). https://doi.org/10.3390/molecules26020313

Li, Y., Zhao, J., & Hölscher, C. (2017). Therapeutic Potential of Baicalein in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *CNS Drugs, 31*(8), 639-652. https://doi.org/10.1007/s40263-017-0451-y

Liang, N., & Kitts, D. D. (2015). Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients, 8*(1), 16. https://doi.org/10.3390/nu8010016

Lin, S. Y., Roan, S. F., Lee, C. L., & Chen, I. Z. (2010). Volatile organic components of fresh leaves as indicators of indigenous and cultivated citrus species in Taiwan. *Biosci Biotechnol Biochem, 74*(4), 806-811. https://doi.org/10.1271/bbb.90891

Masuda, T., Inaba, Y., Maekawa, T., Takeda, Y., Yamaguchi, H., Nakamoto, K., Kuninaga, H., Nishizato, S., & Nonaka, A. (2003). Simple detection method of powerful antiradical compounds in the raw extract of plants and its application for the identification of antiradical plant constituents. *J Agric Food Chem, 51*(7), 1831-1838. https://doi.org/10.1021/jf026112m

Ozturk Sarikaya, S. B. (2015). Acethylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol. *J Enzyme Inhib Med Chem, 30*(5), 761-766. https://doi.org/10.3109/14756366.2014.965700

Pei, K., Ou, J., Huang, J., & Ou, S. (2016). p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *J Sci Food Agric, 96*(9), 2952-2962. https://doi.org/10.1002/jsfa.7578

Sakamula, R., & Thong-Asa, W. (2018). Neuroprotective effect of p-coumaric acid in mice with cerebral ischemia reperfusion injuries. *Metab Brain Dis, 33*(3), 765-773. https://doi.org/10.1007/s11011-018-0185-7

Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2017). Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical

against Metabolic Syndrome. *Molecules (Basel, Switzerland), 22*(3), 358. https://doi.org/10.3390/molecules22030358

Scherbakov, A. M., Stasevich, O. V., Salnikova, D. I., Andreeva, O. E., & Mikhaevich, E. I. (2020). Antiestrogenic and antiproliferative potency of secoisolariciresinol diglucoside derivatives on MCF-7 breast cancer cells. *Nat Prod Res*, 1-7. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1826479

Shiu, Y. L., Lin, H. L., Chi, C. C., Yeh, S. P., & Liu, C. H. (2016). Effects of hirami lemon, Citrus depressa Hayata, leaf meal in diets on the immune response and disease resistance of juvenile barramundi, Lates calcarifer (bloch), against Aeromonas hydrophila. *Fish Shellfish Immunol, 55,* 332-338. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.001

Su, Q., Tao, W., Wang, H., Chen, Y., Huang, H., & Chen, G. (2016). Umbelliferone attenuates unpredictable chronic mild stress induced-insulin resistance in rats. *IUBMB Life, 68*(5), 403-409. https://doi.org/10.1002/iub.1496

Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *Eur J Nutr, 56*(7), 2215-2244. https://doi.org/10.1007/s00394-017-1379-1

Tan, Z., Cheng, J., Liu, Q., Zhou, L., Kenny, J., Wang, T., Lin, X., Yuan, J., Quinn, J. M. W., Tickner, J., Hong, G., Qin, A., Zhao, J., & Xu, J. (2017). Neohesperidin suppresses osteoclast differentiation, bone resorption and ovariectomised-induced osteoporosis in mice. *Mol Cell Endocrinol, 439,* 369-378. https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.026

Vijayalakshmi, A., & Sindhu, G. (2017). Umbelliferone arrest cell cycle at G0/G1 phase and induces apoptosis in human oral carcinoma (KB) cells possibly via oxidative DNA damage. *Biomed Pharmacother, 92,* 661-671. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.128

Wang, J. J., & Cui, P. (2013). Neohesperidin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury via inhibiting the apoptotic pathway and activating the Akt/Nrf2/HO-1 pathway. *J Asian Nat Prod Res, 15*(9), 1023-1037. https://doi.org/10.1080/10286020.2013.827176

Yang, M. S., Wu, T. S., & Wang, C. H. (1987). Citracridone-I: a new antispasmodic from root barks of Citrus depressa. *Planta Med, 53*(2), 143-147. https://doi.org/10.1055/s-2006-962657

Zhang, S.-Q., Obregon, D., Ehrhart, J., Deng, J., Tian, J., Hou, H., Giunta, B., Sawmiller, D., & Tan, J. (2013). Baicalein reduces β-amyloid and promotes nonamyloidogenic amyloid precursor protein processing in an Alzheimer's disease transgenic mouse model. *Journal of neuroscience research, 91*(9), 1239-1246. https://doi.org/10.1002/jnr.23244

Zheng, L., Lee, J., Yue, L. M., Lim, G. T., Yang, J. M., Ye, Z. M., & Park, Y. D. (2018). Inhibitory effect of pyrogallol on α-glucosidase: Integrating docking simulations with inhibition kinetics. *Int J Biol Macromol, 112,* 686-693. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.026