

龍眼核敷料產品之開發研究

秦昊宸、陳榮五

臺中區農業改良場助理研究員、前場長

摘 要

龍眼 (*Dimocarpus longan* Lour) 屬無患子科 (*Sapindaceae*)，為亞熱帶常綠果樹。臺灣是目前除中國大陸、泰國以外，全世界最主要的龍眼產區之一。根據「農業統計年報」統計，民國 98 年全臺龍眼栽培面積為 11,790 公頃，年產量達 82,602 公噸。每年約五成的龍眼供做鮮食，而另外五成的龍眼則由廠商收購加工製成龍眼乾 (即桂圓)。惟龍眼不論是鮮食或是製成龍眼乾，龍眼核均被視為農產廢棄物而遭丟棄，如以 98 年度全臺龍眼產量計算，當年度所產生之龍眼核重量粗估即高達 18,356 公噸。如此龐大的農業廢棄物，若能加以利用，不僅達到資源再生利用目的，更可增進龍眼之附加價值，大大提高農民之收益。

本計畫以龍眼核萃取物為主軸，輔以先進「濕式傷口癒合」的概念，開發新一代的親水性創傷敷料產品。試驗結果顯示：(1)開發一個含龍眼核萃取物之外用凝膠產品，其具有抑制大腸桿菌、金黃色葡萄球菌，與痤瘡桿菌的效果。(2)建立乙套能符合美國藥典 (USP) 確效標準之龍眼核萃取物鞣質成份之分析方法，可清楚鑑別乾燥龍眼核萃取物中之沒食子酸 (滯留時間 14.461 分)、鞣科雲實素 (滯留時間 43.302 分)，以及鞣花酸 (滯留時間 63.467 分) 等主要鞣質成份。

中英文關鍵字：龍眼核 Longan seed、創傷敷料 Wound dressing、鞣質 Tannin。

前 言

龍眼屬亞熱帶果樹，目前在全省的栽種面積約 11,790 公頃，主要分佈在中南部山坡地種植，屬喬木果樹，常有隔年結果情形。主要產地為台中市霧峰區、太平區，南投縣中寮鄉、南投市，台南市楠西區、東山區、南化區，嘉義縣竹崎鄉、番路鄉，高雄市內門區、杉林區等，栽培農戶約 12,000 戶，豐產時，年產量可達約 100,000 公噸左右。惟，龍眼由於不耐儲運，如遇盛產，農民常需承擔跌價之損失。為此，如能在龍眼豐產時期，由廠商向農民收購超過市場需求量之龍眼鮮果，立即加以利用，製成龍眼乾，並萃取龍眼核之有效成份，供為保健產品原料，必能減輕農民損失，並進而增創龍眼之附加價值，或可增加農民之收益。再者，龍眼核自古即被使用為外傷用藥，據古書「全國中草藥匯編」記載，龍眼核可用於治療胃痛、燒燙傷、刀傷出血、疔氣痛、外傷出血、疥癬、濕瘡等。古人則用於外傷，有良好的止血定痛生肌之功，素有「金刀獨聖散」之稱。

早期與龍眼有關之研究，多與品種有關，與龍眼機能性有關的研究則少見。近年來，與龍眼保健功效相關的研究已逐漸增加，特別是其抗氧化能力、有效成份及美白能力方面之研究。多數研究均發現，龍眼之花、果實等，含有高量之抗氧化物質，如，沒食子酸(Gallic acid)及鞣花酸(Ellagic acid)等。不過，對於龍眼核(子)的研究仍相對較少。龍眼核在華人社會雖已有相當長時間的使用經驗，但至今尚缺乏較實際的運用實例；同時，因缺乏相關原物料之品管方法，也間接阻礙了龍眼核在醫藥保健產業上應用的可能性。因此，本研究主要的目的，即在於開發以龍眼核材料為活性成份之親水性創傷敷料產品，並建立一套能符合產業界標準之乾燥龍眼核萃取物品管方法，以期擴大此一農業資材在保健產業上之應用。

內 容

一、含龍眼核萃取物之敷料產品預配方處方設計及物性試驗

1.預配方處方設計與研究

水性凝膠基質大多在水中溶脹成水性凝膠而不溶解。本類基質一般易塗佈和洗除，無油膩感，能吸收組織滲出液且不妨礙皮膚正常功能。且由於黏滯度較小而利於主成分，特別是水溶性主成分的釋放。本類基質缺點是潤滑作用較差，易失水和霉變，但可透過添加保濕劑和防腐劑來進行矯正。本試驗已利用龍眼核萃取物、其他植物萃取物、醣醛酸、丙二醇、保濕膠材與天然保濕劑，及天然植物精油，依一定比例，調製成一含龍眼核萃取物之外用凝膠產品。

2.含龍眼核萃取物外用凝膠產品之「物性試驗」

物性試驗結果：

測試項目	測試結果（說明）
pH 值	6.74
離心分離試驗	無分層現象產生，顯示此檢品頗為安定，無沈降與霜析現象。
黏度測定	461.6 cPs
粒徑分析	平均粒徑為 581.8 nm

3.含龍眼核萃取物外用凝膠產品之「抑菌試驗」

如表一所示，與對照組相較，龍眼核外用凝膠產品可明顯降低在培養皿上大腸桿菌與金黃色葡萄球菌菌落數，亦即，此次開發之龍眼核外用凝膠產品，可能具有抑制大腸桿菌與金黃色葡萄球菌生長的功能。另如表二所示，與對照組相比，龍眼核外用凝膠產品可明顯降低在培養皿上痤瘡桿菌菌落數，亦即，龍眼核外用凝膠產品可能具有抑制痤瘡桿菌生長的效果。

表一、抑菌（大腸桿菌和金黃色葡萄球菌）試驗結果

實驗次序	大腸桿菌 (colonies/plate)		金黃色葡萄球菌 (colonies/plate)	
	對照組	實驗組	對照組	實驗組
第一次	232	152	218	149
第二次	121	82	239	134
第三次	169	94	153	99
平均值 ± 誤差	174±38	109±28	203±45	127±26

表二、抑菌（痤瘡桿菌）試驗結果

實驗次序	痤瘡桿菌 (colonies/plate)	
	對照組	實驗組
第一次	76	44
第二次	47	19
第三次	65	22
平均值 ± 誤差	63±15	28±14

二、乾燥龍眼核萃取物中鞣質成份之分析方法

1. 乾燥龍眼核萃取物製備

取 15 g 乾燥龍眼核粉末，加入 125 mL 純水及 125 mL 乙醇溶液完全混合，70°C 水浴 30 分鐘，同樣的步驟重覆三次，再將三次的萃取量混合。復以高速離心機，在 25°C，4000 rpm 下離心 15 分鐘。離心完畢後，取上層液冷凍乾燥後備用。

2. 儀器分析

以 Agilent 1100 高效液相層析儀進行分析。試藥級之磷酸（純度 85%）為 Riedel-de Haën 製造、HPLC 級之甲醇及乙腈為 Mallinckrodt Chemicals 製造。沒食子酸及鞣花酸標準品（純度均大於 98%）購自 Chromadex、鞣科雲實素標準品（純度大於 98%）則係購自 APIN Chemicals。

3. 分析方法與檢品配製

(1) 移動相溶液配製

0.1% H₃PO₄：加入 2.35 mL H₃PO₄ 於 2000 mL 定量瓶中，以 H₂O 定量至 2000 mL，混合均勻後，抽氣過濾使用；乙腈則於除氣後使用。

(2) 標準品儲存溶液配製

70% MeOH 溶液配製：取 700 mL MeOH 與 300 mL H₂O 倒入 1000 mL 樣品瓶中，混合均勻。

標準品 stock solution 配製：分別精稱沒食子酸 7.07 mg、鞣科雲實素 6.59 mg，及鞣花酸 2.80 mg，置於 10 mL 定量瓶中，加入 8 mL 70% MeOH，於超音波振盪使其均勻溶解後，以 70% MeOH 定量至 10 mL 作為儲存溶液。

(3) 標準品線性濃度的配製

- a. 取沒食子酸儲存溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 及 1.0 mL，以 70% MeOH 稀釋成 6 個線性濃度，其濃度分別為 7.07、14.14、28.28、42.42、56.56 與 70.7 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。
- b. 取鞣科雲實素儲存溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 及 1.2 mL，以 70% MeOH 稀釋成 6 個線性濃度，其濃度分別為 13.18、26.36、39.54、52.72、65.9 與 79.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。
- c. 取鞣花酸儲存溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 及 1.2 mL，以 70% MeOH 稀釋成 6 個線性濃度，其濃度分別為 5.6、11.2、16.8、22.4、28 與

33.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

4. 龍眼核萃取物 HPLC 檢品溶液配製

將龍眼核萃取物檢品以研鉢磨成均勻粉末後，過60 MESH篩網。精確秤取過篩後檢品40 mg（三重覆取樣）置於30 mL離心管中，加入8 mL 70% MeOH混合均勻，並於40°C下以超音波振盪15分鐘。接著以HERMLE Z323K離心機，於10000 rpm轉速下，離心10分鐘。離心後取上清液至10 mL定量瓶中，以70% MeOH定量至10 mL，上清液部分以0.45 μm 濾膜過濾後待用。

5. 層析條件

儀器設備：	Agilent 1100							
層析管：	Atlantis [®] T3 5 μm 4.6 X 10 mm, Waters							
前置管柱：	Cosmosil 5C18-AR-II 4.6 X 10 mm, Nacalai Tesque							
管柱溫度：	25°C							
流速：	1.0 mL min ⁻¹							
檢測波長：	UV 270 nm							
注射體積：	10 μL							
Time (min)：	0	5	15	30	45	60	75	85
0.1% H ₃ PO ₄ (%)：	98	97	97	87	86	81	79	0
Acetonitrile (%)：	2	3	3	13	14	19	21	100

6. 線性檢量線製作

- 將各標準品6種不同濃度的standard solutions，由低濃度至高濃度注入HPLC儀器進行分析。

- b. 記錄各標準品波峰的滯留時間，並分析其曲線下面積（AUC）。
- c. 將各標準品standard solutions分析所得的結果，以濃度為X軸，其對應之反應值（曲線下面積）為Y軸，作線性迴歸，得最佳線性程式 $Y = aX + b$ 及其決定係數（ R^2 ）。

7. 檢品分析：

- a. 將配製的龍眼核萃取物3重覆檢品溶液，經HPLC檢測一次。
- b. 分別將檢品中沒食子酸、鞣科雲實素及鞣花酸之HPLC分析圖譜所得之反應值（曲線下面積，Y）代入檢量線（ $Y = aX + b$ ），計算出檢品中上述成份之濃度（X）。
- c. 龍眼核萃取物檢品內沒食子酸、鞣科雲實素及鞣花酸含量由以下之計算公式計算而得。
- d. 各將3重覆實驗所得到的檢品內上述成份之含量以Excel計算，求得平均值（mean）及標準偏差（SD）後，計算得變異係數（CV）。

8. 計算公式：

- a. 檢品內指標成份總量（mg） =
該指標成份從7-b.測得之濃度（ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ） $\times 10$ （mL）
- b. 檢品中指標成份含量（ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ） =
指標成份總量（mg）/檢品重量（g）
- c. 變異係數（CV） = 標準偏差（SD）/平均值（mean）

三、龍眼核萃取物分析方法之確效：

1. 確效指標之選擇：

主成份或有效成份之定量試驗屬美國藥典（USP）【1225】第一類（Category I）。所須執行之確效指標包括：專一性、系統適用性、精密度、中間精密度、線性及範圍與準確度等6項。

2. 確效指標之執行程式：

- a. 專一性：以 HPLC (Agilent 1100) 分析標準品與檢品溶液，利用 Photodiode array detector 偵測，以 ChemStation 軟體進行各層析峰與標準品 UV 圖譜之比對，且分析計算其純度。
- b. 系統適用性：以 HPLC 分析標準品溶液，就所得之層析圖譜計算選擇性因素 (α)、理論板數 (N)、拖尾因素 (T)，及解析度 (R_s) 等系統參數，藉此判定分析方法的適用性。

$$\kappa' = (t - t_0) / t_0 \quad \alpha = k_{n+1} / k_n$$

$$N = 16 (t/W)^2 \quad R_s = 2 (t_{n+1} - t_n) / (W_{n+1} - W_n)$$

$$T = W_{0.05} / 2f$$

其中：

- t_0 : 移動相通過層析管柱之時間 (min.)
- t : 各成份層析峰之滯留時間 (min.)
- W : 層析峰之波峰寬度 (min.)
- $W_{0.05}$: 自波峰基線至 1/20 波高處之波峰寬度
- f : 自波峰頂點向記錄紙之底端作垂線，將 $W_{0.05}$ 之波峰寬度二分時，其前段之寬。

- c. 精密度：連續分析三種標準品各三次，計算各濃度層析峰之曲線下面積 (area under the curve, AUC) 與變異係數 (CV)。重覆配製檢品三個並分析，計算各濃度層析峰之 AUC 與 CV 值。
- d. 中間精密度：將處理好之檢品於不同天進行分析，計算各濃度層析峰之 AUC 與 CV 值，檢討變因對於分析結果之影響。
- e. 線性及範圍：以標準品濃度為 x 軸，以各濃度所測得 AUC 平均值為 y 軸，求得檢量線 ($y = ax + b$) 及其決定係數 (R^2)
- f. 準確度：取檢品溶液與標準品溶液分別以 1:1 (v/v) 比例進行 3 重覆的混合。並針對上述混合溶液進行 HPLC 分析，由其面積所

得數值帶回標準品檢量線求得濃度，再帶入下列公式，計算其回收率。

$$\% \text{ Recovery} = (2 \times \text{Conc}_{\text{Spike}} - \text{Conc}_{\text{SPL}}) / \text{Conc}_{\text{STD}} \times 100\%$$

其中：

% Recovery : 各濃度之回收率

Conc_{Spike} : 經檢量線求得混合溶液中各標準品之濃度

Conc_{SPL} : 未混合前檢品溶液中各標準品之已知濃度

Conc_{STD} : 標準品溶液之濃度

3. 預定合格標準：

確效指標	比較對象	合格標準
專一性	標準品與樣品	Purity factor > Threshold value
系統適用性	系統適用性參數： ※選擇性因素 (α) ※理論板數 (N) ※拖尾因素 (T) ※解析度 (Rs)	α = 1~2 N ≥ 5000 T = 0.90~1.30 Rs > 1.5
精密度	標準品溶液 n = 18 之 CV 檢品溶液 n = 6 之 CV	CV ≤ 2% CV ≤ 5%
中間精密度	不同機器、不同日、不同分析人員等	CV ≤ 5%
線性及範圍	線性迴歸之決定係數 R ²	R ² ≥ 0.9990
準確度-回收率	添加回收率	95~105%

結 語

此次開發的龍眼核外用凝膠產品，應可具有抑制大腸桿菌、金黃色葡萄球菌，與痤瘡桿菌等生長的效果。在龍眼核萃取物鞣質成份分析方法之建立及確效方面，使用 ChemStation 軟體 (Agilent 1200, photodiode array) 進行標準品與檢品溶液 HPLC 的圖譜分析，包括沒食子酸、鞣料雲實素，以及鞣花酸波峰滯留時間的比對、UV 圖譜的 match factor 分析，且確認檢品中，沒食子酸、鞣料雲實素，以及鞣花酸波峰無其他波峰的干擾。由標準品溶液 HPLC 分析結果可得知，沒食子酸 ($42.42 \mu\text{g mL}^{-1}$)、鞣料雲實素 ($52.72 \mu\text{g mL}^{-1}$)，與鞣花酸 ($22.4 \mu\text{g mL}^{-1}$) 等標準品溶液經 HPLC 分析後，其滯留時間分別為 14.409、43.304 與 63.489 分鐘，而龍眼核醇萃物檢品溶液中，沒食子酸、鞣料雲實素，與鞣花酸的滯留時間分別為 14.461、43.302 與 63.476 分鐘。復以 ChemStation 軟體 (Agilent 1200, Rev.B.02.01-SR1【260】)，進行標準品與龍眼核醇萃物檢品溶液中相對應標準品波峰之 UV 圖譜 match factor 分析 (match factor >990 認定應為同一化合物) 及波峰純度分析 (Purity factor > Threshold value 認定應為單一化合物)，確認了此分析方法確實可行。本研究應是國內外第一次針對龍眼核鞣質相關成份之分析方法進行確效，對於國內未來將龍眼核萃取物開發為新的保健功效原料，應該大有助益。

參考文獻

1. 沈宜蓁 2004 龍眼花萃取物抗氧化性之探討 臺灣大學食品科技研究所碩士論文 台北。
2. 林琳、郭志雄、潘東明 2006 龍眼果皮過氧化物酶的分離純化 福建農林大學學報 (自然科學版) 35:157-160。
3. 林真朱 1992 龍眼品種間果實生長與退甘之研究 臺灣大學園藝系碩士論文 台北。

4. 吳春利、楊清白 1971 混合飼料中龍眼籽粉對黑斑大白鼠生長影響之初步研究 國立臺灣大學農學院研究報告 12:220-224。
5. 徐鳳麟、秦玲 1991 龍眼單寧成分之研究 Proceedings of the National Science Council (Part A : Physical Science and Engineering) 15:541-546.
6. 黃儒強、劉學銘 2008 龍眼核提取物提高小鼠抗氧化功能的研究 華南師範大學學報 (自然科學版) 2008:108-111。
7. 黃儒強、劉學銘 2007 大孔吸附樹脂分離龍眼核中抗氧化活性物質方法的研究 湖北農業科學 46:141-144。
8. 黃弼臣 1976 臺灣龍眼品種 興大園藝 1:1-5。
9. 張振宙 1965 臺灣龍眼之品種及栽培現況 科學農業 13:41-48。
10. 曾煥中 2007 以超臨界流體萃取/液相層析質譜法進行龍眼核成分分析 嘉南藥理科技大學生物科技研究所碩士論文 台南。
11. 董一致 1986 荔枝和龍眼種子提取物之紅血球凝集活性 北醫學報 15:119-126。
12. 許鴻齡、李立聰 1977 龍眼花化學成份之研究 化學 4:103-105。
13. 鄭公銘、梁紅冬、何春娣、盧文信 2007 龍眼殼抗氧化研究 化學與生物工程 24:32-33。
14. 黎海妮、劉海花、唐玉蓮、張婧萱、黃鎖義、韋國鋒、李容 2006 超聲波乙醇浸提法提取龍眼核總黃酮方法的探討 右江民族醫學院學報 28:168-169。
15. 劉桂豔、馬雙成、鄭健、張繼、林瑞超 2005 深綠山龍眼種子化學成分研究(I) 中草藥 36:814-817。
16. 駱承庠 1952 龍眼殼單寧之研究 中華農業研究 3:7-13。
17. 謝孟潔 2005 龍眼花抗氧化成分之研究 臺灣大學食品科技研究所碩士論文 台北。

18. Hsieh, M. C., Y. J. Shen, Y. H. Kuo and L. S. Hwang. 2008. Antioxidative activity and active components of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) flower extracts. *J. Agric. Food Chem.* 56:7010-6.
19. Ho, S. C., L. S. Hwang, Y. J. Shen and C. C. Lin. 2007. Suppressive effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) flowers on nitric oxide production in LPS-stimulated macrophage cells. *J Agric. Food Chem.* 55:10664-70.
20. Pan, Y. M., K. Wang, S. Huang, H. S. Wang, X. M. Mu, C. H. He, X. W. Ji, J. Zhang and F.J. Huang. 2008. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food Chem.* 106:1264-1270.
21. Rangkadilok, N., S. Sitthimonchai, L. Worasuttayangkurn, C. Mahidol, M. Ruchirawat and J. Satayavivad. 2007. Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. *Food and Chem. Toxicology.* 45:328-336.
22. Rangkadilok, N. and L. Worasuttayangkurn. 2005. Identification and quantification of polyphenolic compounds in longan (*Euphoria longana* Lam.) fruit. *J Agric. Food Chem.* 53:1387-1392.
23. Soong, Y. Y. and P. J. Barlow. 2006. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chem.* 97:524-530.
24. Soong, Y. Y. and P. J. Barlow. 2005. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 1085:270-277.

25. Soong, Y. Y. and P. J. Barlow. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem.* 88:411-417.
26. Sun, J., J. Shi, Y. Jiang, S. J. Xue and X. Wei. 2007. Identification of two polyphenolic compounds with antioxidant activities in longan pericarp tissues. *J. Agric. Food Chem.* 55:5864-5868.
27. Yang, B., M. M. Zhao, J. Shi, N. Yang and Y.M. Jiang. 2008. Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* 106:685-690.
28. Yang, B., M. M. Zhao and Y. M. Jiang. 2008. Optimization of tyrosinase inhibition activity of ultrasonic-extracted polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* 110:294-300.
29. Yang B., M. M. Zhao, J. C. Shi, R. Guiping, N. Lin and Y.M. Jiang. 2008. Variations in water-soluble saccharides and phenols in longan fruit pericarp after drying. *Journal of Food Process Engineering.* 31:66-77.
30. Yen, C. R., J. C. Tzeng, C. N. Chau and W. Chang. 2005. Longan production in Taiwan. *Acta Hort.* 665:61-66.
31. Zhang Z. M., D. D. Zeng, and G. K. Li. 2008. Study of the volatile profile characteristics of longan during storage by a combination sampling method coupled with GC/MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 88:1035-1042.