

# 中華民國第 57 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

---

國中組 生活與應用科學科

030826

海梨柑的另一片天

學校名稱：新竹縣立成功國民中學

作者：  國二 徐可葳  國二 徐可俐  國一 賴宜菁	指導老師：  蘇曉霓  黃伶莉
---	-----------------------------

關鍵詞：海梨柑、抗氧化力、不同萃取條件

## 摘要

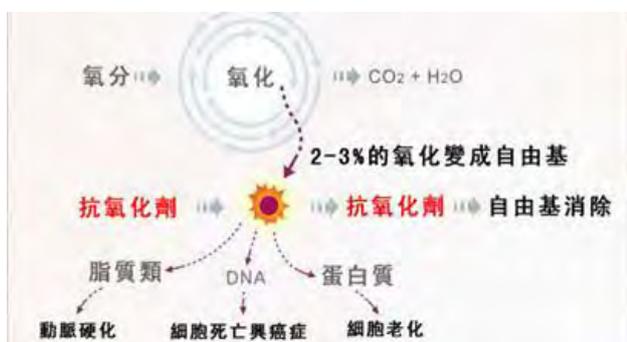
本研究以在地芎林鄉鹿寮坑特色橘類「海梨柑」為探討樣本，在不同溫度及時間下，利用不同溶劑-水和酒精，進行植株不同部位-皮、葉、枝的萃取，以碘滴定法與 DPPH 清除率測試萃取液的抗氧化力。由實驗結果得知:抗氧化力以皮>葉>枝。而不論在皮、葉、枝，均以水萃的抗氧化力優於酒精萃取，且高溫萃取較低溫萃最佳。我們選擇最具抗氧化效果的高溫(100℃)、水萃、4 小時、海梨柑「皮」之萃取液，進行稀釋及冷凍(-20℃)保存之抗氧化測試，結果可知稀釋後的萃取液之抗氧化力具有濃度趨勢，且在冷凍保存 6 週後，抗氧力只下降約 1/5。最後，將其應用在海梨柑化妝水的配置，約相當於 50ppm 維他命 C 的抗氧化能力且有著淡淡的橘皮香氣及溫和(pH5.5)不刺激皮膚的優點。

## 壹、研究動機

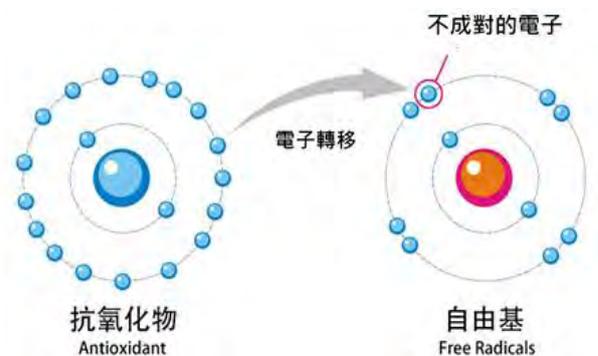
媽媽的朋友在芎林鄉鹿寮坑有一片認養的有機海梨柑園，在一次參觀海梨柑園時，開心地吃著好吃的海梨柑，耳朵聽到阿姨說芎林是海梨柑的故鄉，心裡想著海梨柑除了吃果肉外，還能有其他用途嗎？這讓我們對海梨柑產生了好奇，希望能透過科展的研究，找到海梨柑除了吃果肉之外的應用。

有了這樣的想法，我們開始對海梨柑搜尋相關的資料。資料中提到:海梨柑是桶柑的一種，屬於芸香科、柑橘屬，含豐富礦物質、酵素、檸檬酸、大量維他命 C 及果膠，可以消除膽固醇，益於人體健康。而柑橘類水果一般都富含維他命 C、類黃酮類化合物等抗氧化成分。抗氧化物質已經被研究證實具有消除自由基的能力，自由基會造成癌症、心血管疾病、老化的問題的。我們想針對海梨柑的抗氧化力進行研究，除了果肉，我們思考著果樹的其他部位，像是不被食物的果皮、枝條或葉子，是否也有抗氧化物質的存在？

不同的抗氧化物質，有些是偏水溶性的，例如：維他命 C、類黃酮、兒茶素、多酚、花青素等；有些是偏脂溶性的，例如：維他命 E，Q10，蕃茄紅素，蝦紅素等。所以，我們以在地芎林鄉鹿寮坑特色橘類「海梨柑」為樣本，選用了水及酒精兩種性質不同的溶劑，進行海梨柑不同部位的萃取，配合不同溫度、時間等萃取條件，希望能找出海梨柑不同部位-皮、葉、枝的萃取液是否具抗氧化效果，並針對較具抗氧化效果的萃取液，進一步應用在生活中。



◎自由基的形成與代謝



◎清除自由基

圖片來源:<http://blog.xuite.net/ryan121>

圖片來源:<http://www.andrecao.com/?p=1084>

## 貳、研究目的

- 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力之研究
  - (一)不同萃取溶劑之海梨柑萃取液抗氧化力的測試
  - (二)不同萃取溫度之海梨柑萃取液抗氧化力的測試
  - (三)不同萃取時間之海梨柑萃取液抗氧化力的測試
- 二、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液作進一步的測試
  - (一)不同稀釋濃度對海梨柑萃取液的抗氧化力影響
  - (二)不同保存時間對海梨柑萃取液的抗氧化力影響
- 三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用

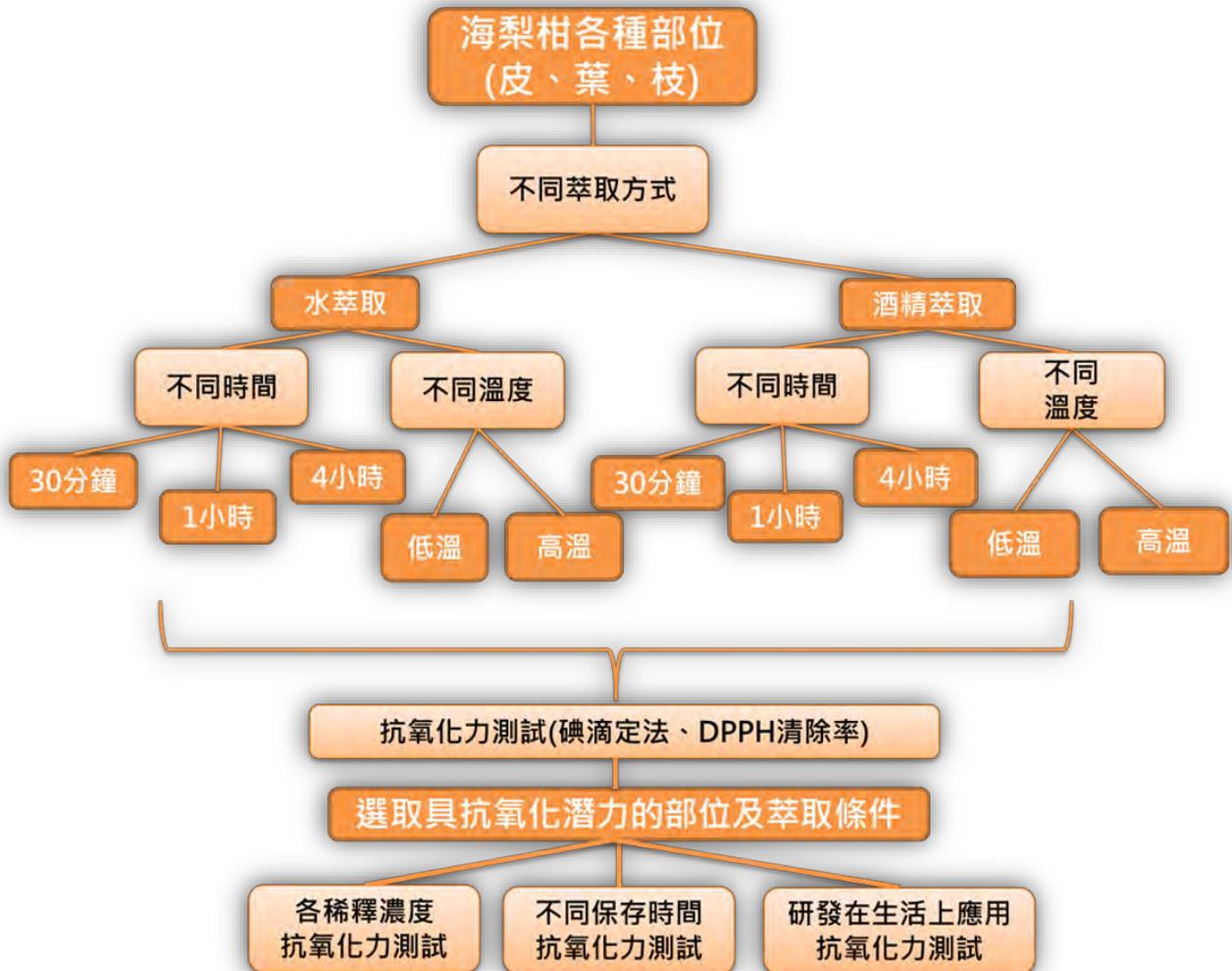
## 參、實驗設備及材料

量筒、燒杯、三角錐瓶、平底圓瓶、剪刀、電子秤、食物乾燥機、分光光度計、秤量紙、塞蓋、加熱板、平底燒瓶、震盪水槽、計時器、澱粉液、磁力攪拌器、磁石、藥勺、玻棒、漏斗、紗布、滴定管、滴定夾、迴流管、迴流架、橡皮管、滴管、微量吸管、試管、試管架、洗瓶、海梨柑(皮、葉、枝)、飲用水、酒精、無水酒精、碘液、DPPH 溶液

			
量筒、燒杯、三角錐形瓶	震盪水槽	微量吸管	分光光度計、比色管
			
滴定管、夾、迴流管、架	食物烘乾機	磁石、磁力攪拌器	紗布
			
加熱板	電子秤、秤量紙	酒精	碘液
			
DPPH 液	皮、枝、葉	試管、試管架、洗瓶	橡皮管

## 肆、研究過程及方法

### 一、實驗架構圖



### 二、專有名詞

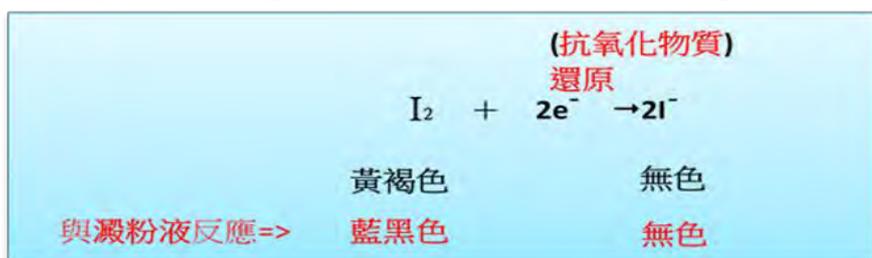
(一) 自由基:「帶有一個單獨不成對電子的原子、分子或離子。」在人體的任何部位都有可能產生，例如粒線體，它是細胞內進行氧化作用產生能量的胞器，也是產生自由基(過氧化物)的主要地點。較活潑、帶有不成對電子的自由基性質不穩定，具有搶奪其他物質的電子、使自己原本不成對的電子變得成對(較穩定)的特性。而被自由基搶走電子的物質也可能變得不穩定，可能再去搶奪其他物質的電子，於是產生一連串的連鎖反應，這些被搶奪的物質遭到破壞，老化、疾病與癌症隨之發生。

(二) 抗氧化物質：可代替身體細胞被自由基等物質氧化，進而保護我們體內的細胞。自然的飲食中，被稱為三大抗氧化物質的是維他命 C、維生素 E 和  $\beta$ -胡蘿蔔素，其餘的抗氧化物還包括:類黃酮、輔酶 Q10、茄紅素、天然蝦青素(蝦紅素)及花青素等。許多水果中含有維他命 C、類黃酮、維生素 E、 $\beta$ -胡蘿蔔素及花青素。

### 三、實驗原理-抗氧化力測試

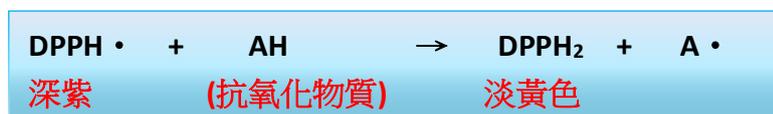
#### (一)利用碘液滴定法

1. 原理：利用抗氧化物質將碘分子還原成碘離子的特性( $I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^-$ )，測試其抗氧化力。碘分子會被抗氧化劑還原成碘離子，此時呈現無色。當抗氧化劑已完全與碘分子反應時，會無法還原後續加入的碘分子，過量的  $I_2$  與溶液中  $I^-$  生成  $I_3^-$ ，並和預先加入的澱粉指示劑，產生藍黑色錯合物，可知已達到滴定終點。所以，**碘分子(碘液，又稱澱粉殘留測定液)滴定的量越多，代表抗氧化物質愈多。**
2. 圖示:碘分子與抗氧化劑反應被還原成碘離子，其還原半反應如下列反應式:



#### (二)清除 DPPH 自由基能力

1. 原理：DPPH 自由基之乙醇溶液為深紫色，於波長 517nm 下有最大之吸光值，常用來評估抗氧化物提供氫的能力。當樣本具有抗氧化能力時，則能清除 DPPH 自由基，而顏色會由深紫色變為淡黃色，吸光值就會下降。若 DPPH 自由基被消除越多，則吸光值就會下降的越多，表示樣品清除 DPPH 自由基的能力就越強。利用 DPPH 清除率(相對於對照組-水之吸光值下降百分比)，可判斷樣品消除 DPPH 自由基能力之強弱。DPPH 清除率愈高，消除 DPPH 自由基的能力越強，抗氧化力就越佳。



### 四、實驗方法

(一)樣本處理:海梨柑果皮、葉及枝條均先放進食物乾燥機烘乾至脆。

#### (二)海梨柑各部位萃取液的製備

##### 1.低溫萃取:

- (1)將烘乾的皮、葉、枝剪成平均大小並秤 6 克。
- (2)量取 150mL 萃取溶劑，並倒入三角錐形瓶裡。
- (3)將皮、葉、枝放進裝有 150mL 萃取溶劑的三角錐形瓶裡。
- (4)將三角錐形瓶裝置於預熱 35°C 的恆溫水槽中進行萃取，使其均勻受熱及震盪混合。
- (5)萃取完後，將萃取液用紗布過濾去渣後，進行抗氧化測試。

##### 2.高溫萃取:

- (1) 將烘乾的皮、葉、枝剪成平均大小並秤 6 克。
- (2) 量取 150mL 萃取溶劑，並倒入平底燒瓶裡。
- (3) 將皮、葉、枝放進裝有 150mL 萃取溶劑的平底燒瓶裡。
- (4)將平底燒瓶裝置於加熱板進行加熱、回流萃取。從萃取液沸騰(水萃：100°C、酒萃：78°C)後開始計時。

(5) 萃取完後，將萃取液用紗布過濾去除渣後，進行抗氧化測試。

備註：萃取時，為避免萃取液蒸乾，故接上冷凝迴流管，而為避免水資源浪費，用以冷卻的水均收集後，用來幫校園內的植物澆水。

### (三) 抗氧化力測試

#### 1. 碘滴定測試方法:

- (1) 將碘液置於滴定管中，紀錄液面刻度。
- (2) 取 20mL 的樣本加入 1mL 的澱粉液至燒杯中。
- (3) 將燒杯放置到磁力攪拌器上並加入一顆磁石。
- (4) 開啟攪拌。
- (5) 將碘液慢慢滴入測試液中，觀察顏色變至藍色，直至 30 秒內不變色。
- (6) 記錄滴定管上的刻度。
- (7) 滴定後刻度-滴定前刻度，即得碘液體積。(每個樣本 3 重複)

\*備註：水萃萃取液：原液直接滴定；酒萃萃取液：取 100mL 至於燒杯中，加熱將酒精蒸發至 10mL，再加水補回至 100 mL。

#### 2. DPPH 自由基的清除

- (1) 試管中加入 0.2  $\mu$ M 的 DPPH 溶液 3.5mL。
- (2) 加入樣本 3.5 mL。
- (3) 放置避光處等待 30 分鐘。
- (4) 利用分光光度計測試波長 517nm 的吸光值。(每個樣本 3 重複)

\*備註:對照組:水(水萃樣本)或酒精(酒萃樣本)在波長 517nm 的吸光值約為 1.0~1.2。

DPPH 清除率(%)換算:  $[(\text{對照組吸收度}-\text{樣本吸收度})/\text{對照組吸收度}] * 100$

#### 3. 分光光度計測試方法

- (1) 機器校正
  - ① 開機，將波長轉至 517nm。
  - ② 在機器無比色管下調整穿透率為 0。
  - ③ 將裝有對照組的比色管放入機器調整穿透率為 100。
  - ④ 重複校正至數值穩定。
- (2) 樣本測試
  - ① 將樣本緩緩倒入比色管(如有分層需將其混合均勻)。
  - ② 將裝有樣本的比色管放入分光光度計測試。
  - ③ 待顯示板上的數字穩定，將吸光度讀值記錄下來。

\*備註:分光光度計原理-

分光光度計是利用分光光度法對物質進行定量、定性分析的機器，通過測定被測物質在特定波長處或一定波長範圍內光的吸收度，對該物質進行定性和定量分析。利用可見光及紫外光之燈管(Lamp)作為光源，通過濾光鏡調整色調後，經聚焦後通過單色光分光經聚焦後通過單色光分光稜鏡，在經選擇波長，使成單一且特定波長之光線，而後射入樣本管中之樣品，最後射入光電管中將光能轉換為電器訊號，藉由樣本及空白水樣間所吸收之光能量差，與標準液之能量吸收值相比較，便可測定樣本中之濃度。

#### (四)不同稀釋濃度的萃取液配置

- 1.取高溫(100°C)、水萃、皮之萃取液，以水序列稀釋 2x、4x、8x、16x、32x，既得 50%、25%、12.5%、6.25%、3.125%等濃度，原萃取液為 100%；水為 0%。
- 2.利用各濃度之萃取液進行抗氧化測試。

#### (五)不同保存天數的萃取液

- 1.取高溫、水萃、皮之萃取液，分裝保存於-20°C 冰庫
- 2.剛萃取出為第一天，分別取剛萃取好的萃取液及在-20°C 保存二、四、六週的萃取液進行抗氧化力的測試。

#### (六)化妝水配置

1. 一般化妝水：秤 10g 玻尿酸溶液(1%)加水稀釋至 100mL。(含 0.1%玻尿酸溶液)
2. 海梨柑化妝水：秤 10g 玻尿酸溶液(1%)加入 50 mL 海梨柑萃取液，加水至 100mL。(含 0.1%玻尿酸溶液及 50%海梨柑萃取液)
3. 50%海梨柑萃取液：50 mL 海梨柑萃取液加水至 100 mL。

名稱	成分
一般化妝水	0.1%玻尿酸
海梨柑化妝水	0.1%玻尿酸、50%海梨柑皮萃取液
海梨柑皮萃取液(50%)	50%海梨柑皮萃取液

#### 五、藥品配置

(一)2%澱粉液：秤 2 克澱粉加水至 100mL，並加熱攪拌至澱粉完全溶解。

(二)DPPH 溶液：以無水酒精，配製成 10  $\mu$  M 的 DPPH 溶液，並保存於-20°C 下。  
使用前稀釋至 0.2  $\mu$  M 使用。

#### (三)維他命 C 標準溶液配置

1. 1000ppm：秤 0.1g 的維他命 C 粉，加入 100mL 水，均勻混合。
2. 100 ppm：取 1000ppm 的維他命 C 30mL 加入 270mL 的水，均勻混合。
3. 75 ppm：取 100ppm 的維他命 C 75mL 加入 25mL 的水，均勻混合。
4. 50 ppm：取 100ppm 的維他命 C 50mL 加入 50mL 的水，均勻混合。
5. 25 ppm：取 100ppm 的維他命 C 50mL 加入 150mL 的水，均勻混合。
6. 12.5 ppm：取 25ppm 的維他命 C 100mL 加入 100mL 的水，均勻混合。
7. 6.25 ppm：取 12.5ppm 的維他命 C 50mL 加入 50mL 的水，均勻混合。

維他命 C 濃度(ppm)	100 ppm	75ppm	50ppm	25ppm	12.5ppm	6.25ppm
用以進行碘滴定的維他命 C 質量(mg)	2 mg	1.5 mg	1 mg	0.5 mg	0.25 mg	0.125 mg
用以進行 DPPH 清除率測試的維他命 C 質量(mg)	0.35 mg	0.263 mg	0.175 mg	0.088 mg	0.044 mg	0.022 mg

\*用以進行碘滴定的維他命 C 質量(mg)換算: [ 維他命 C 濃度(ppm) $\times$ 20(mL) ] /1000

\*用以進行 DPPH 清除率測試的維他命 C 質量(mg)換算: [ 維他命 C 濃度(ppm) $\times$ 3.5(mL) ] /1000

六、實驗操作照片

(一)海梨柑樣本採集

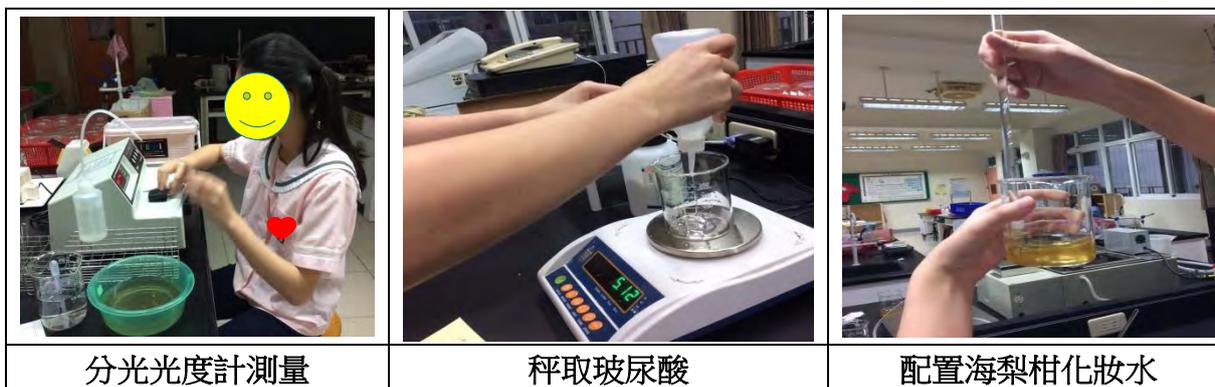
		
<p>海梨柑園到了 -位於竹縣芎林鄉鹿寮坑</p>	<p>很賣力地採集樣本 (果實、葉、枝)</p>	<p>手腳並用</p>
		
<p>很怕採不夠，實驗不夠用</p>	<p>滿滿一大袋</p>	<p>採集同一棵海梨柑樹</p>
		
<p>採集地</p>	<p>與海梨柑園的主人合照</p>	

(二)整理海梨柑-皮、葉、枝

		
整理樣本剝下果皮	整理枝、葉	
		
先將樣本沖洗乾淨	低溫烘乾-枝、葉	低溫烘乾-果皮

(三)萃取、抗氧化測試及配置化妝水

		
高溫萃取-迴流裝置	低溫萃取-震盪混合	紗布過濾
		
碘滴定實驗	DPPH 溶液配置-避光	樣本+DPPH，靜置 30 分鐘

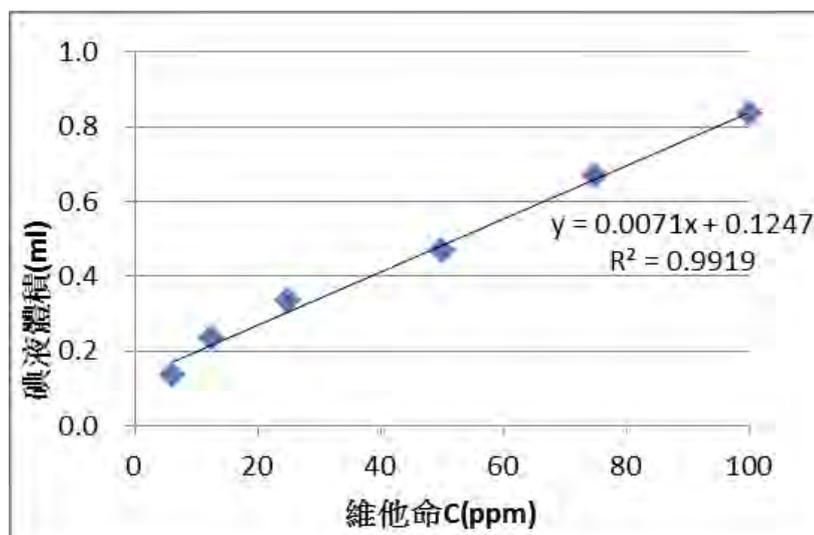


## 伍、實驗結果

### 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力的研究

#### (一)碘滴定法

##### 1. 維他命 C 將碘分子還原的能力測試

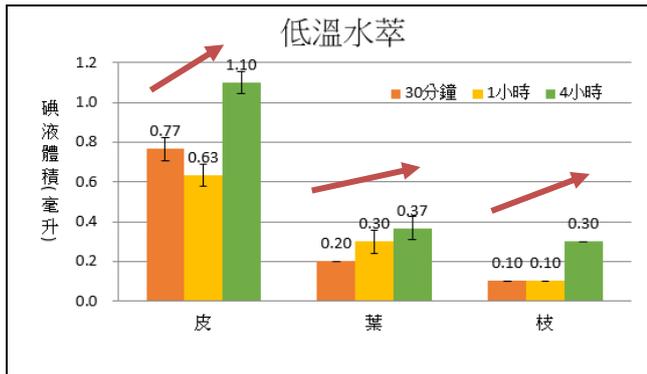


【圖 1】維他命 C 濃度與碘滴定體積的關係圖

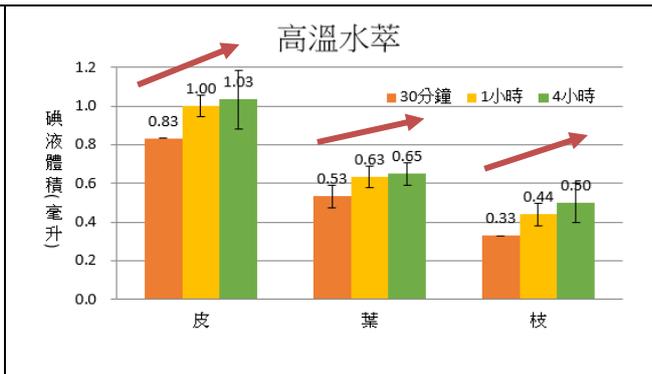
#### 實驗數據分析：(圖 1、附錄表 1)

維他命 C 是很好的抗氧化劑，結果可以發現隨著維他命 C 的濃度越高，碘液體積就越高，且呈正相關，故以維他命 C 作為正控制組，來確定碘液滴定法測試抗氧化力（還原碘分子的能力）的可行性，並可推估海梨柑萃取液中抗氧化力約相當於多少維他命 C 的濃度。水不具抗氧化效果，作為對照組，碘液毫升數約為 0.1-0.2，故此碘液體積為背景值。

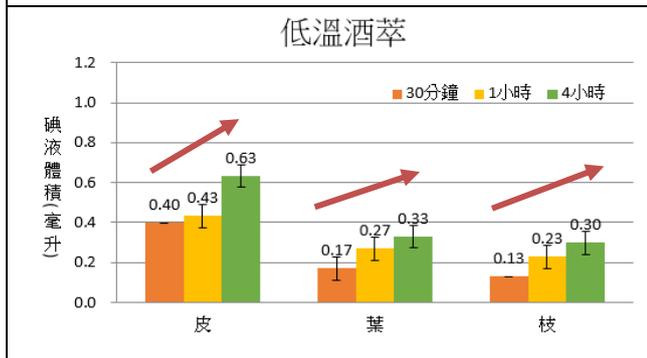
## 2.海梨柑各部位（皮、葉、枝）在各條件下的萃取液將碘分子還原的能力測試



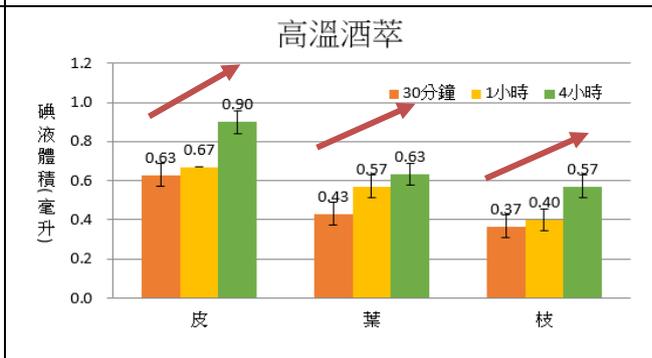
【圖 2-1】低溫水萃下，海梨柑各部位萃取液碘滴定結果



【圖 2-2】高溫水萃下，海梨柑各部位萃取液碘滴定的結果



【圖 2-3】低溫酒萃下，海梨柑各部位萃取液碘滴定結果



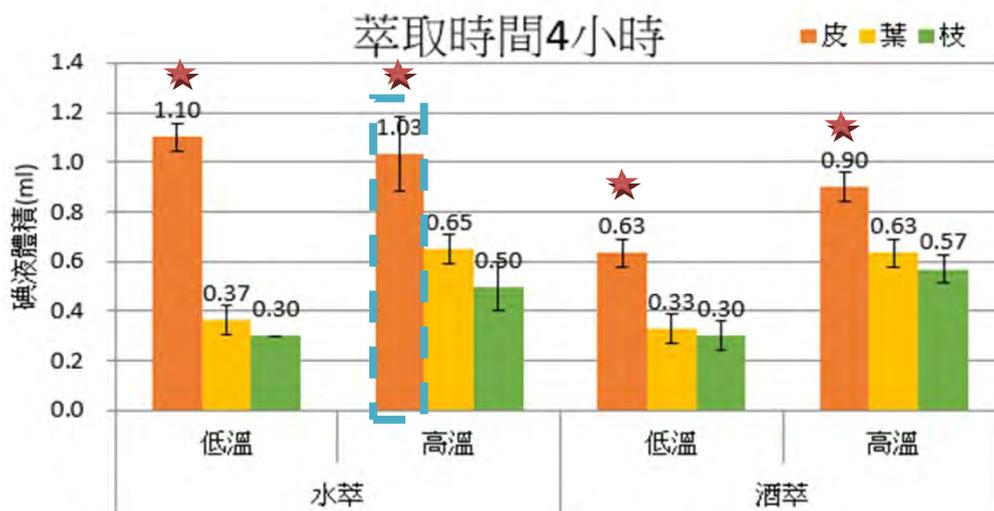
【圖 2-4】高溫酒萃下，海梨柑各部位萃取液碘滴定的結果

### 實驗數據分析：(圖 2-1~圖 2-4、附錄表 2-5)

由碘滴定的數據可知：無論在低溫水萃、高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃的條件下，海梨柑萃取液抗氧化能力依序為：皮>葉>枝，且整體看來，隨著時間越長，所萃取出具有將碘分子還原能力的物質越多，而在 4 小時萃取下，抗氧化效果最佳。

取在 4 小時萃取下，各萃取方式的萃取液之碘滴定數據進行整理，比較在長時間下，不同溶劑萃取及不同溫度萃取下，抗氧化力的差異。

### 3.海梨柑各部位在萃取 4 小時下，各萃取條件萃取液碘滴定數據整理與比較



【圖 3】萃取 4 小時下，海梨柑各部位萃取液碘滴定結果

實驗數據分析：(圖 3)

由碘滴定的數據可知：

以水萃的數據來看，皮的抗氧化力，低溫與高溫的差異不大；而葉與枝都是在高溫下抗氧化力較佳。以酒萃的數據來看，抗氧化力無論是皮、葉、枝都是在高溫下較佳。

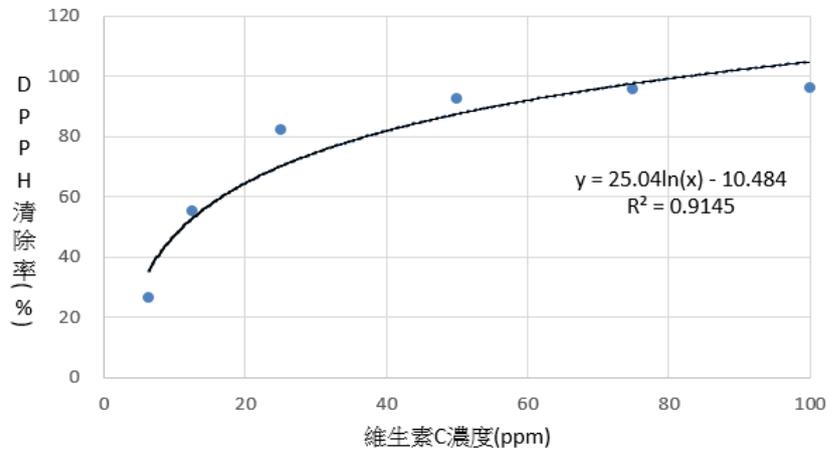
若比較水萃與酒萃的數據，抗氧化效果，皮：水萃 > 酒萃；葉：水萃 = 酒萃；枝：水萃 = 酒萃，高溫下亦同。

無論在低溫水萃，高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃下，抗氧化效果均是皮 > 葉 > 枝。

## (二) 清除 DPPH 自由基能力測試

### 1. 維他命 C 清除 DPPH 能力測試

各濃度維他命 C 的 DPPH 清除率

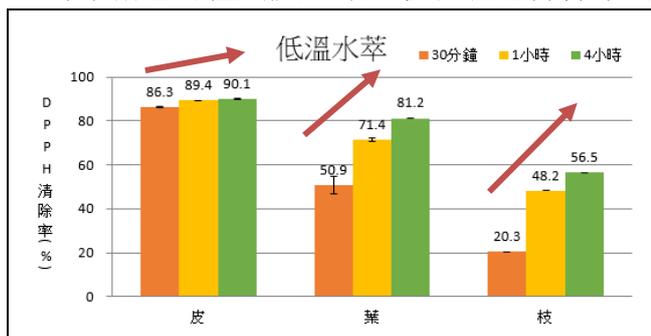


【圖 4】維他命 C 濃度與 DPPH 清除率的關係圖

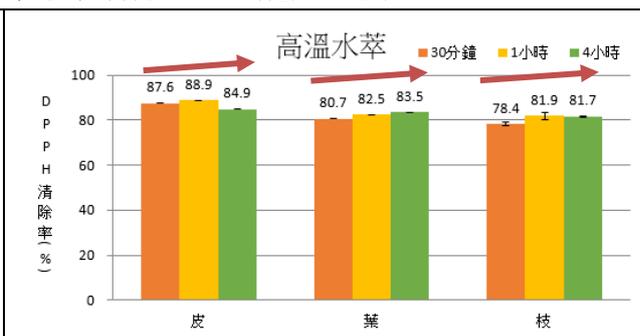
#### 實驗數據分析：(圖 4、附錄表 6)

維他命 C 為很好的抗氧化劑，結果可發現隨著維他命 C 的濃度越高，DPPH 的清除率就越高，且呈正相關，故以維他命 C 作為正控制組，來確定 DPPH 清除率測試抗氧化力的可行性，並可推估海梨柑萃取液中抗氧化力約相當於多少維他命 C 的濃度。溶劑：水及酒精不具抗氧化效果，OD<sub>517</sub> 讀值為 1.0-1.2 之間，作為對照組，清除率為 0%。

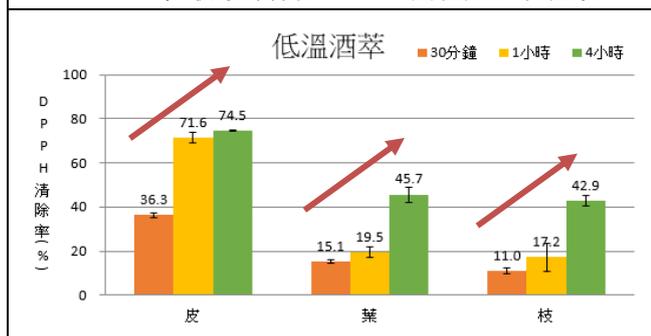
## 2.海梨柑各部位（皮、葉、枝）在各條件下的萃取液清除 DPPH 能力測試



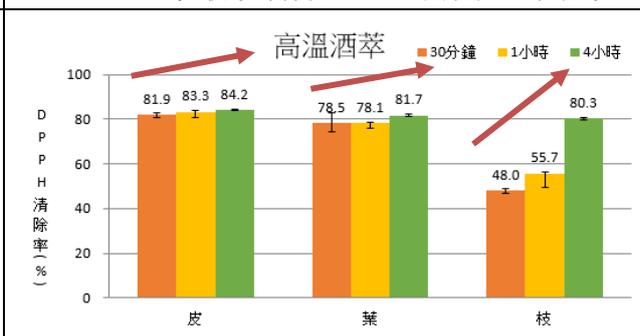
【圖 5-1】低溫水萃下，海梨柑各部位萃取液清除 DPPH 自由基的結果



【圖 5-2】高溫水萃下，海梨柑各部位萃取液清除 DPPH 自由基的結果



【圖 5-3】低溫酒萃下，海梨柑各部位萃取液清除 DPPH 自由基的結果



【圖 5-4】高溫酒萃下，海梨柑各部位萃取液清除 DPPH 自由基的結果

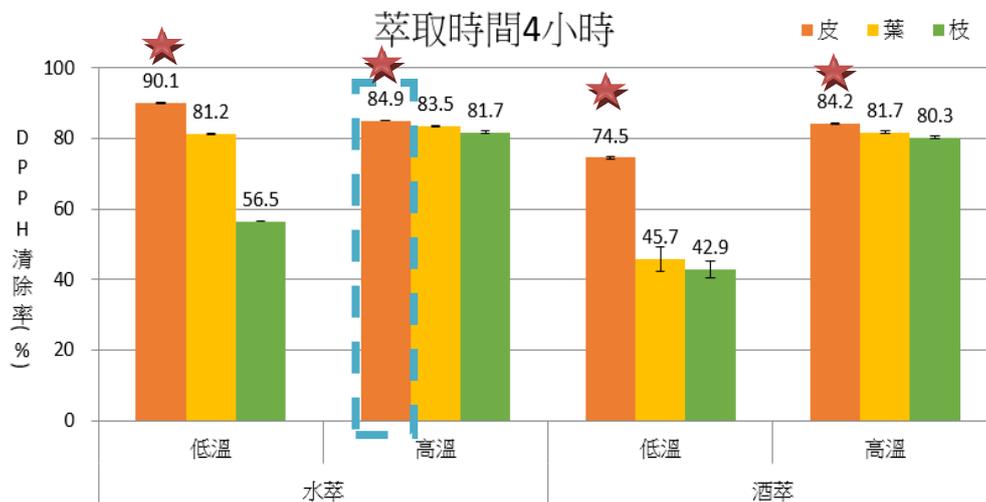
實驗數據分析：(圖 5-1~圖 5-4、附錄表 7-10)

由 DPPH 清除率的數據可知：低溫水萃下，DPPH 清除率：皮>葉>枝，但皮隨著萃取時間增加，DPPH 清除率的差異不明顯，而葉與枝在 4 小時下的清除率與 30 分鐘差異較大。高溫水萃下，皮、葉、枝隨萃取時間越長，DPPH 清除率增加的趨勢不明顯。而皮在 4 小時下的清除率，略低於 30 分鐘。低溫酒萃下，皮、葉、枝隨萃取時間越長，DPPH 清除率越高。高溫酒萃下，枝隨萃取時間越長，DPPH 清除率越高，而皮、葉之 DPPH 清除率增加的趨勢不明顯。

但整體看來，無論在低溫水萃、高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃的條件下，海梨柑萃取液之抗氧化能力依序為：皮>葉>枝。隨著時間越長，抗氧化效果越佳。

取 4 小時萃取下，各萃取方式的萃取液之 DPPH 清除率數據進行整理，比較在長時間下，不同溶劑萃取及不同溫度萃取下，抗氧化力的差異。

### 3.海梨柑各部位在萃取 4 小時下，各萃取條件萃取液碘分子還原的能力整理



【圖 6】萃取 4 小時下，海梨柑各部位萃取液 DPPH 清除率的結果

#### 實驗數據分析：(圖 6)

由 DPPH 清除率的數據可知：

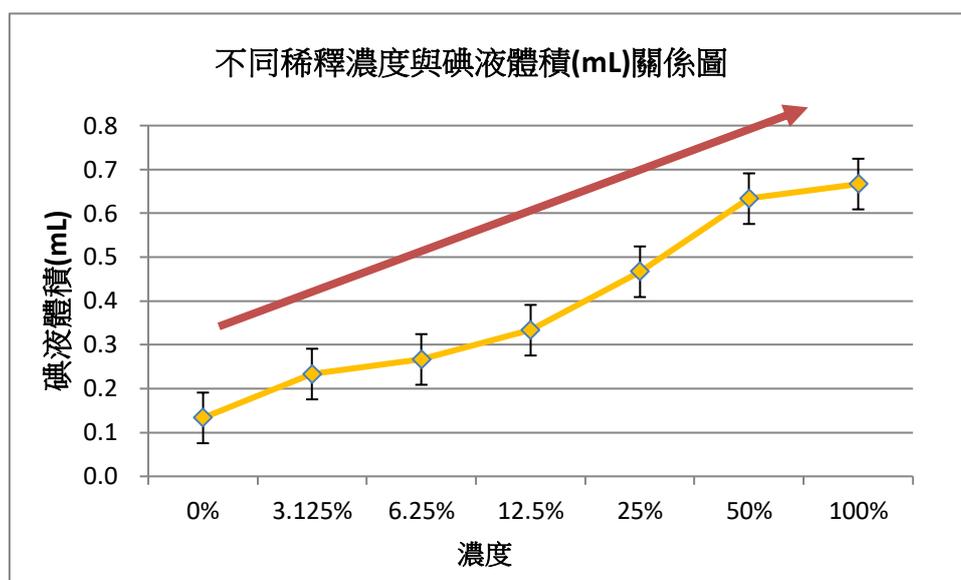
DPPH 清除率：以水萃的結果來看，皮低溫略高於高溫；而葉高溫略低於低溫；枝高溫明顯大於低溫；以酒萃的結果來看，無論是皮、葉、枝都是在高溫下，DPPH 清除率較佳。若比較水萃與酒萃的數據，DPPH 清除率在低溫下，皮、葉、枝均為水萃>酒萃。而在高溫下，水萃與酒萃 DPPH 清除率，水萃略高於酒萃，但差異不大。

無論在低溫水萃，高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃下，**抗氧化效果均是皮>葉>枝。**

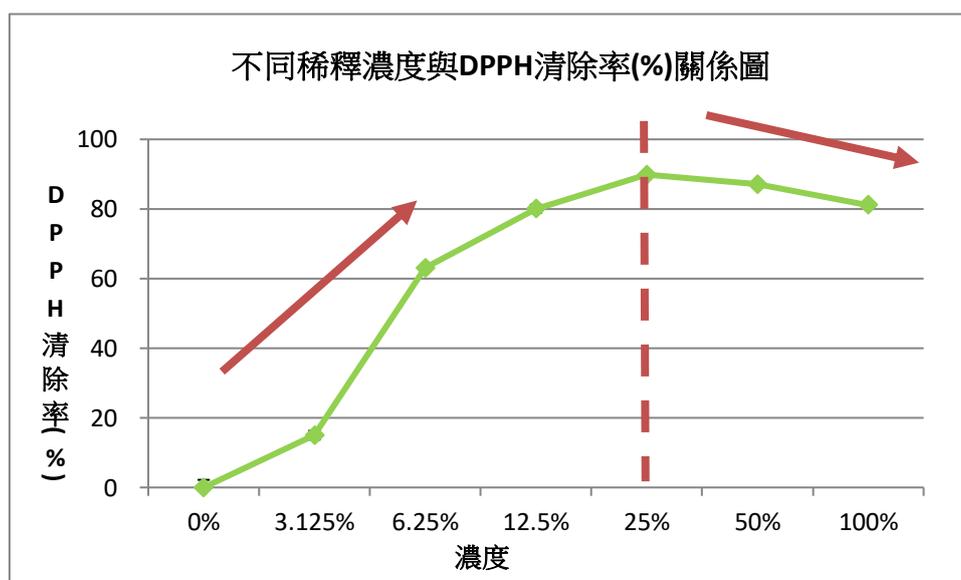
=>綜合碘滴定及 DPPH 清除率的測試，**我們選擇較具抗氧化潛力的水萃、高溫、4 小時的條件**（圖 3 及圖 6 藍色虛線框），**進行海梨柑-皮之萃取**(約略估計，碘滴定結果>100ppm 維他命 C 的抗氧化效果；DPPH 清除率約相當於 25-50ppm 維他命 C 左右的抗氧化效果)，**利用其萃取液進行生活應用的研究與測試。**

## 二、針對水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液，作進一步的測試

### (一)不同稀釋濃度對海梨柑萃取液的抗氧化力影響



【圖 7】在不同稀釋濃度下，高溫、水萃、4 小時之海梨柑-皮萃取液碘滴定的結果



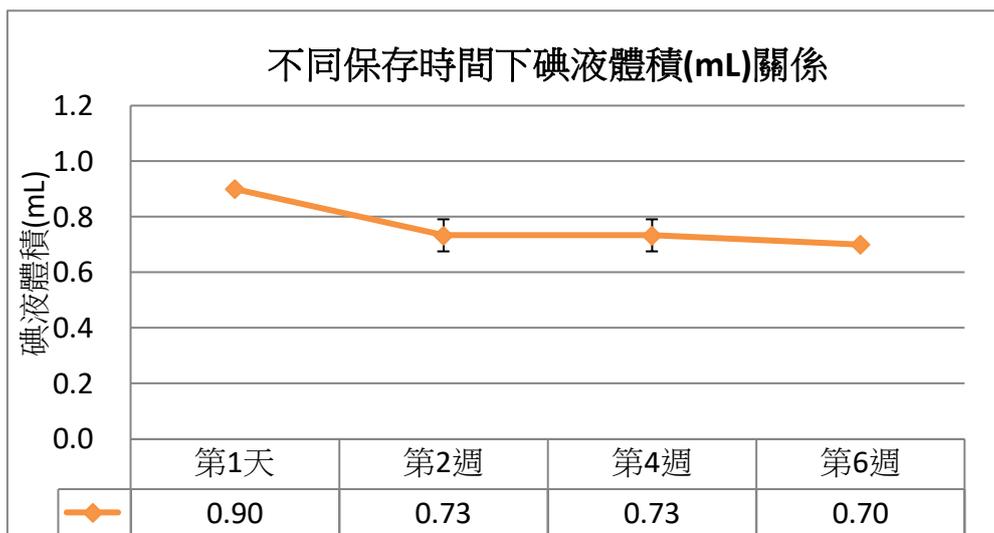
【圖 8】在不同稀釋濃度下，高溫、水萃、4 小時之海梨柑-皮萃取液 DPPH 清除率的結果

實驗數據分析：(圖 7、圖 8、附錄表 11~12)

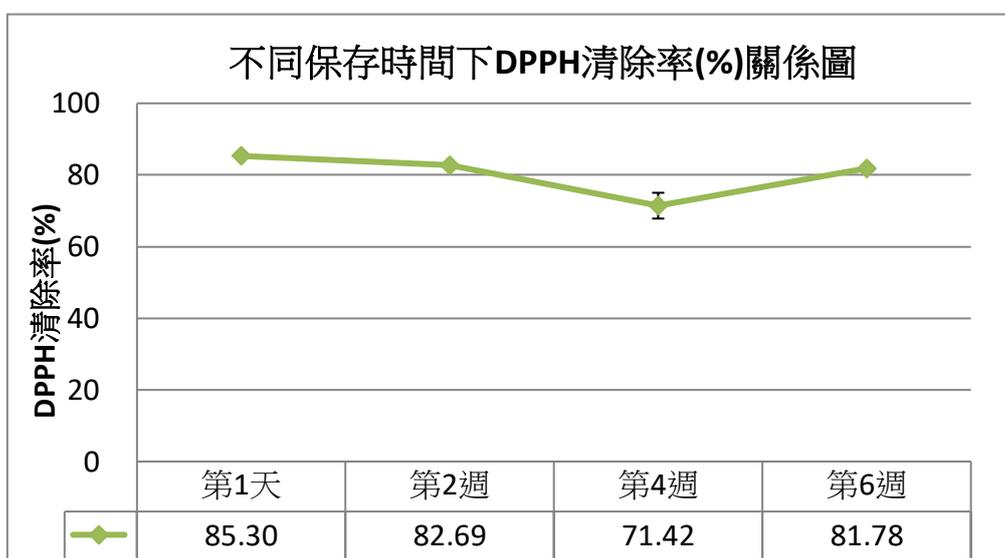
由碘滴定的結果可知，隨著海梨柑萃取液的濃度越低，碘液的體積越少，抗氧化力越低，且呈濃度趨勢。

由 DPPH 清除率的結果可知，在 25%以下的濃度，濃度越高，DPPH 的清除率越好，有濃度趨勢，但在 50%及 100%(原液)的濃度下，DPPH 清除率略低於 25%的濃度。

(一)不同保存時間對海梨柑萃取液的抗氧化力影響



【圖 9】在不同保存時間下，高溫、水萃、4 小時之海梨柑-皮萃取液碘滴定的結果



【圖 10】在不同保存時間下，高溫、水萃、4 小時之海梨柑-皮萃取液 DPPH 清除率的結果  
實驗數據分析：(圖 9、圖 10、附錄表 13~14)

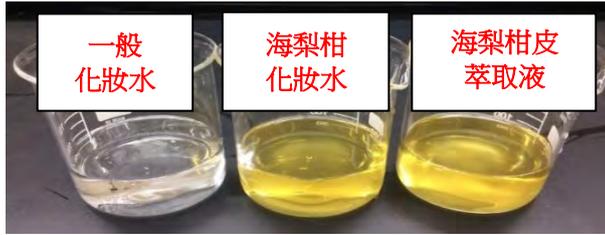
在碘滴定的結果中可知，剛萃取出的海梨柑萃取液的碘液體積約為 0.9mL 經過 2 週冷凍保存，降為 0.73 mL，約下降 1/5 的碘液體積，但保存 4 週與 6 週則與 2 週結果相近。

在 DPPH 清除率的結果可知，除了保存 4 週略低外，保存 2 週及 6 週的結果都與剛萃取出的海梨柑萃取液 DPPH 清除率一致。

我們利用水萃、高溫、4 小時的萃取條件，進行海梨柑-皮萃取，利用此萃取液自製成海梨柑化妝水，並測試此化妝水是否具有抗氧化效果。

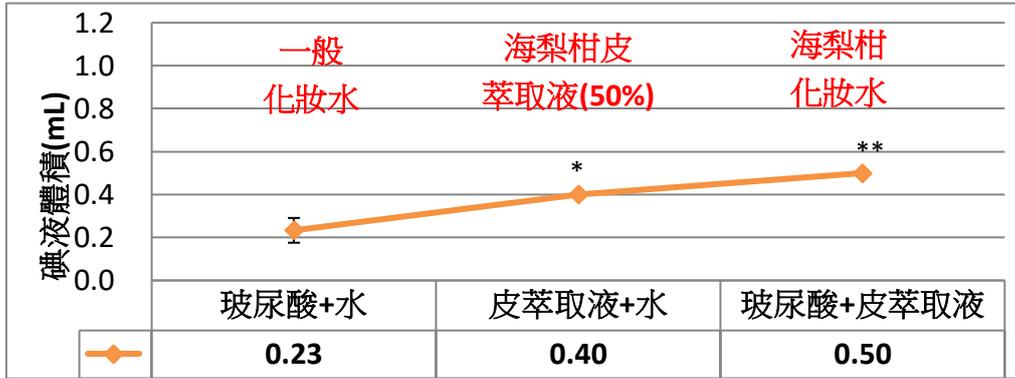
名稱	成分
一般化妝水	0.1%玻尿酸
海梨柑化妝水	0.1%玻尿酸、50%海梨柑皮萃取液
海梨柑皮萃取液 (50%)	50%海梨柑皮萃取液

三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用 -海梨柑化妝水



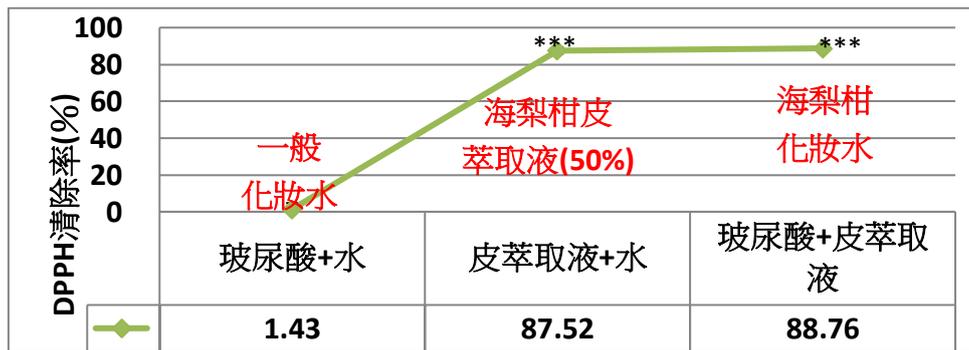
【圖 11】配置好的化妝水

(一) 抗氧化測試：



“—”表示不顯著，“\*”表示  $P < 0.05$ ，“\*\*”表示  $P < 0.01$ ，“\*\*\*”表示  $P < 0.001$ 。P 為機率值

【圖 12】一般化妝水與海梨柑化妝水之碘滴定的比較



“—”表示不顯著，“\*”表示  $P < 0.05$ ，“\*\*”表示  $P < 0.01$ ，“\*\*\*”表示  $P < 0.001$ 。P 為機率值

【圖 13】一般化妝水與海梨柑化妝水之 DPPH 清除率的比較

實驗數據分析：(圖 11~13、附錄表 15~16)

在碘滴定及 DPPH 清除率的結果中可知，一般化妝水並無抗氧化效果。而本研究製備海梨柑化妝水，碘滴定體積為 0.5mL、DPPH 清除率為 88.76%，約相當於 50ppm 維他命 C 的抗氧化效果。與海梨柑皮萃取液(50%)相比，差異不大。

(二) 抗氧化化妝水試用



= > 具有淡淡橘皮香氣的海梨柑化妝水 (pH5.5)，試用後溫和不刺激皮膚

【圖 14】抗氧化化妝水試用

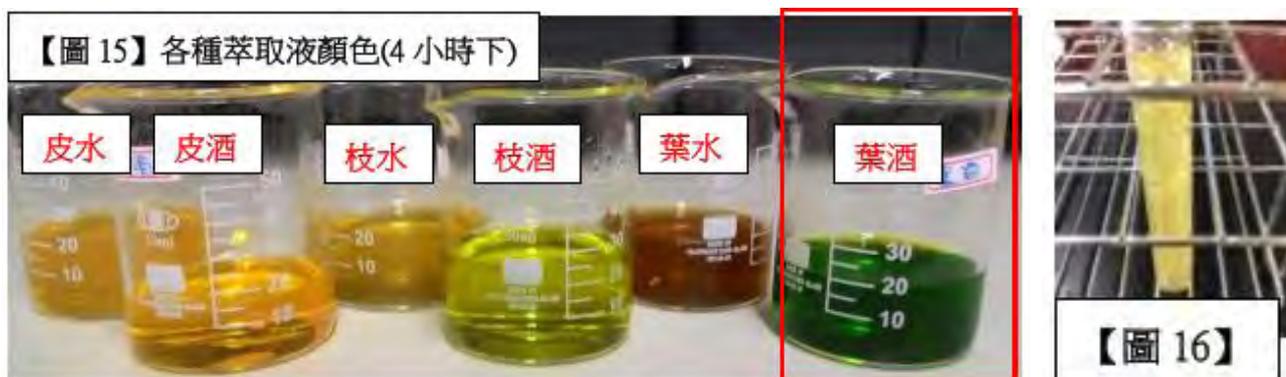
## 陸、討論

### 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位（皮、葉、枝）萃取液抗氧化力的研究

- (一)在文獻中可知，目前已發現具**抗氧化能力物質**有許多種，有些為**水溶性**，例如：**維他命 C**、**類黃酮**、**花青素**等；有些為**脂溶性**，例如：**維他命 E**、 **$\beta$ 胡蘿蔔素**等。希望能利用水與酒精兩種不同性質的溶劑，將不同的抗氧化物質萃取出。**水為具極性分子**，若以水為溶劑，應可萃取出水溶性的物質，酒精(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)極性較水小，除了溶出極性分子外，其**烴基(CH<sub>3</sub>)**部分也可以使之萃取出一些非極性分子(較疏水的物質)，所以，**水萃與酒萃的海梨柑萃取液中所含的物質，可能有相同的部分，也有些差異**。由我們的實驗無法確認所含的抗氧化物質有哪些，需要進一步檢測才知道。而若要萃取出更非極性(疏水性)的物質，可能需要使用非極性的溶劑，例如：**丙酮**。但非極性溶劑揮發性高，且多具毒性，故未選擇使用來作為本研究的萃取溶劑。
- (二)**抗氧化力的檢測方式有許多種**，例如：**清除超氧陰離子能力、螯合亞鐵離子、普魯士藍還原力測試**等，考量時間及設備材料，我們選用**DPPH 清除率及碘滴定法(還原碘分子)**兩種方式測試抗氧化效果，也許之後可更進一步利用其他方式探討海梨柑萃取液之抗氧化力。而碘滴定法的缺點是判斷測試樣本變藍色為滴定終點，會有主觀上的誤差，而有些測試已達滴定終點後又會變透明，故難以精確判斷，故我們利用**30 秒不變色**作為最後判斷是否變色的標準，且均以同一為組員來進行判斷，以減少實驗的誤差。而我們也發現 DPPH 清除率測試抗氧化力的範圍較窄，超過 50ppm 的維他命 C 其 DPPH 的清除率已達 90%與 100ppm 的 DPPH 清除率 96%差異不大。
- (三)在進行酒精萃取液的碘滴定測試時，我們發現不會達到滴定終點，覺得奇怪，後來發現因為實驗需加入 2%澱粉液到測試液中，但澱粉液不溶於酒精。所以，無法進行碘滴定法的測試。經測試，在 10%酒精下，澱粉液可溶於酒精，且能觀察到碘液與澱粉液結合所呈現的藍黑色。故所有酒萃樣本進行碘滴定法測試前，會先以加熱板加熱，讓 100mL 萃取液蒸發至剩 10mL(濃縮 10X)，再加水補到 100mL，這樣海梨柑萃取液濃度不變，而酒精濃度也不會影響碘滴定的測試，但可能會失去萃取出中不耐熱的成分。是否因為如此，酒萃的萃取液在碘滴定測試下均小於水萃，可能須進一步確認才能證實。
- (四)由圖 3 及 6，可以看出，其實在 4 小時萃取下，無論低溫或高溫，以水萃之海梨柑皮萃取液在碘滴定法及 DPPH 的清除率的結果差異不大，但後來還是選擇高溫作進一步的應用，原因是高溫萃取時，萃取液有沸騰，有高溫殺菌的效果，且所萃出的物質雖不知道與低溫是否相同，但應該較為耐熱。為避免後續應用時，產熱的過程會讓抗氧化效果變差，故直接選用**抗氧化效果佳的高溫、水萃、4 小時萃取下的海梨柑-皮萃取液**進行應用。
- (五)在實驗結果(圖 2-3 及圖 5-6)中可以發現，**海梨柑的各部位皮、枝、葉，均有抗氧化效果**，無論在不同溫度與不同溶劑萃取下，均以皮的效果最好。在碘滴定法的結果中，低溫、水萃、1 小時的皮萃取液略低於相同萃取條件 30 分鐘萃取的樣本，我們認為是取樣上的誤差造成。而在 DPPH 清除率的測試中，葉在高溫下，無論水萃或酒萃的抗氧化力與皮是接近的，而在碘滴定法則低於皮。

(六)相較於皮，只有在結果期(接近過年時)才有，且須剝除果肉，而葉、枝則是全年可利用。因為葉與枝的 DPPH 清除率效果佳(圖 5-1~5-4)，而碘滴定法與 DPPH 清除率測試出效果佳的抗氧化物質可能不相同，所以我們認為海梨柑枝與葉的抗氧化潛力，值得我們做進一步探討。

(七)再利用酒精萃取海梨柑葉時，除了淡淡的香，其萃取液的綠(圖 15)都讓大家覺得很美。是否能利用來增加視覺上的感受又兼具抗氧化效果，也許可在未來進一步測試。



(八)我們發現在 4 小時、高溫、水萃的萃取條件下，海梨柑-皮萃取液非常黏稠(圖 16)，在進行 DPPH 清除測試時，需混和均勻測 OD<sub>517</sub> 的吸光值，萃取液與 DPPH 作用後的液體會有許多泡泡，需等待及放慢加入比色管的速度才會減少泡泡的產生，我們覺得這樣的現象會造成 OD<sub>517</sub> 讀值的誤差，而低估了其清除 DPPH 的效果。

(九)葉的萃取液顏色較重(圖 15)，可能會影響碘滴定及 DPPH 清除率的結果，若稀釋後減少顏色在進行實驗，可能較能避免顏色造成的誤差。

## 二、針對水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液，作進一步的測試

### (一)不同稀釋濃度對海梨柑萃取液的抗氧化力影響

1.利用碘滴定法進行測試，水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液具濃度趨勢；但在 DPPH 清除率的測試中，我們發現萃取原液及 50% 的稀釋濃度下，竟略低於 25% 的稀釋濃度，推測是濃稠程度易產生氣泡造成的誤差。而海梨柑皮萃取液的顏色呈淡黃色，而 DPPH 溶液為紫色(水+0.2  $\mu$ M DPPH)，OD<sub>517</sub> 的讀值在紫色下數字高，約為 1.0-1.2 間，而在水、酒精下校正為零，淡黃色的海梨柑-皮萃取液的讀值也在 0.1 以下，故顏色不會造成 DPPH 清除率測試的影響。

2.為了大量取得水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液，我們收集多次的萃取液集合起來進行利用，也發現不同次萃取的海梨柑萃取液在碘滴定及 DPPH 清除率的測試結果也會有些微差距，也許是海梨柑皮本身的差異或萃取率的差異等原因造成。要如何增加抗氧化物萃取率也是可以進一步研究的。例如：降低海梨柑樣本的體積(磨碎)等。

### (二)於冷凍(-20°C)保存下，不同保存時間對海梨柑萃取液的抗氧化力影響

我們將海梨柑萃取液保存於-20°C，原因是水萃萃取液若放置室溫或冷藏保存，在未加抗菌劑下，容易發霉。而目前我們只做到冷凍保存 6 週，而抗氧化效果只有些微的下降(1/5)，也許可以拉長保存時間，檢測其有抗氧化效果又不失活性的最長時間。

(三)柑橘類果皮已知含有類黃酮、維他命 C 等水溶性抗氧化物質，而維他命 C 不耐熱，所以，我們認為水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液中的抗氧化成分可能為類黃酮。

### 三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用-海梨柑化妝水

(一)我們所製作的海梨柑化妝水內所含的海梨柑皮萃取液相當於 50%濃度，在不含玻尿酸之相同海梨柑皮萃取濃度的測試中可知，加入玻尿酸，並不會造成抗氧化力下降。而與一般化妝水比較，可知海梨柑化妝水的抗氧化效果的確是來自海梨柑皮萃取液。

(二)一般市售的有抗氧化物質添加的化妝水中，維他命 C 添加的濃度大約為 30000ppm(3%)，而我們配置的海梨柑化妝水約相當於 50ppm 維他命 C 濃度的抗氧化效果。若能將海梨柑皮萃取液濃縮或乾燥再進行化妝水的配製，也許可增加抗氧化效果，可作為進一步研究的方向。

(三)植物內的天然成分很多，我們利用水及酒精進行初步萃取，萃出的物質不只有一種，是否有其他成分還具其他功效，例如：抗發炎，也是我們所好奇的。而目前已被確認的抗氧化物質很多，是否海梨柑中的抗氧化物質是已經被確認的，或是還有新的未知成分，也許需要再進一步搜尋資料來確認。

(四)抗氧化物質在生活中有很多應用，例如：保養品的添加、清潔用品(如：手工皂)的添加、保健食品等，我們先針對較易製作的化妝水進行應用，其他例如：面膜、手工皂或洗面乳也是我們未來想嘗試的項目。

## 柒、結論

### 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力的研究

(一) 由碘滴定法及 DPPH 清除率的結果可知，海梨柑萃取液的抗氧化效果的趨勢如下：

- 1.不同部位之抗氧化效果：皮>葉>枝。
- 2.不同萃取溶劑之抗氧化效果：水萃>酒萃。
- 3.不同萃取溫度之抗氧化效果：高溫>低溫。
- 4.不同萃取時間之抗氧化效果：4 小時>1 小時>30 分鐘。

(二)海梨柑的果皮、葉、枝均具有抗氧化成分，具應用價值。

(三)水萃、高溫、4 小時萃取之海梨柑-皮萃取液最具有抗氧化潛力且其中抗氧化成分具耐高溫特性。

### 二、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液作稀釋及保存的測試

水萃、高溫、4 小時萃取之海梨柑-皮萃取液，在不同濃度下具抗氧化效果且有濃度趨勢，並於-20℃下，保存 6 週後，仍具抗氧化效果。

### 三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用

水萃、高溫、4 小時萃取之海梨柑-皮萃取液，製作成化妝水後，仍具抗氧化效果。

### 四、本研究統整海梨柑萃取液(高溫、水萃)的可應用性：

便利性	可以自行在家製作		海梨柑化妝水 海梨柑乳液
實用性	耐熱。保養品(化妝水、面膜、乳液)添加、清潔用品(洗面乳、手工皂)添加		
節能性	加熱器 (約 800 瓦) 0.8 度*4 小時=3.2 度，2-3 元/度，約 10 元。*備註：1000 瓦=1 度		
經濟性	\$20 以下/150ml(水、電等)、海梨柑皮：免費		
環保性	取海梨柑皮廢物利用，將『黃皮』變『黃金』，提高其應用價值、過程中，沒有過度繁雜的萃取步驟及有機溶劑對環境的汙染		
功能多樣性	粗萃液的成分多樣，所以除了抗氧化效果外，可能還有其他功效，例如：抗發炎 *柑橘皮白絲已證實有抗發炎效果(康健雜誌 147 期 抗發炎橘子的細絲別丟掉)		
教育性	認識鄉土農作植物、天然植物成分及了解其應用價值		

## 捌、未來展望

一、針對水萃高溫海梨柑-皮萃取液進行進一步研究，例如：

1. 其他理化因子的測試(黏性、保濕性等)
2. 是否有其他功效，例如：抗發炎。
3. 確認其抗氧化能力的成分。例如：HPLC 色層分析。
4. 皮膚敏感性、影響膚質的相關檢測。
5. 更長時間的保存的影響。

二、確認其他部位海梨柑萃取液的應用潛力。

三、其他萃取溶劑(非極性)的萃取。

四、增加萃取液的濃度。例如:濃縮、冷凍乾燥、增長萃取時間。

## 玖、參考文獻

- 一、張麗卿 (2008) 不出錯的防曬·抗氧化，寶瓶文化。
- 二、趙強 (1997) 對抗疾病與老化的新發現--自由基與抗氧化物質，馬偕紀念醫院美食天下 第 64 期。取自：<http://www2.mmh.org.tw/nutrition/chao/064antioxid.htm>
- 三、林恩仕等 (2007)常見十四種植物萃取物之抗氧化功效評估，萬能科技大學 萬能學報 第 29 期 P.179-188。
- 四、蔡榮哲 柑橘類果皮加工利用，台灣柑橘產業發展研討會專刊 P.249-259。
- 五、茶花萃取液之抗氧化能力及其生活上之應用研究。中華民國第 54 屆中小學科學展覽會國中組化學科第三名科展作品說明書
- 六、碘滴定原理  
取自：[http://research.toko.edu.tw/ezfiles/9/1009/attach/25/pta\\_6305\\_3137354\\_36683.pdf](http://research.toko.edu.tw/ezfiles/9/1009/attach/25/pta_6305_3137354_36683.pdf)
- 七、分光光度計原理  
取自：<https://www.yumpu.com/en/document/view/6595257/-/95>
- 八、橘子皮的成份  
取自：<http://www.ju-orange.com.tw/knowledge6.html>  
<https://tw.answers.yahoo.com/question/index?qid=20061228000016KK09872>
- 九、維他命的益處  
取自：<http://blog.xuite.net/chenkinky/twblog/111088436>
- 十、橘子-四悅冬果的營養成分  
取自：<https://www.gotwshop.com/News/355>
- 十一、海梨柑生長與栽培管理  
取自：<http://ir.tari.gov.tw:8080/bitstream/345210000/6165/2/no175.pdf>
- 十二、生物類-黃酮的性質  
取自：<http://www.uho.com.tw/sex.asp?aid=7481>
- 十三、抗氧化最強-黃酮素  
取自：<http://eastweek.my-magazine.me/main/1567>
- 十四、常吃柑橘類水果益處多多  
取自：<http://www.apbcm.com/apagri/16.nsf/ByUNID/54D76402D2B93BC248256FE9000D659>
- 十五、健康百科—有健康網:抗氧化  
取自：<http://www.uuwell.com/mytag.php?id=37132>
- 十六、乙醇  
取自：維基百科 <https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E4%B9%99%E9%86%87>
- 十七、溶劑  
取自：維基百科 <https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E6%BA%B6%E5%89%82>

## 附錄

### 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力的研究

#### (一) 碘滴定法

【表 1】不同濃度維他命 C 標準溶液的碘滴定實驗記錄

濃度(ppm)	0	6.25	12.5	25	50	75	100
1	0.10	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
2	0.20	0.10	0.20	0.30	0.50	0.60	0.80
3	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.70	0.90
平均	0.13	0.13	0.23	0.33	0.47	0.67	0.83
STDEV	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06

【表 2】在低溫水萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的碘滴定實驗記錄

低溫水萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.8	0.2	0.1	1	0.7	0.3	0.2	1	1.1	0.3	0.3
2	0.8	0.2	0.1	2	0.6	0.2	0.2	2	1	0.4	0.3
3	0.7	0.2	0.1	3	0.6	0.3	0.2	3	1.1	0.4	0.3
平均	0.77	0.2	0.1	平均	0.63	0.27	0.2	平均	1.07	0.37	0.3
標準差	0.06	0	0	標準差	0.06	0.06	0	標準差	0.06	0.06	0

【表 3】在高溫水萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的碘滴定實驗記錄

高溫水萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.9	0.5	0.3	1	1.0	0.5	0.4	1	1.0	0.6	0.4
2	0.9	0.5	0.4	2	1.0	0.6	0.4	2	1.0	0.7	0.5
3	0.9	0.6	0.4	3	1.0	0.6	0.4	3	1.1	0.8	0.6
平均	0.9	0.53	0.37	平均	1.0	0.6	0.4	平均	1.03	0.7	0.5
標準差	0	0.06	0.06	標準差	0	0.06	0	標準差	0.06	0.1	0.1

【表 4】在低溫酒萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的碘滴定實驗記錄

低溫酒萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.4	0.1	0.1	1	0.5	0.3	0.2	1	0.6	0.3	0.3
2	0.4	0.2	0.1	2	0.4	0.2	0.2	2	0.7	0.4	0.3
3	0.4	0.2	0.2	3	0.4	0.2	0.1	3	0.6	0.3	0.3
平均	0.4	0.17	0.13	平均	0.4	0.2	0.2	平均	0.63	0.33	0.3
標準差	0	0.06	0.06	標準差	0.06	0.06	0.06	標準差	0.06	0.06	0

【表 5】在高溫酒萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的碘滴定實驗記錄

高溫酒萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.7	0.5	0.3	1	0.7	0.6	0.4	1	0.8	0.6	0.4
2	0.6	0.4	0.4	2	0.8	0.5	0.4	2	0.9	0.7	0.4
3	0.6	0.4	0.3	3	0.8	0.5	0.3	3	0.8	0.6	0.4
平均	0.63	0.43	0.33	平均	0.8	0.5	0.4	平均	0.83	0.63	0.4
標準差	0.06	0.06	0.06	標準差	0.06	0.06	0.06	標準差	0.06	0.06	0

(二) DPPH 清除率(%)

【表 6】不同濃度維他命 C 標準溶液的 DPPH 清除率實驗整理

濃度(ppm)	0.00	6.25	12.50	25.00	50.00	75.00	100.00
1	1.16	0.87	0.56	0.20	0.10	0.05	0.05
2	1.15	0.87	0.50	0.23	0.09	0.05	0.05
3	1.22	0.87	0.52	0.20	0.08	0.05	0.05
平均	1.18	0.87	0.53	0.21	0.09	0.05	0.05
STDEV	0.04	0.00	0.03	0.02	0.01	0.00	0.00
清除率	0.00	26.35	55.35	82.27	92.44	95.69	96.12

【表 7】在低溫水萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的 DPPH 清除率實驗整理

低溫水萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.12	0.12	0.65	1	0.13	0.22	0.55	1	0.16	0.23	0.23
2	0.12	0.12	0.64	2	0.13	0.21	0.54	2	0.16	0.22	0.23
3	0.13	0.20	0.63	3	0.13	0.21	0.51	3	0.16	0.22	0.23
平均	0.12	0.15	0.64	平均	0.13	0.21	0.53	平均	0.16	0.22	0.23
標準差	0.00	0.05	0.01	標準差	0.00	0.01	0.02	標準差	0.00	0.00	0.00
DPPH 清除率	86.26	50.86	20.34	DPPH 清除率	89.36	71.44	48.22	DPPH 清除率	90.05	81.22	56.45
標準差	0.26	3.80	0.00	標準差	0.10	0.65	0.02	標準差	0.20	0.22	0.00

【表 8】在高溫水萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的 DPPH 清除率實驗整理

高溫水萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.22	0.23	0.52	1	0.27	0.77	0.91	1	0.19	0.33	0.61
2	0.22	0.23	0.52	2	0.29	0.80	0.95	2	0.18	0.39	0.61
3	0.22	0.22	0.53	3	0.30	0.82	0.95	3	0.18	0.28	0.61
平均	0.22	0.23	0.52	平均	0.28	0.79	0.94	平均	0.19	0.34	0.61
標準差	0.00	0.01	0.00	標準差	0.01	0.04	0.02	標準差	0.00	0.06	0.00
DPPH 清除率	87.57	80.66	78.36	DPPH 清除率	88.86	82.51	81.93	DPPH 清除率	84.94	83.49	81.71
標準差	0.00	0.01	0.81	標準差	0.01	0.04	1.60	標準差	0.00	0.06	0.31

**【表 9】** 在低溫酒萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的 DPPH 清除率實驗整理

低溫酒萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.83	1.07	1.12	1	0.38	1.02	0.95	1	0.30	0.64	0.71
2	0.81	1.09	1.14	2	0.36	1.03	1.07	2	0.30	0.61	0.67
3	0.80	1.09	1.15	3	0.32	0.98	1.09	3	0.31	0.69	0.66
平均	0.81	1.08	1.14	平均	0.36	1.01	1.04	平均	0.30	0.65	0.68
標準差	0.01	0.01	0.02	標準差	0.03	0.03	0.03	標準差	0.00	0.04	0.03
DPPH 清除率	36.29	15.14	10.97	DPPH 清除率	71.57	19.47	17.20	DPPH 清除率	74.54	45.71	42.91
標準差	1.15	0.90	1.20	標準差	2.40	2.27	6.29	標準差	0.22	3.45	2.33

**【表 10】** 在高溫酒萃的萃取條件下，海梨柑萃取液的 DPPH 清除率實驗整理

高溫酒萃											
30 分鐘	皮	葉	枝	1 小時	皮	葉	枝	4 小時	皮	葉	枝
1	0.17	0.26	0.27	1	0.13	0.25	0.22	1	0.17	0.21	0.34
2	0.15	0.23	0.26	2	0.14	0.26	0.21	2	0.18	0.22	0.33
3	0.15	0.34	0.29	3	0.13	0.26	0.21	3	0.18	0.22	0.34
平均	0.16	0.28	0.28	平均	0.13	0.26	0.21	平均	0.18	0.21	0.21
標準差	0.01	0.05	0.02	標準差	0.01	0.00	0.01	標準差	0.00	0.00	0.00
DPPH 清除率	81.88	78.46	47.97	DPPH 清除率	83.25	78.10	55.75	DPPH 清除率	84.25	81.71	80.26
標準差	1.04	4.23	1.20	標準差	0.48	0.34	0.53	標準差	0.26	0.41	0.41

二、針對水萃、高溫、4 小時之海梨柑皮萃取液，作進一步的測試

(一)不同稀釋濃度對海梨柑萃取液的抗氧化力影響

**【表 11】** 海梨柑萃取液(水萃、高溫、4 小時、皮)的碘滴定實驗記錄

	0%	3.125%	6.25%	12.5%	25%	50%	100%
1	0.10	0.20	0.30	0.30	0.50	0.70	0.60
2	0.10	0.20	0.30	0.30	0.50	0.60	0.70
3	0.20	0.30	0.20	0.40	0.40	0.60	0.70
平均	0.13	0.23	0.27	0.33	0.47	0.63	0.67
標準差	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06

**【表 12】** 海梨柑萃取液(水萃、高溫、4 小時、皮)的 DPPH 清除率實驗整理

	0%	3.125%	6.25%	12.5%	25%	50%	100%
1	0.90	0.77	0.34	0.20	0.10	0.12	0.17
2	0.94	0.79	0.34	0.18	0.09	0.12	0.18
3	0.93	0.79	0.34	0.18	0.09	0.12	0.18
平均	0.92	0.78	0.34	0.18	0.09	0.12	0.17
標準差	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
DPPH 清除率(%)	0.0	15.0	63.1	80.1	89.9	87.1	81.1
標準差	2.19	1.27	0.06	1.16	0.17	0.31	0.76

(二)於冷凍(-20°C)保存下，不同保存時間對海梨柑萃取液的抗氧化力影響

【表 13】在不同保存天數，水萃高溫 4 小時之海梨柑皮萃取液的碘滴定實驗記錄

第 1 天		第 2 週		第 4 週		第 6 週	
1	0.90	1	0.70	1	0.70	1	0.70
2	0.90	2	0.70	2	0.80	2	0.70
3	0.90	3	0.80	3	0.70	3	0.70
平均	0.90	平均	0.73	平均	0.73	平均	0.70
標準差	0.00	標準差	0.06	標準差	0.06	標準差	0.00

【表 14】在不同保存天數，水萃高溫 4 小時之海梨柑皮萃取液的 DPPH 清除率實驗整理

第 1 天		第 2 週		第 4 週		第 6 週	
1	0.177	1	0.231	1	0.303	1	0.213
2	0.177	2	0.192	2	0.384	2	0.207
3	0.164	3	0.188	3	0.322	3	0.223
平均	0.173	平均	0.204	平均	0.336	平均	0.214
標準差	0.01	標準差	0.02	標準差	0.04	標準差	0.01
DPPH 清除率	85.30	DPPH 清除率	82.69	DPPH 清除率	71.42	DPPH 清除率	81.78
標準差	0.59	標準差	0.24	標準差	3.60	標準差	0.69

三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用 -海梨柑化妝水

【表 15】海梨柑化妝水的碘滴定實驗記錄

玻尿酸+水		萃取液+水		玻尿酸+萃取液+水	
1	0.20	1	0.40	1	0.50
2	0.30	2	0.40	2	0.50
3	0.20	3	0.40	3	0.50
平均	0.23	平均	0.40	平均	0.50
標準差	0.06	標準差	0.00	標準差	0.00
顯著性(P 值)		顯著性(P 值)	0.0189*	顯著性(P 值)	0.0076**

— “表示不顯著，” \*” 表示 P<0.05”，“\*\*” 表示 P<0.01，” \*\*\*” 表示 P<0.001。P 為機率值

【表 16】海梨柑化妝水的 DPPH 清除率實驗整理

玻尿酸+水		萃取液+水		玻尿酸+萃取液+水	
1	0.995	1	0.12	1	0.127
2	1.05	2	0.117	2	0.152
3	1.06	3	0.117	3	0.114
平均	1.035	平均	0.118	平均	0.131
標準差	0.04	標準差	0.00	標準差	0.02
DPPH 清除率	1.43	DPPH 清除率	88.76	DPPH 清除率	87.52
標準差	3.33	標準差	0.16	標準差	1.84
顯著性(P 值)		顯著性(P 值)	0.0003***	顯著性(P 值)	0.0003***

— “表示不顯著，” \*” 表示 P<0.05”，“\*\*” 表示 P<0.01，” \*\*\*” 表示 P<0.001。P 為機率值

## 【評語】 030826

優點：

1. 發現海梨柑皮、葉、枝萃取物具不同抗氧化效果。
2. 抗氧化試驗方法標準。
3. 發現對皮、葉、枝，均以水萃的抗氧化力優於酒精萃取，高溫萃取較低溫萃取佳。
4. 實用價值高。
5. 以碘滴定法與 DPPH 清除率測試萃取液，方法相對簡易，實驗內容豐富，也有清楚的結論。
6. 有鄉土材料海梨柑為主題，實驗室已抗氧化標準測試方法進行，有不同萃取步驟比較實驗還算嚴謹。
7. 不同條件製作出之海梨柑化妝水 DPPH 清除率高於一班化妝水。
8. 實驗完整度高。

待改進：

1. 由於討論時大都屬定性之討論，若能加上定量之討論分析，如試樣最佳之抗氧化能力相當於多少濃度對照組維生素 C 之抗氧化能力等，或會較好。
2. 研究者只注重在萃取與分析，不太清楚應用的研究目的為何，需要加以思考。

作品海報

# 摘要

本研究以在地芎林鄉鹿寮坑特色橘類「海梨柑」為探討樣本，在不同溫度及時間下，利用不同溶劑-水和酒精，進行植株不同部位-皮、葉、枝的萃取，以碘滴定法與DPPH清除率測試萃取液的抗氧化力。由實驗結果得知:抗氧化力以皮>葉>枝。而不論在皮、葉、枝，均以水萃的抗氧化力優於酒精萃取，且高溫萃取較低溫萃取佳。我們選擇最具抗氧化效果的高溫(100°C)、水萃、4小時、海梨柑「皮」之萃取液，進行稀釋及冷凍(-20°C)保存之抗氧化測試，結果可知稀釋後的萃取液之抗氧化力具有濃度趨勢，且在冷凍保存6週後，抗氧力只下降約1/5。最後，將其應用在海梨柑化妝水的配置，約相當於50ppm維他命C的抗氧化能力且有著淡淡的橘皮香氣及溫和(pH5.5)不刺激皮膚的優點。

## 壹、研究動機

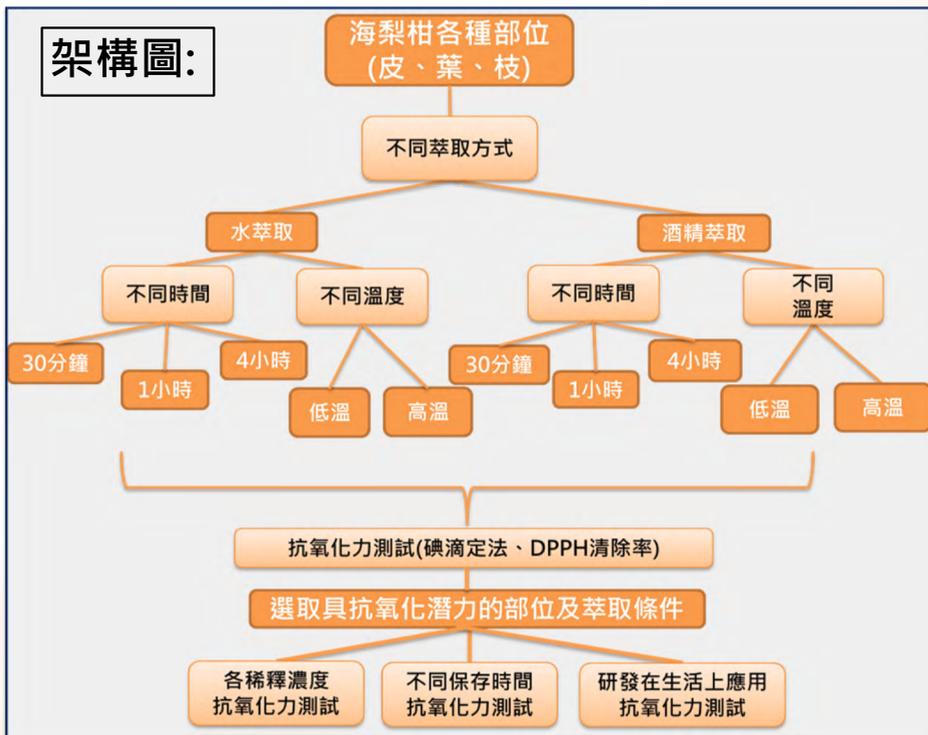
海梨柑是桶柑的一種，屬於芸香科、柑橘屬，含豐富礦物質、酵素、檸檬酸、大量維他命C及果膠，可以消除膽固醇，益於人體健康。而柑橘類水果一般都富含維他命C、類黃酮類化合物等抗氧化成分。抗氧化物質已經被研究證實具有消除自由基的能力，自由基會造成癌症、心血管疾病、老化的問題的。我們想針對海梨柑的抗氧化力進行研究，除了果肉，我們思考著果樹的其他部位，像是不被食用的果皮、枝條或葉子，是否也有抗氧化物質的存在？不同的抗氧化物質，有些是偏水溶性的，例如：維他命C、類黃酮、兒茶素、多酚、花青素等；有些是偏脂溶性的，例如：維他命E、Q10、蕃茄紅素，蝦紅素等。所以，我們以在地芎林鄉鹿寮坑特色橘類「海梨柑」為樣本，選用了水及酒精兩種性質不同的溶劑，進行海梨柑不同部位的萃取，配合不同溫度、時間等萃取條件，希望能找出海梨柑不同部位-皮、葉、枝的萃取液是否具抗氧化效果，並針對較具抗氧化效果的萃取液，進一步應用在生活中。

## 貳、研究目的

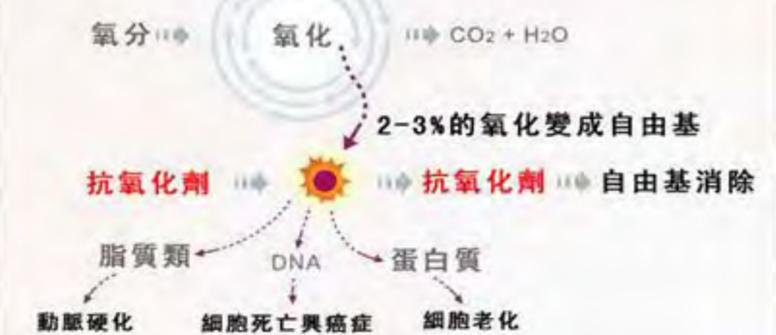


## 參、實驗過程與方法

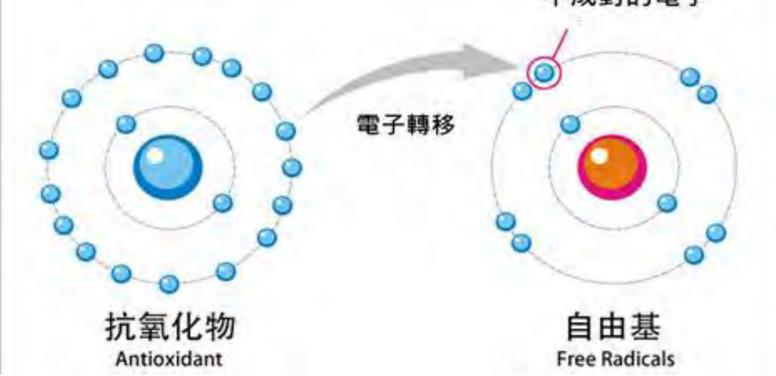
### 架構圖:



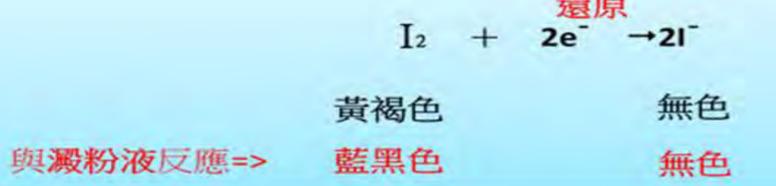
### ◎自由基的形成與代謝



### ◎抗氧化物清除自由基



### ◎碘滴定法原理



### ◎清除DPPH自由基原理



### ※專有名詞

(一) 自由基: 「帶有一個單獨不成對電子的原子、分子或離子。」在人體的任何部位都有可能產生，例如粒線體，它是細胞內進行氧化作用產生能量的胞器，也是產生自由基(過氧化物)的主要地點。較活潑、帶有成對電子的自由基性質不穩定，具有搶奪其他物質的電子、使自己原本不成對的電子變得成對(較穩定)的特性。而被自由基搶走電子的物質也可能變得不穩定，可能再去搶奪其他物質的電子，於是產生一連串的連鎖反應，這些被搶奪的物質遭到破壞，老化、疾病與癌症隨之發生。

(二) 抗氧化物質: 可代替身體細胞被自由基等物質氧化，進而保護我們體內的細胞。自然的飲食中，被稱為三大抗氧化物質的是維他命C、維生素E和β-胡蘿蔔素，其餘的抗氧化物還包括:類黃酮、輔酶Q10、茄紅素、天然蝦青素(蝦紅素)及花青素等。許多水果中含有維他命C、類黃酮、維生素E、β-胡蘿蔔素及花青素。

### ※實驗原理-抗氧化力測試

#### (一)利用碘液滴定法

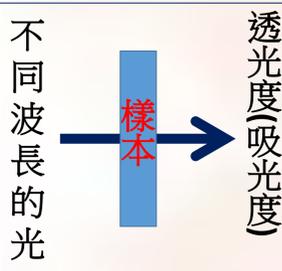
1. 原理: 利用抗氧化物質將碘分子還原成碘離子的特性 ( $I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^-$ )，測試其抗氧化力。碘分子會被抗氧化劑還原成碘離子，此時呈現無色。當抗氧化劑已完全與碘分子反應時，會無法還原後續加入的碘分子，過量的  $I_2$  與溶液中  $I^-$  生成  $I_3^-$ ，並和預先加入的澱粉指示劑，產生藍黑色錯合物，可知已達到滴定終點。所以，碘分子(碘液，又稱澱粉殘留測定液)滴定的量越多，代表抗氧化物質愈多。

#### (二)清除DPPH自由基能力

原理: DPPH 自由基之乙醇溶液為深紫色，於波長517nm下有最大之吸光值，常用來評估抗氧化物提供氫的能力。當樣本具有抗氧化能力時，則能清除DPPH自由基，而顏色會由深紫色變為淡黃色，吸光值就會下降。若DPPH 自由基被消除越多，則吸光值就會下降的越多，表示樣品清除DPPH 自由基的能力就越強。利用DPPH清除率(相對於對照組-水之吸光值下降百分比)，可判斷樣品消除DPPH 自由基能力之強弱。DPPH清除率愈高，消除DPPH 自由基的能力越強，抗氧化力就越佳。

#### \*DPPH清除率(%)換算:

$$\left[ \frac{\text{對照組吸收度} - \text{樣本吸收度}}{\text{對照組吸收度}} \right] * 100$$



※ 分光光度計: 利用分光光度法對物質進行定量定性分析的儀器，通過測定被測物質在特定波長處或一定波長範圍內光的吸收度，對該物質進行定性和定量分析。利用可見光及紫外光之燈管 (Lamp) 做為光源，通過濾光鏡調整色調後，經聚焦後通過單色光分光狹縫光稜鏡，再經選擇波長，使成單一且特定波長之光線，而後射入樣品管中之樣品，最後射入光電管中將光能轉換為電器訊號，藉由樣本及空白水樣間所吸收之光能量差，與標準液之能量吸收值相比較，便可測定樣本中之濃度。

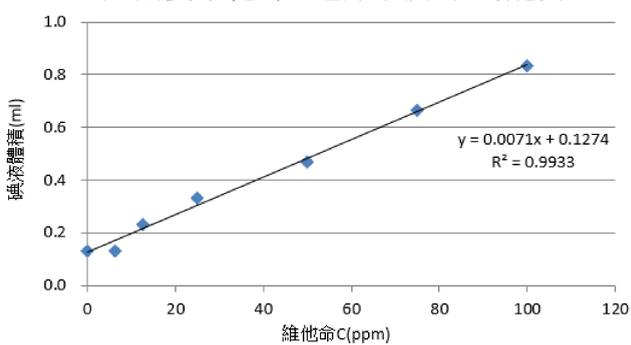
# 肆、實驗結果與討論



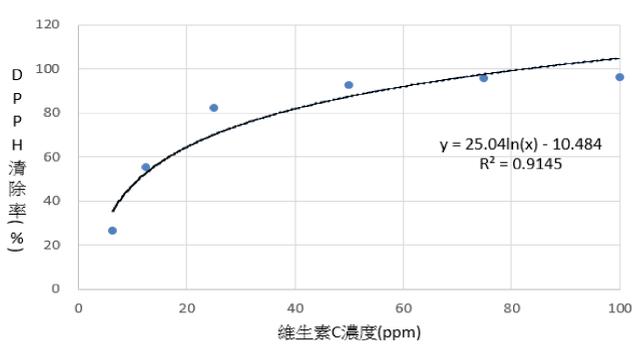
## 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力的研究

### 1. 維他命C：(1) 碘滴定 (2) DPPH清除率

各濃度維他命C還原碘分子的能力



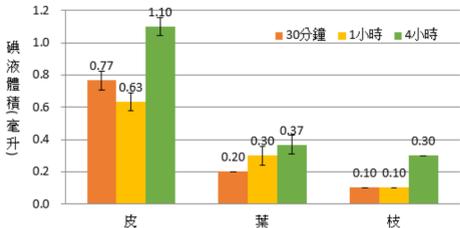
各濃度維他命C的DPPH清除率



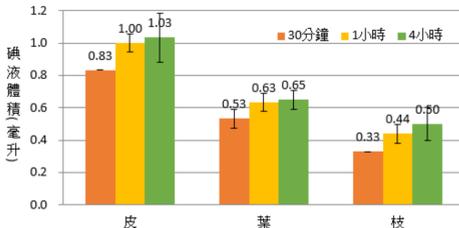
維他命C是很好的抗氧化劑，結果可發現隨著維他命C的濃度越高，DPPH的清除率、碘液的滴定體積就越高，呈正比關係，故以維他命C作為正控制組，來確定抗氧化測試抗氧化力的可行性，並可推估海梨柑萃取液中抗氧化力約相當於多少維他命C的濃度(ppm)。

### 2. 不同時間、溫度與部位 (1) 碘滴定 (2) DPPH清除率

低溫水萃

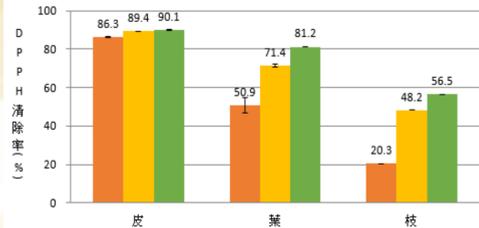


高溫水萃

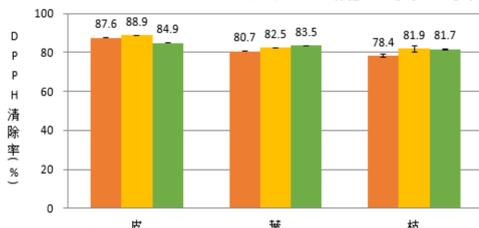


### (2) DPPH清除率

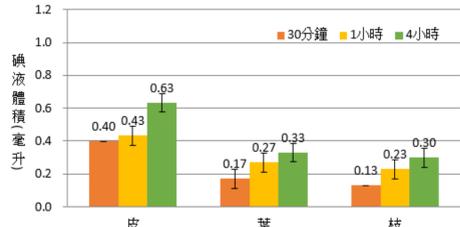
低溫水萃



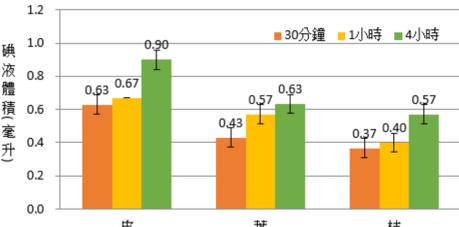
高溫水萃



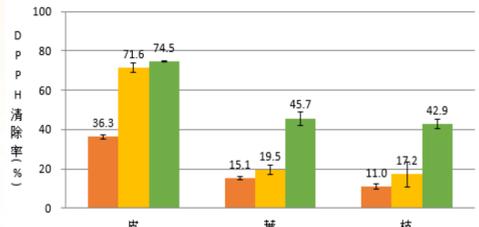
低溫酒萃



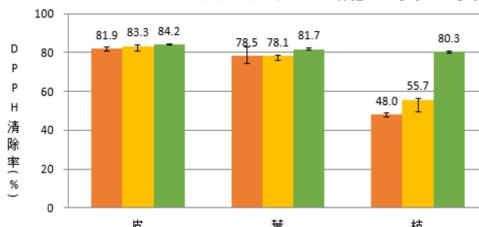
高溫酒萃



低溫酒萃



高溫酒萃

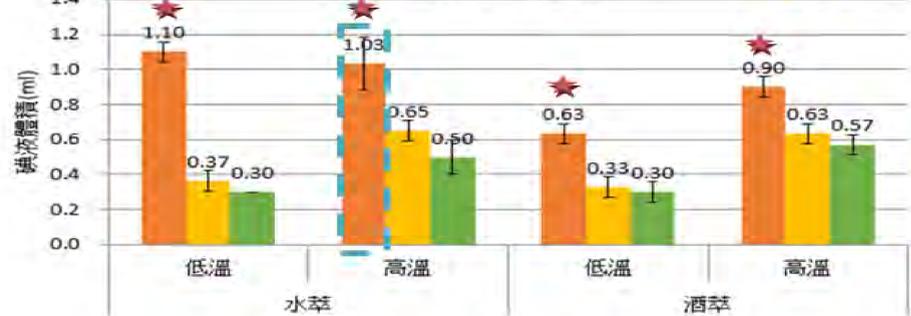


無論在低溫水萃、高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃的條件下，海梨柑萃取液抗氧化能力依序為：皮 > 葉 > 枝，且整體看來，隨著時間越長，所萃取出具有將碘分子還原能力的物質越多，而在4小時萃取下，抗氧化效果最佳。

皮、葉、枝隨萃取時間越長，DPPH清除率增加的趨勢較不明顯。整體看來，無論在低溫水萃、高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃的條件下，海梨柑萃取液之抗氧化能力依序為：皮 > 葉 > 枝。隨著時間越長，抗氧化效果越佳。

### 各萃取方式在4小時萃取下，數據整理-抗氧化力的差異比較碘滴定及DPPH清除率(不同萃取溶劑及不同萃取溫度)

萃取時間4小時



萃取時間4小時



#### # 碘滴定法:

以水萃的數據來看，皮的抗氧化力，低溫與高溫的差異不大；而葉與枝都是在高溫下抗氧化力較佳。以酒萃的數據來看，抗氧化力無論是皮、葉、枝都是在高溫下較佳。若比較水萃與酒萃的數據，抗氧化效果，皮：水萃 > 酒萃；葉：水萃 = 酒萃；枝：水萃 = 酒萃，高溫下亦同。  
=>無論在低溫水萃，高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃下，抗氧化效果均是皮 > 葉 > 枝。

#### # DPPH清除率:

以水萃的結果來看，皮低溫略高於高溫；而葉高溫略低於低溫；枝高溫明顯大於低溫；以酒萃的結果來看，無論是皮、葉、枝都是在高溫下，DPPH清除率較佳。若比較水萃與酒萃的數據，DPPH清除率在低溫下，皮、葉、枝均為水萃 > 酒萃。而在高溫下，水萃與酒萃DPPH清除率，水萃略高於酒萃，但差異不大。  
=>無論在低溫水萃，高溫水萃、低溫酒萃、高溫酒萃下，抗氧化效果均是皮 > 葉 > 枝。

==> 綜合碘滴定及DPPH清除率的測試，我們選擇較具抗氧化潛力的水萃、高溫、4小時的條件(上圖藍色虛線框)進行海梨柑-皮之萃取(約略估計，碘滴定結果 > 100ppm維他命C的抗氧化效果；DPPH清除率約相當於25-50ppm維他命C左右的抗氧化效果)，利用其萃取液進行生活應用的研究與測試。

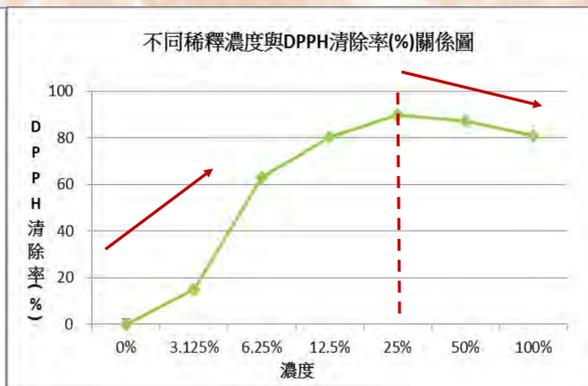
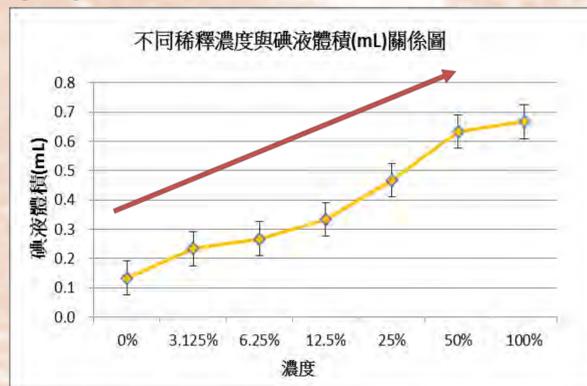
### 實驗討論

1. 抗氧化能力物質有些為水溶性，例如：維他命C、類黃酮、花青素等；有些為脂溶性，例如：維生素E、β胡蘿蔔素等。希望能利用水與酒精兩種性質不同的溶劑，應可將不同的抗氧化物質萃取出。水為具極性分子，若以水為溶劑，應可萃取出較具水溶性的物質，酒精(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)極性較水小，除了溶出極性分子外，其烴基(CH-)部分可以溶出一些非極性分子(較疏水的物質)，所以，水萃與酒萃的海梨柑萃取液中可能有相同的物質。
2. 在4小時萃取下，無論低溫或高溫，水萃海梨柑皮萃取液在碘滴定法及DPPH的清除率的結果差異不大，為避免後續應用時，產熱的過程讓抗氧化效果變差且高溫有殺菌的效果，故直接選用抗氧化效果相對佳的高溫、水萃4小時萃取下的海梨柑-皮萃取液進行應用。
3. 進行清除DPPH實驗時，需與DPPH混合均勻再測OD<sub>517</sub>的吸光值，我們發現在4小時、高溫水萃的海梨柑-皮萃取液非常黏稠，混合時會出現很多泡泡，需放慢加入比色管的速度才會減少泡泡的產生，我們覺得這樣的現象會造成OD<sub>517</sub>讀值的誤差，而低估了其清除DPPH的效果。
4. 在實驗結果中可以發現，海梨柑的各部位皮、枝、葉，均有抗氧化效果，無論在不同溫度與不同溶劑萃取下，均以皮的效果最好。在碘滴定法的結果中，低溫、水萃、1小時的皮萃取液略低於相同萃取條件30分鐘萃取的樣本，我們認為是取樣上的誤差造成。
5. 皮只有在結果期才有，且須剝除果肉，而葉、枝則是全年可利用。因為葉與枝的DPPH清除率效果佳，而碘滴定法與DPPH清除率測試出效果佳的抗氧化物質可能不相同，所以我們認為海梨柑枝與葉的抗氧化潛力，值得我們做進一步探討。



## 二、針對水萃、高溫、4小時之海梨柑皮萃取液，抗氧化力的探討

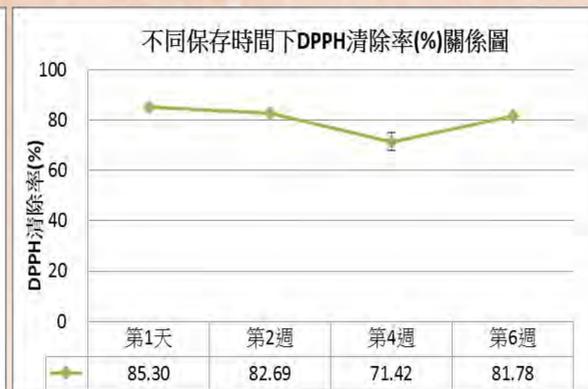
### (一)不同稀釋濃度：碘滴定法、DPPH清除率



\* 由**碘滴定**的結果可知，隨著**海梨柑萃取液**的濃度越**低**，碘液的體積越**少**，**抗氧化力**越**低**，且呈**濃度趨勢**。

\* 由**DPPH清除率**的結果可知，在稀釋成25%以下的濃度，濃度越高，DPPH的清除率越好，有**濃度趨勢**，但在50%及100% (原液)的稀釋濃度下，DPPH的清除率略低於25%的稀釋濃度。

### (二)不同保存時間：碘滴定法、DPPH清除率



\* 在**碘滴定**的結果中可知，剛萃取出**的海梨柑萃取液**的碘液體積約為0.9 mL，經過2週冷凍(-20°C)保存，降為0.73 mL，約下降1/5的碘液體積，但保存4週與6週則與2週結果相近。

\* 在**DPPH清除率**的結果可知，除了保存4週略低外，保存2週及6週的結果都與剛萃取出**的海梨柑萃取液**DPPH清除率一致。

#### 實驗討論

1.要如何增加抗氧化物萃取率也是進一步研究的方向。例如：增加萃取時間、降低海梨柑樣本的體積(磨碎)等；2.也許可以拉長保存時間，檢測其有抗氧化效果又不失活性的最長時間。3.我們將海梨柑萃取液保存於-20°C，原因是水萃萃取液若放置室溫或冷藏保存，在未加抗菌劑下，容易發霉。

## 三、水萃、高溫、4小時之海梨柑皮萃取液，在生活上的應用-抗氧化保濕化妝水

### 應用-化妝水的碘液體積



### ◎化妝水試用



在碘滴定及DPPH清除率的結果中可知，一般化妝水並無抗氧化效果。而本研究製備的海梨柑化妝水，碘液體積約0.5mL、DPPH清除率為88.76%，約相當於50ppm維他命C的抗氧化效果。與海梨柑皮萃取液(50%)相比，差異不大。**具有淡淡的橘皮香氣的抗氧化保濕化妝水，試用後溫和和不刺激皮膚。**

#### 實驗討論

- 1.由結果可知**抗氧化化妝水的抗氧化效果**，的確是來自**海梨柑萃取液**。
- 2.一般市售的有抗氧化物質添加的化妝水，維他命C的濃度大約為30000ppm(3%)，而我們配置的海梨柑約相當於50ppm的維他命C濃度的抗氧化效果，**是否能夠將海梨柑萃取液濃縮或增加萃取率來增加抗氧化效果**，也許可以進一步研究。
- 3.植物內的天然成分很多，我們利用水及酒精進行初步萃取，萃出的物質不只有一種，**是否有其他成分還具其他功效**，例如：**抗發炎**，也是我們所好奇的。而目前已被確認的抗氧化物質很多，是否海梨柑中的抗氧化物質是已經被確認的，或是還有新的未知成分，也許需要再進一步搜尋資料來確認。
- 4.**面膜、手工皂或洗面乳**也是我們未來想嘗試應用的項目。

## 一、不同萃取條件下，海梨柑各部位(皮、葉、枝)萃取液抗氧化力的研究

### (一)海梨柑萃取液的抗氧化效果(碘滴定及DPPH清除率)大致的趨勢為下

1. **皮>葉>枝**；
2. **水萃>酒萃**；
3. **高溫>低溫**；
4. **4小時>1小時>30分鐘**。

### (二)海梨柑的果皮、葉、枝均具有抗氧化成分，具應用價值。

### (三)水萃、高溫、4小時萃取之海梨柑-皮萃取液最具有抗氧化潛力且其中抗氧化成分具耐高溫特性。

## 二、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液作稀釋及保存的測試

水萃、高溫、4小時萃取之海梨柑-皮萃取液，在不同濃度下具抗氧化效果且有**濃度趨勢**，並於-20°C下，**保存6週後**，仍具**抗氧化效果**。

## 三、針對最具抗氧化潛力之海梨柑萃取液，研發在生活上的應用

水萃、高溫、4小時萃取之海梨柑-皮萃取液，**製作成化妝水後**，仍具**抗氧化效果**。

※本研究統整海梨柑萃取液(高溫、水萃)的可應用性：

項目	說明
便利性	可以自行在家製作。
實用性	耐熱。保養品(化妝水、面膜、乳液)添加、清潔用品(洗面乳、手工皂)添加。
節能性	加熱器(約800瓦)0.8度*4小時=3.2度+2-3元/度，約10元。*備註：1000瓦=1度。
經濟性	\$20以下/150ml(水、電等)、海梨柑皮：免費。
環保性	取海梨柑皮廢物利用，將『黃皮』變『黃金』，提高其應用價值。過程中，沒有過度繁雜的萃取步驟及有機溶劑對環境的汙染。
功能多樣性	粗萃液的成分多樣，所以除了抗氧化效果外，可能還有其他功效，例如：抗發炎。 *柑橘皮白絲已證實有抗發炎效果(康健雜誌 147 期 抗發炎橘子的細絲別丟掉)。
教育性	認識鄉土農作物、天然植物成分及了解其應用價值。

## 陸、未來展望

- 一、針對水萃高溫海梨柑-皮萃取液進行進一步研究：
  1. 其他理化因子的測試(黏性、保濕性等)
  2. 是否有其他功效，例如：抗發炎。
  3. 確認其抗氧化能力的成分。例如：HPLC色層分析。
  4. 皮膚敏感性、影響膚質的相關檢測。
  5. 更長時間的保存的影響。
- 二、確認其他部位海梨柑萃取液的應用潛力。
- 三、其他萃取溶劑(非極性)的萃取。
- 四、增加萃取液的濃度。  
例如：濃縮、冷凍乾燥、增長萃取時間。

## 伍、結論

