

中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 工程學科(二)

佳作

052413

廢棄蘭花結合高分子材料製備口內膠研究

學校名稱： 國立嘉義高級中學

作者： 高二 沈柏凱 高二 張竣翔 高二 黃靖	指導老師： 洪瑞鼎
--	------------------

關鍵詞： 廢棄蝴蝶蘭再利用、天然深共融溶劑
(NADES)、口內膠

摘要

本研究針對嘉義地區廢棄蝴蝶蘭(*Phalaenopsis*)資源，嘗試以天然深共熔溶劑(Natural Deep Eutectic Solvent, NADES)在萃取蝴蝶蘭不同部位: 根、莖、葉、花之多醣及相關活性成分，並與傳統水萃取比較萃取率。透過評估萃取液中多醣含量、多酚含量、抗氧化能力，與抗菌能力以衡量萃取物在口腔保健之功效。之後將萃取物進一步結合不同配方之高分子基材料 HPMC(Hydroxypropyl Methylcellulose)與 PVP(Polyvinylpyrrolidone)，嘗試製成能有效成膜的口內膠。實驗結果顯示，以 betaine+lactic acid 組成的 NADES 配方對蝴蝶蘭花部位之多醣與多酚萃取效率特別顯著，亦展現較高之抗氧化能力與抑菌效力，且能與特定配方之高分子材料結合形成有效凝膠。藉由萃取方式與高分子材料之配方優化，最終可望開發出兼具環保、功能性與口腔護理應用潛力的天然凝膠產品。

壹、前言

一、研究動機

植物資源的永續利用，一直是綠色科技領域的重要議題。臺灣的蝴蝶蘭（*Phalaenopsis*）在國際間以花色多變、花形優美享有盛名，因此臺灣也獲得「蘭花王國」的美名。但是我們曾經在放學途中路過巷口花店時，看見了店內堆積許多被淘汰的蝴蝶蘭和於修剪過程中廢棄的蘭花部位。查找資料後我們得知如今多數的廢棄蝴蝶蘭都是被直接掩埋或焚燒處置，少有永續利用的方法。因此我們決定研究如何減少蘭花的浪費。查詢資料後我們得知蘭科植物富含多醣，且含有具抗氧化、抑菌潛力的活性物質。與老師討論後我們希望透過綠色化學技術萃取廢棄蘭花中的有效成分，並進一步製成凝膠敷料，希望能為廢棄蘭花資源找到新的高價值再利用方式。

二、文獻回顧

(一)臺灣的蝴蝶蘭（*Phalaenopsis*）在國際間以花色多變、花形優美享有盛名，成為高經濟價值的商業花卉之一 (Choi et al., 2011)。為維持花卉商品之品質與規格，生產過程中會淘汰不符合市場要求的花朵、葉片與花梗等，使得大量蘭花部位被視為廢棄物處理。這些副產物可能對環境造成處理負擔，且其潛在的生物活性成分亦因此被忽略 (Manners, Stojanovic, & Stamenkovic, 2021)。若僅將其作為堆肥或一般廢棄物，不僅造成資源浪費，也帶來經濟損失。對於蘭花園藝業者與農業部門而言，若能將這些副產物

轉化為具有高經濟價值的生物材料或活性成分，將可實現循環經濟（circular economy）之理念 (Choi et al., 2011; Manners et al., 2021)。尤其，藉由綠色技術萃取到的多醣，不僅可作為健康食品或醫藥配方，亦能應用於口腔護理產品，如口內凝膠、口腔貼片與漱口水等，兼具環保效益與商業潛能(Wang et al., 2019)。

(二)蘭科（*Orchidaceae*）植物富含多醣、酚類化合物、萜類與生物鹼等多種活性物質。多醣尤其在免疫調節、抗氧化、抗發炎與抑菌方面展現高度潛力，同時具黏彈性質而常被應用於黏膜保護或緩釋載體(Wang, Zhou, & Chang, 2019; Yu, Chen, & Huang, 2023)。相較於石斛屬（*Dendrobium*）在中藥或保健食品領域的廣泛研究與應用(Zhang, Wang, & Li, 2020; Zhao & Liu, 2022)，蝴蝶蘭屬(*Phalaenopsis*)之生理功效研究仍屬起步階段。但已有部分資料指向蝴蝶蘭萃取物可能具抗氧化、抗菌與黏膜修復之活性(Minh et al., 2016)，凸顯其在健康照護產品開發上的價值。

(三) 天然深共熔溶劑(Natural Deep Eutectic Solvent,NADES) 在萃取多醣以及多酚、黃酮等極性成分時展現高效率與選擇性佳的優勢。已有文獻成功將 NADES 應用於蒲公英、大黃、枸杞等中草藥多醣的萃取，透過超音波輔助進一步提升萃取效率(Sanja et al., 2024; Hang et al.2023)。NADES 中所含之氫鍵受體與氫鍵供體，可在溫和條件下破壞植物細胞壁、穩定溶解多醣並減少結構降解。同時，由於 NADES 組成物質多為人體可代謝或安全等級高之成分（如氯化膽鹼、胺基酸、果糖等），後續應用於食品或保健品時較無殘留毒性疑慮 (Ana et al., 2019)。

(四)PVP（Polyvinylpyrrolidone）為水溶性高分子，其重複單元包含 N-乙基吡咯烷酮如下圖1。由於分子骨架上帶有極性醯胺基團，使 PVP 能在水與其他極性溶劑中均具良好溶解度[17]。PVP 分子量可隨應用需求選擇不同等級，常用於藥品製劑作為黏合劑、包衣材料或增溶劑。此外，其毒性極低且生物相容性佳，故亦在食品、保養品與個人護理用品（如牙膏、漱口水）中廣泛使用。因 PVP 具有以下特點:

- 1.成膜能力: PVP 溶液乾燥後可形成薄且柔韌的聚合物膜，提供黏附性與保護效果。在口內凝膠中，PVP 可與多醣協同增強黏膜貼附力。
- 2.增溶與穩定 :PVP 分子上的醯胺基團可與多醣、酚類等物質形成氫鍵，增進活性成分在配方中的溶解度與穩定性(Kumbar, Laurencin, & Deng, 2014)。

3.安全性與低刺激: PVP 已通過多項安全評估，屬低過敏性材料，適合敏感度高的口腔環境。

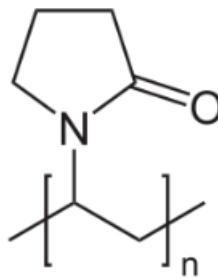
4.黏度與釋放調控: 藉由選擇不同分子量等級，或與其他高分子如 HPMC 複配，可調整凝膠之黏度與釋放速率，達到穩定且緩釋的口腔護理效果(Buchsel, 2007)。

PVP 亦能在 NADES 等溶劑環境中，幫助多醣分散均勻，避免聚集沉降。

故本實驗選擇以 PVP 作為口內膠材料。

圖1

PVP 單體單元結構圖



(National Library of Medicine, 2025)

三、研究目的

(一)比較不同方法萃取蝴蝶蘭所得的有效成分含量，檢驗 NADES 萃取廢棄蘭花中有效成分的能力

(二)評估蝴蝶蘭萃取物之口腔保健潛力，包含抗菌與抗氧化能力

(三)比較不同配方之高分子材料與 NADES 萃取物形成之凝膠性質，藉此找出最適合做為凝膠敷料的配方。評估內容包括凝膠黏附性、薄膜在靜水中維持時間、以及在水流沖刷下的穩定性。

四、實驗原理

(一)高分子材料與綠色溶劑整合萃取技術

深共熔溶劑 (DES, Deep Eutectic Solvents)由 A.P. Abbott 等人於2003年提出，主要透過一種季銨鹽（如氯化膽鹼）與氫鍵供體（HBD)以特定莫耳比混合來產生低共熔點，以形成室溫或近室溫狀態下的液態溶劑(Yuying et al., 2024)。若此類成分來自天然物質（如胺基酸、有機酸、多元醇、醣類等），則稱為 NADES（Natural Deep Eutectic Sol-

vents) (Ana et al., 2019)。NADES 具有低毒性、可生物降解、低揮發性與可調整極性等特點，契合綠色化工與永續發展潮流 (Ana et al., 2019)。傳統上以熱水或醇類溶劑為主，但長時間高溫加熱可能造成部分多醣結構降解，並伴隨能耗過高或溶劑殘留等問題。近年來，天然深共熔溶劑 (NADES, Natural Deep Eutectic Solvent) 在生技與製藥產業受到矚目，原因在於其毒性低、可生物降解且易於操作，能在較溫和的條件下提高活性成分萃取效率 (Ana et al., 2019)。並且傳統多醣萃取常需經多道純化程序 (脫蛋白、脫色、沉澱、乾燥)，再將所得粉末溶解於配方溶劑中製備凝膠。此流程不僅繁瑣，亦可能導致部分活性成分流失。若採用 NADES 在萃取階段即保有多醣於液態，後續僅需經適度稀釋或調整酸鹼值，即可直接添加 PVP 或其他聚合物形成口內凝膠，能大幅簡化生產流程並降低溶劑廢棄量。此「一鍋到底」(one-pot) 製程不僅節能環保，也有望提升多醣得率與活性。NADES 若能與高分子材料直接結合，將萃取到的多醣製備成口內凝膠，可望能減少多重溶劑轉換與精製步驟，符合綠色化學的發展趨勢。本實驗利用兩 NADES: betaine 混合 glycerol (以下簡稱 B+G) 與 betaine 混合 lactic acid (以下簡稱 B+L) 萃取蘭花中有效成分，與傳統方法比較萃取效果，最後再加入 PVP 水凝膠以測試 NADES 萃取物製成口內膠之可能性。

(二) 定量實驗原理

1. 以 Folin - Ciocalteu (F - C) 試劑測定萃取物中多酚含量

Folin - Ciocalteu (F - C) 試劑是一種磷酸鎢-磷酸鉬酸複合物，與酚類化合物反應會產生藍色化合物 (Martins et al., 2023)。本實驗以 Gallic acid 當作標準品，比較樣品與標準品在 765 nm 的吸光值藉此測量樣品中的酚類濃度。

2. 以 Phenol-Sulfuric Acid 法測定多糖含量

高溫濃硫酸會使醣類脫水產生呋喃衍生物，與苯酚反應後形成有色化合物 (Masuko et al., 2006)。本實驗以葡萄糖溶液作為標準品建立在 490nm 吸光度曲線，藉此測量樣品中碳水化合物總量。

3. 以 DPPH 測量樣品抗氧化能力

DPPH 具有一個不成對電子，是呈深紫色的穩定自由基，溶於乙醇溶液中呈藍紫色，在 517nm 下有強吸光值。DPPH 得以被還原後 ($\text{DPPH} \cdot + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A} \cdot$) 而顏色由藍紫轉為淡黃色。吸光值越低表示樣品抗氧化物




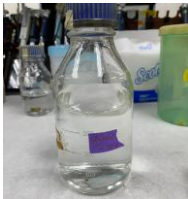






的供氫能力越強，即清除 DPPH 自由基能力越強(Fernando et al., 2024)。本實驗透過比較樣品與對照組在517 nm 的吸光值降低程度，評估樣品的自由基清除率。

4.以 Disk Diffusion(KB test)評估樣品抑菌效果





在細菌平均生長的瓊脂上放置裝有樣品的紙盤，若瓊脂表面出現抑制或殺死細菌的環圈，即表示樣品對此菌株有抑制效果(Alba et al., 2023)。本實驗選用 *Escherichia coli* 和 *Staphylococcus aureus* 為實驗菌種，並以「抑菌圈直徑」(clear zone)評估樣品抑菌效果。


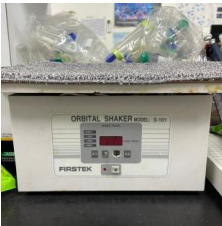


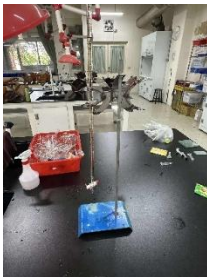
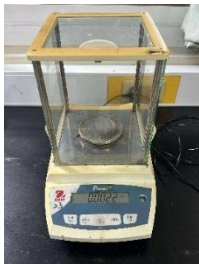

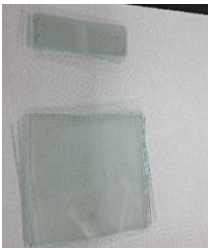
貳、研究設備及材料

一、研究材料

<p>廢棄蝴蝶蘭</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>酒精(75%)</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>2,2-二苯基-1-苦肼基</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>二次水</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>Folin-Ciocalteu 試劑</p>  <p>(研究者拍攝)</p>
<p>維他命 C</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>酚水</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>濃硫酸</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>葡萄糖</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>沒食子酸</p>  <p>(研究者拍攝)</p>

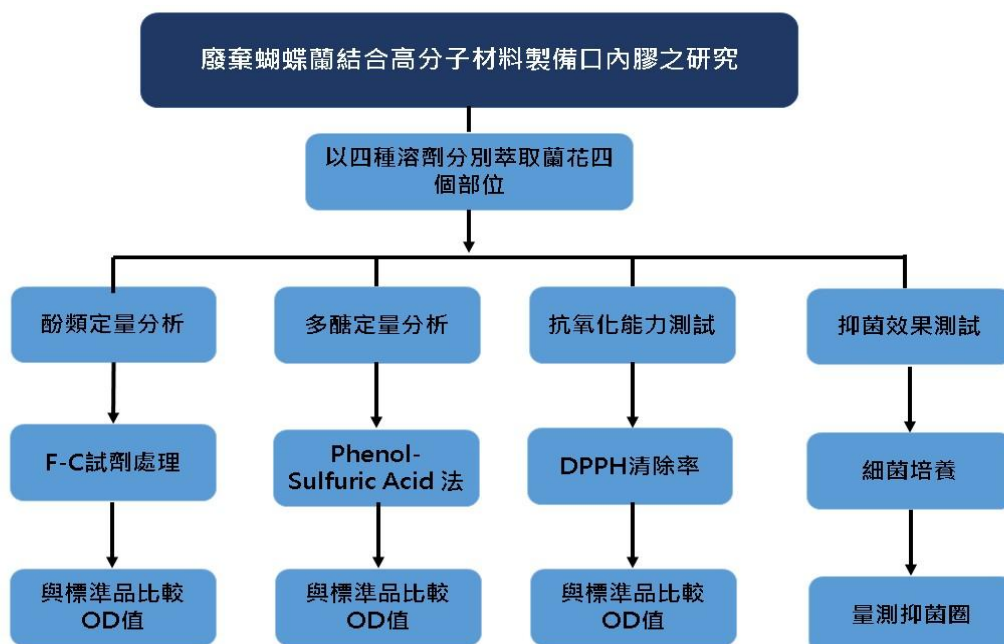
二、設備及器材

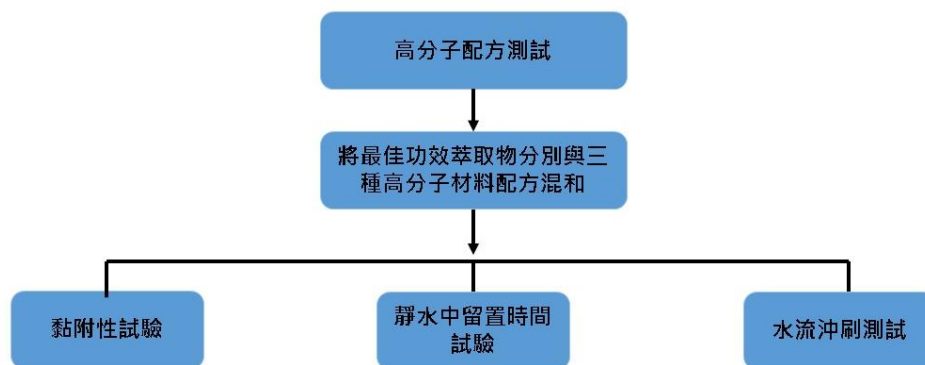
<p>微量滴管</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>試管振盪器</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>分光光度計</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>多孔盤(96孔)</p>  <p>(研究者拍攝)</p>
--	---	--	--

<p>低溫震盪培養箱</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>迴轉式震盪機</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>離心機</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>烘箱</p>  <p>(研究者拍攝)</p>
<p>滴定管</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>四位數天平</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>真空幫浦</p>  <p>(研究者拍攝)</p>	<p>玻片</p>  <p>(研究者拍攝)</p>

參、研究流程及方法

一、實驗大綱





二、研究方法

(一)樣品製備

分別取蘭花根、莖、葉、花四個部位以四種溶劑(純水、甜菜鹼+甘油 (betaine+glycerol,B+G)、甜菜鹼+乳酸(betaine+lactic acid,B+L)進行萃取，得到12組樣品。在實驗二、三與四中，每組樣品重複進行三次獨立實驗(n = 3, technical replicates)

(二)測定多酚含量

1. 溶液配置

- (1)F - C 試劑：5ml F-C 試劑 + 15ml 二次水
- (2)碳酸鈉溶液 (Na_2CO_3)：0.003g Na_2CO_3 + 15ml 二次水
- (3)標準品 - Gallic acid：10mg Gallic acid 加入二次水至10ml
- (4)樣品：水煮蘭花、B+G 煮蘭花、B+L 煮蘭花

2. 配製 Gallic acid 標準品溶液

- (1)標準品濃度：0、50、100、150、200、250 $\mu\text{g/mL}$
- (2)各濃度取200 μL 進行反應

3. 樣品預處理

- (1)樣品離心(12000rpm, 10min)後取上清液，稀釋成16X
- (2)取200 μL 於微量滴管中，每組樣品取60 μL 作為空白組

4. 加入 F - C 試劑

- (1)每組樣品加入200 μL F - C 試劑，空白組加入60 μL
- (2)輕輕混勻，靜置3分鐘

5. 加入碳酸鈉溶液: 加入400 μL Na_2CO_3 溶液，空白組加入120 μL

6. 進行反應

(1)各組以試管震盪器混和均勻

(2)加入多孔盤中置於室溫避光靜置60分鐘，最終樣本呈藍綠色

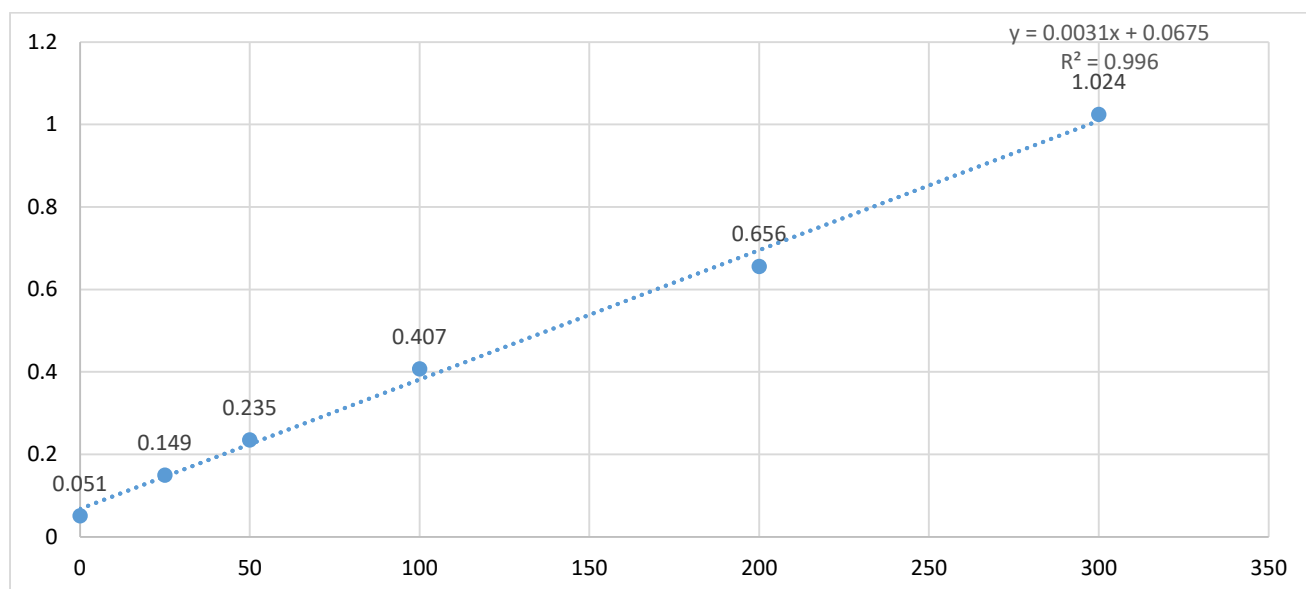
7. 量測吸光度: 測量各組於765nm 下的吸光度

8. 數據處理/濃度計算:

(1)以 Gallic acid 標準曲線建立吸光度-濃度線性迴歸方程式如下圖2

圖2(研究者自行繪製)

以 Gallic acid 標準液所得的吸光度-多酚濃度曲線



(2)將樣品測得吸光度進行空白校正(Blank Correction)後，帶入回歸曲線計算多酚含量(單位為毫克 Gallic acid/毫升樣品)。

(三)Phenol-Sulfuric Acid 法測定多糖含量

1.樣品預處理: 樣品離心後(12000rpm, 10min)取上清液，稀釋為16X

配置五組葡萄糖標準品：0、50、100、250、500 μg/mL

2.進行反應

(1)取 25μL 於微量滴管中，每組樣品取10μL 作空白組

(2)加入150μL 苯酚溶液，空白組加入 60μL

(3)立即加入750μL 濃硫酸，空白組加入 300μL

(4)每管溶液以試管震盪器混勻

3.顯色與冷卻: 加入多孔盤中並於室溫避光靜置 20 分鐘

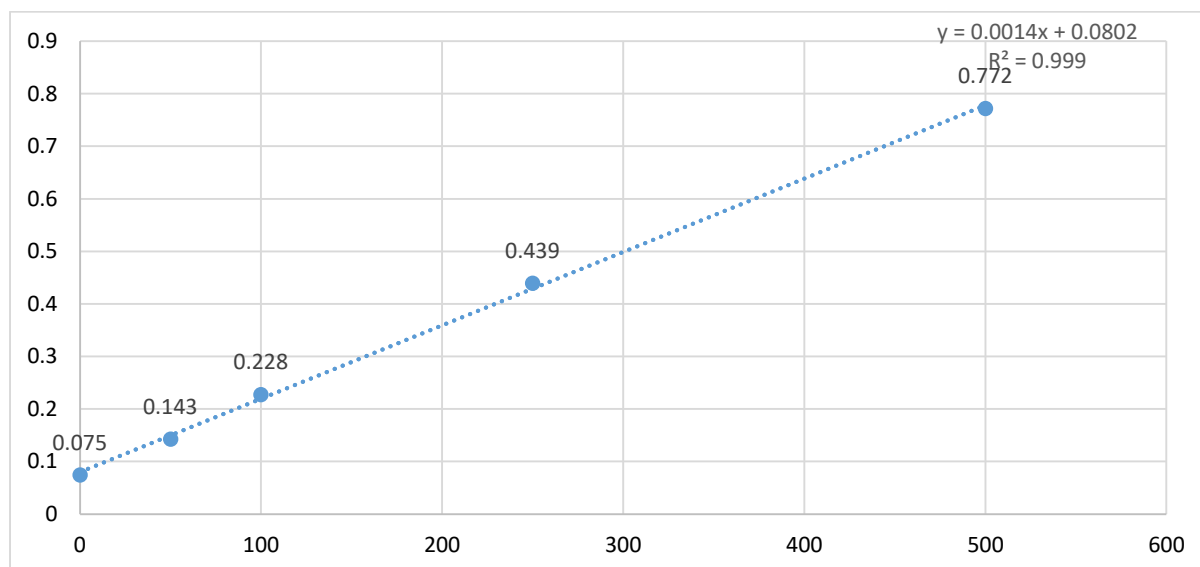
4.量測吸光度: 測量各組於490nm 下的吸光值

5. 數據處理/濃度計算:

(1)以葡萄糖標準曲線建立吸光度-濃度線性迴歸方程式如下圖3

圖3(研究者自行繪製)

以葡萄糖標準液所得的吸光度-多醣濃度曲線



(2)將樣品測得吸光度進行空白校正後，帶入回歸曲線計算多醣含量(單位為毫克葡萄糖/毫升樣品)。

(四)DPPH 自由基清除率

1.配製 DPPH 工作液

(1)取4mg DPPH 粉末 + 50ml 甲醇混合成 DPPH 溶液

(2)配置濃度 1mg/ml 維生素 C 水溶液並避光保存作為抗氧化對照組

2.稀釋樣品

(1)樣品離心(12000rpm, 10min)後取上清液，稀釋成16X

(2)稀釋後樣品離心(12000rpm, 10min)後取125 μ L + 水125 μ L 配置空白組

3.混合反應: 400 μ L 待測樣品 + 400 μ L DPPH 溶液，以試管震盪器混勻後離心(12000rpm, 10min)

(2)加入多孔盤

4.測定吸光度: 各組於517nm 下測定吸光值

5.計算清除率: DPPH 自由基清除率(%) = (1 - (實驗組吸光值 / 對照組吸光值)) \times 100

(五)抑菌效果測試

1.菌液準備

- (1)培養菌株至 OD600 ~ 0.5~0.6
- (2)稀釋至 1.5×10^8 CFU/mL
- 2.塗布菌液: 取100 μ L 菌液均勻塗布於瓊脂平板上，靜置 5~10 分鐘
- 3.置入紙碟
 - (1)於培養基表面放置無菌紙碟，依序滴加10 μ L 待測樣品，如圖2

圖2

紙碟樣品滴加順序



(研究者自行繪製)

- 4.培養: 在37°C 下培養24小時
- 5.量測抑菌圈
 - (1)以直尺測量抑菌圈直徑(mm)
 - (2)以 Ampicillin 作為陽性對照組

(六)水凝膠製備

- 1.將 PVP 與 HPMC 分別以0:1、3:1、7:3比例混合
- 2.加入效果最佳的 NADES 萃取物，混合製成配方一、配方二、配方三共三組水凝膠

(七)黏附性試驗

- 1.取總長7.5cm 之玻片，在玻片一端距末端0.5cm 處標記
- 2.將玻片標定表面噴濕，靜置5秒以模擬口腔表面環境
- 3.取0.2ml 水凝膠置於標記處，靜置10秒
- 4.將玻片傾斜90度立起，開始計時
- 5.紀錄水凝膠滑落至玻片底部所需時間，若大於300秒則以300秒計
- 6.重複獨立進行以上試驗3次(n = 3, technical replicates)

(八)靜水中膜穩定性測試

- 1.玻片標記後秤重，重量紀錄為 W_0
- 2.取0.6ml 水凝膠於玻片上，置於真空容器中抽真空至20mmhg 靜置15分鐘使其乾燥成膜後秤重，重量紀錄為 W_1
- 2.將玻片於35度水溫水中靜置5、10與15分鐘
- 3.取出玻片並置於真空容器中以20mmhg 的氣壓靜置15分鐘，待水分乾燥後秤重，重量紀錄為 W_2
- 4.計算水凝膠殘留率($\%$)= $W_2 - W_0 / W_1 - W_0$

(九)水流沖刷試驗

- 1.玻片秤重，重量紀錄為 W_0
- 2.取水凝膠0.6ml 塗抹於玻片正中央，置入烘箱中以80°C 烘乾十五分鐘使膠體成膜後秤重，重量紀錄為 W_1
- 2.以滴定管模擬水流沖刷(滴定管流量: 0.88ml/秒，滴定管口置於玻片上方5cm)，分別沖刷150、300、450秒
- 3.置入烘箱以80°C 烘乾十五分鐘後秤重，重量紀錄為 W_2
- 4.計算水凝膠殘留率($\%$)= $W_2 - W_0 / W_1 - W_0$

肆、研究結果

一、多酚含量的比較

以 Gallic acid 標準液反應後所得吸光度-濃度回歸曲線為基準，比較使用水煮與兩種 NADES 萃取所得萃取物之多酚含量所得結果。水萃取所得多酚含量如表1所示，B+G 萃取物之多酚含量如表2所示，B+L 萃取物之多酚含量如表3所示

表1

4倍稀釋下水萃取樣品多酚含量測定吸光值數據與多酚含量回推結果

	水萃取根	水萃取莖	水萃取葉	水萃取花
樣品組(OD)				
Trail 1	0.218 ^a	0.284 ^a	0.286 ^a	0.807 ^a
Trail 2	0.224 ^a	0.212 ^a	0.234 ^a	0.593 ^a
Trail 3	0.224 ^a	0.229 ^a	0.250 ^a	0.600 ^a

空白組(OD)				
Trail 1	0.046 ^a	0.046 ^a	0.045 ^a	0.048 ^a
Trail 2	0.046 ^a	0.046 ^a	0.045 ^a	0.048 ^a
Trail 3	0.046 ^a	0.046 ^a	0.045 ^a	0.048 ^a
空白校正 ^b				
Trail 1	0.172 ^a	0.238 ^a	0.241 ^a	0.759 ^a
Trail 2	0.178 ^a	0.166 ^a	0.189 ^a	0.545 ^a
Trail 3	0.178 ^a	0.183 ^a	0.205 ^a	0.552 ^a
平均	0.176 ^a	0.196 ^a	0.212 ^a	0.619 ^a
多酚含量	35.000 ^c	41.344 ^c	46.505 ^c	177.796 ^c
多酚總量	140.000 ^c	165.376 ^c	186.022 ^c	711.183 ^c

註: OD 表示吸光度

^a單位為吸光度

^bBlank Correction

^c單位為毫克 Gallic acid/毫升樣品

表2

8倍稀釋下 B+G 萃取樣品多酚含量測定吸光值數據與多酚含量回推結果

	B+G 萃取根	B+G 萃取莖	B+G 萃取葉	B+G 萃取花
樣品組(OD)				
Trail 1	0.174 ^a	0.184 ^a	0.184 ^a	0.422 ^a
Trail 2	0.173 ^a	0.185 ^a	0.191 ^a	0.421 ^a
Trail 3	0.179 ^a	0.185 ^a	0.191 ^a	0.421 ^a
空白組(OD)				
Trail 1	0.052 ^a	0.052 ^a	0.046 ^a	0.059 ^a
Trail 2	0.052 ^a	0.052 ^a	0.046 ^a	0.059 ^a
Trail 3	0.052 ^a	0.052 ^a	0.046 ^a	0.059 ^a
空白校正 ^b				
Trail 1	0.122 ^a	0.132 ^a	0.138 ^a	0.759 ^a

Trail 2	0.121 ^a	0.122 ^a	0.145 ^a	0.545 ^a
Trail 3	0.127 ^a	0.133 ^a	0.145 ^a	0.552 ^a
平均	0.123 ^a	0.133 ^a	0.143 ^a	0.362 ^a
多酚含 量	18.011 ^c	21.022 ^c	24.247 ^c	95.108 ^c
多酚總 量	144.086 ^c	168.172 ^c	193.978 ^c	760.860 ^c

註: OD 表示吸光度

^a單位為吸光度

^bBlank Correction

^c單位為毫克 Gallic acid/毫升樣品

表3

8倍稀釋下 B+L 萃取樣品多酚含量測定吸光值數據與多酚含量回推結果

	B+L 萃取根	B+L 萃取莖	B+L 萃取葉	B+L 萃取花
樣品組(OD)				
Trail 1	0.191 ^a	0.206 ^a	0.216 ^a	0.509 ^a
Trail 2	0.195 ^a	0.207 ^a	0.214 ^a	0.500 ^a
Trail 3	0.192 ^a	0.211 ^a	0.209 ^a	0.511 ^a
空白組(OD)				
Trail 1	0.053 ^a	0.053 ^a	0.048 ^a	0.058 ^a
Trail 2	0.053 ^a	0.053 ^a	0.048 ^a	0.058 ^a
Trail 3	0.053 ^a	0.053 ^a	0.048 ^a	0.058 ^a
空白校正 ^b				
Trail 1	0.138 ^a	0.153 ^a	0.168 ^a	0.451 ^a
Trail 2	0.142 ^a	0.154 ^a	0.166 ^a	0.442 ^a
Trail 3	0.139 ^a	0.158 ^a	0.161 ^a	0.453 ^a
平均	0.140 ^a	0.155 ^a	0.165 ^a	0.449 ^a
多酚含量	23.280 ^c	28.226 ^c	31.452 ^c	122.957 ^c
多酚總量	186.236 ^c	255.806 ^c	251.612 ^c	983.656 ^c

註: OD 表示吸光度

^a單位為吸光度

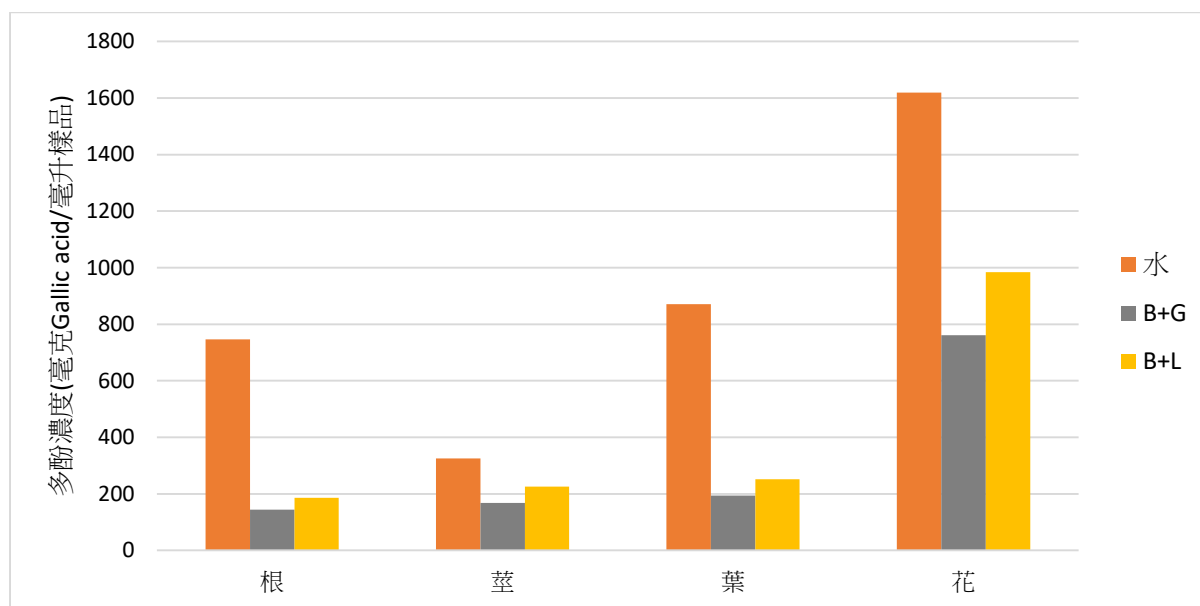
^bBlank Correction

^c單位為毫克 Gallic acid/毫升樣品

將組萃取物多酚總量整理成長條圖如圖3

圖3

各組樣品多酚含量比較圖



(研究者自行繪製)

比較水萃取與 NADES (B+G、 B+L)對蝴蝶蘭各部位(根、莖、葉、花)之多酚萃取效率。

可觀察到:

- 1.水萃取花組別中的多酚含量最高
- 2.多酚整體分佈為花>葉>莖>根
- 3.相較於 B+G，B+L 對多酚的萃取率較高

二、多醣含量的比較

以葡萄糖標準液反應後所得吸光度-濃度回歸曲線為基準，比較使用水煮與兩種 NADES 萃取所得萃取物之多醣含量所得結果。水萃取所得多醣含量如表4所示，B+G 萃取物之多醣含量如表5所示，B+L 萃取物之多醣含量如表6所示

表4

16倍稀釋下水萃取樣品多糖含量測定吸光值數據與多醣含量回推結果

	水煮根	水煮莖	水煮葉	水煮花
樣品組(OD)				
Trail 1	1.564 ^a	0.8703 ^a	1.359 ^a	2.310 ^a
Trail 2	1.527 ^a	0.895 ^a	1.384 ^a	2.481 ^a
Trail 3	1.526 ^a	0.837 ^a	1.308 ^a	2.396 ^a
空白組(OD)				
Trail 1	0.388 ^a	0.333 ^a	0.050 ^a	0.048 ^a
Trail 2	0.388 ^a	0.333 ^a	0.050 ^a	0.048 ^a
Trail 3	0.388 ^a	0.333 ^a	0.050 ^a	0.048 ^a
空白校正 ^b				
Trail 1	1.176 ^a	0.540 ^a	1.309 ^a	2.262 ^a
Trail 2	1.139 ^a	0.562 ^a	1.334 ^a	2.433 ^a
Trail 3	1.138 ^a	0.504 ^a	1.258 ^a	2.348 ^a
平均	1.151 ^a	0.535 ^a	1.300 ^a	2.348 ^a
多糖含量	764.857 ^c	325.095 ^c	871.524 ^c	1619.620 ^c
總多糖回推	12237.710 ^c	5201.524 ^c	13944.380 ^c	25913.900 ^c

註: OD 表示吸光度

^a 單位為吸光度^b Blank Correction^c 單位為毫克葡萄糖/毫升樣品

表5

16倍稀釋下 B+G 萃取樣品多糖含量測定吸光值數據與多醣含量回推結果

	B+G 萃取根	B+G 萃取 莖	B+G 萃取葉	B+G 萃取花	B+G 溶 劑
樣品組(OD)					
Trail 1	0.878 ^a	1.056 ^a	1.933 ^a	1.654 ^a	0.077 ^a
Trail 2	0.933 ^a	1.027 ^a	1.985 ^a	1.719 ^a	0.079 ^a

Trail 3	0.88 ^a	1.051 ^a	1.857 ^a	1.634 ^a	0.079 ^a
空白組(OD)					
Trail 1	0.216 ^a	0.380 ^a	0.430 ^a	0.534 ^a	0.060 ^a
Trail 2	0.216 ^a	0.380 ^a	0.430 ^a	0.534 ^a	0.060 ^a
Trail 3	0.216 ^a	0.380 ^a	0.430 ^a	0.534 ^a	0.060 ^a
空白校正 ^b					
Trail 1	0.662 ^a	0.676 ^a	1.503 ^a	1.120 ^a	0.017 ^a
Trail 2	0.717 ^a	0.647 ^a	1.555 ^a	1.185 ^a	0.019 ^a
Trail 3	0.665 ^a	0.671 ^a	1.427 ^a	1.100 ^a	0.019 ^a
平均	0.681 ^a	0.664 ^a	1.495 ^a	1.1423 ^a	0.018 ^a
多糖 含量	429.381 ^c	417.476 ^c	1010.571 ^c	753.429 ^c	-44.191 ^d
總多 糖回 推	6870.095 ^c	6679.619 ^c	16169.140 ^c	12054.86 ^c	-707.048 ^d
基質 扣除 ^e	6870.095 ^c	6679.619 ^c	16169.140 ^c	12054.86 ^c	-

^a單位為吸光度

^bBlank Correction

^c單位為毫克葡萄糖/毫升樣品

^d多糖含量過低，無法以標準曲線回推

^eMatrix Subtraction

表6

16倍稀釋下 B+L 萃取樣品多糖含量測定吸光值數據與多醣含量回推結果

	B+L 萃取根	B+L 萃取莖	B+L 萃取葉	B+L 萃取花	B+L 溶劑
樣品組(OD)					
Trail 1	1.190 ^a	1.559 ^a	1.187 ^a	3.46 ^a	0.711 ^a
Trail 2	1.305 ^a	1.615 ^a	1.151 ^a	3.345 ^a	0.711 ^a
Trail 3	1.215 ^a	1.572 ^a	1.150 ^a	3.107 ^a	0.679 ^a

空白組(OD)					
Trail 1	0.518 ^a	0.526 ^a	0.805 ^a	0.834 ^a	0.278 ^a
Trail 2	0.518 ^a	0.526 ^a	0.805 ^a	0.834 ^a	0.278 ^a
Trail 3	0.518 ^a	0.526 ^a	0.805 ^a	0.834 ^a	0.278 ^a
空白校正 ^b					
Trail 1	0.672 ^a	1.033 ^a	0.382 ^a	2.626 ^a	0.433 ^a
Trail 2	0.787 ^a	1.089 ^a	0.346 ^a	2.511 ^a	0.433 ^a
Trail 3	0.697 ^a	1.046 ^a	0.345 ^a	2.273 ^a	0.401 ^a
平均	0.719 ^a	1.056 ^a	0.357 ^a	2.470 ^a	0.422 ^a
多糖含 量 ^c	456.048 ^c	697.000 ^c	198.191 ^c	1707.000 ^c	244.381 ^c
總多糖 回推	7296.762 ^c	11152.000 ^c	3171.048 ^c	27312.000 ^c	3910.095 ^c
基質扣 除 ^e	3386.667 ^c	7241.905 ^c	0 ^f	23401.905 ^c	-

註: OD 表示吸光度

^a 單位為吸光度

^b Blank Correction

^c 單位為毫克葡萄糖/毫升樣品

^d 多糖含量過低，無法以標準曲線回推

^e Matrix Subtraction

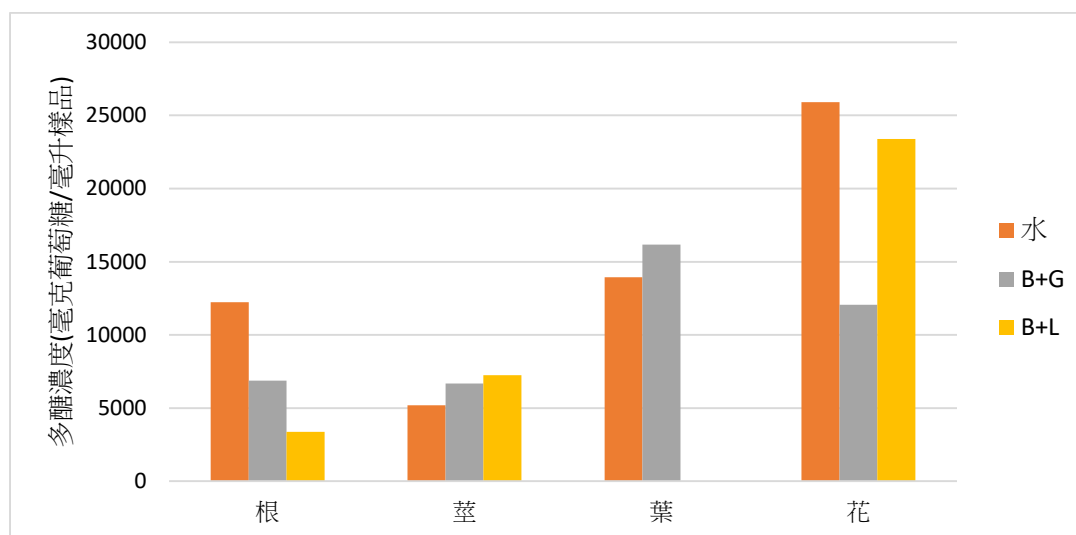
^f 萃取物多糖含量小於溶劑多糖含量，故視為0

註: OD 表示吸光度

各組數據整理成群組長條圖，如圖4

圖4

各樣品多醣含量比較圖



(研究者自行繪製)

比較水萃取與 NADES (B+G、 B+L) 對蝴蝶蘭各部位(根、莖、葉、花)之多醣萃取效率。

可觀察到：

- 1.水萃取：在根、莖、葉、花部分皆有一定多醣含量，惟莖之萃取偏低。
- 2.B+G 萃取：除葉高於水萃取組別時，其餘組別萃取效果皆較水萃取弱。顯示 B+G 相對不利於萃取多醣。
- 3.B+L 萃取：除了莖的萃取效果優於水，其餘部位萃取效果皆比水弱。花的組別相較於 B+G 組有顯著提升，但其餘組沒有顯著效果。
- 4.結果顯示本實驗所使用的兩種 NADES 對蘭花多醣萃取效果較弱。

三、DPPH 抗氧化能力

以維生素 C 之自由基清除力做對照，比較使水萃取與兩種 NADES 萃取所得萃取物之多醣含量所得結果。水萃取與維生素 C 對照組之 DPPH 清除率如表7所示，B+G 萃取物之 DPPH 清除率如表8所示，B+L 萃取物之 DPPH 清除率如表9所示

表7

水煮樣品與維生素 C 對照組自由基清除率

水萃	水萃	水萃	水萃	維生
----	----	----	----	----

	取根	取莖	取葉	取花	素 C
樣品組(OD)					
Trail 1	0.494 ^a	0.413 ^a	0.354 ^a	0.139 ^a	0.072 ^a
Trail 2	0.503 ^a	0.425 ^a	0.368 ^a	0.128 ^a	0.074 ^a
Trail 3	0.495 ^a	0.405 ^a	0.351 ^a	0.129 ^a	0.076 ^a
空白組(OD)					
Trail 1	0.045 ^a	0.050 ^a	0.050 ^a	0.103 ^a	0.042 ^a
Trail 2	0.045 ^a	0.050 ^a	0.050 ^a	0.103 ^a	0.042 ^a
Trail 3	0.045 ^a	0.050 ^a	0.050 ^a	0.103 ^a	0.042 ^a
空白校正 ^b					
Trail 1	0.449 ^a	0.363 ^a	0.304 ^a	0.026 ^a	0.03 ^a
Trail 2	0.458 ^a	0.375 ^a	0.318 ^a	0.025 ^a	0.032 ^a
Trail 3	0.450 ^a	0.355 ^a	0.301 ^a	0.026 ^a	0.034 ^a
自由基清除率(%)					
Trail 1	2.814	21.429	34.199	94.372	93.506
Trail 2	0.876	18.831	31.169	94.589	93.074
Trail 3	2.597	23.160	34.848	94.372	92.641
清除					
率平	2.092	21.140	33.405	94.444	93.073
均(%)					

註: OD 表示吸光度

^a單位為吸光度

^bBlank Correction

表8

B+G 萃取樣品自由基清除率

	B+G 萃 取根	B+G 萃 取莖	B+G 萃 取葉	B+G 萃 取花
樣品組(OD)				
Trail 1	0.188 ^a	0.263	0.129 ^a	0.128 ^a

Trail 2	0.202 ^a	0.260	0.132 ^a	0.137 ^a
Trail 3	0.196 ^a	0.271	0.136 ^a	0.137 ^a
空白組(OD)				
Trail 1	0.141 ^a	0.730	0.076 ^a	0.079 ^a
Trail 2	0.141 ^a	0.730	0.076 ^a	0.079 ^a
Trail 3	0.141 ^a	0.730	0.076 ^a	0.079 ^a
空白校正				
b				
Trail 1	0.047 ^a	0.190	0.053 ^a	0.049 ^a
Trail 2	0.061 ^a	0.187	0.056 ^a	0.058 ^a
Trail 3	0.055 ^a	0.198	0.06 ^a	0.058 ^a
自由基清除率(%)				
Trail 1	89.827	89.827	88.528	89.394
Trail 2	86.797	86.797	87.880	87.446
Trail 3	88.095	88.095	87.013	87.446
清除率平均(%)	88.240	58.51	87.807	88.095

註: OD 表示吸光度

^a 單位為吸光度

^b Blank Correction

表9

B+L 萃取樣品自由基清除率

	B+L 萃 取根	B+L 萃 取莖	B+L 萃 取葉	B+L 萃取 花
樣品組(OD)				
Trail 1	0.212 ^a	0.278 ^a	0.304 ^a	0.119 ^a
Trail 2	0.222 ^a	0.289 ^a	0.299 ^a	0.120 ^a
Trail 3	0.215 ^a	0.289 ^a	0.313 ^a	0.119 ^a
空白組(OD)				

Trail 1	0.142 ^a	0.080 ^a	0.102 ^a	0.110 ^a
Trail 2	0.142 ^a	0.080 ^a	0.102 ^a	0.110 ^a
Trail 3	0.142 ^a	0.080 ^a	0.102 ^a	0.110 ^a
空白校正 ^b				
Trail 1	0.070 ^a	0.198 ^a	0.202 ^a	0.009 ^a
Trail 2	0.080 ^a	0.209 ^a	0.197 ^a	0.010 ^a
Trail 3	0.073 ^a	0.209 ^a	0.211 ^a	0.009 ^a
自由基清除率(%)				
Trail 1	84.85	57.14	56.28	98.05
Trail 2	82.68	54.76	57.36	97.84
Trail 3	84.20	54.76	54.33	98.05
清除率平均(%)	83.91	55.56	55.99	97.98

註: OD 表示吸光度

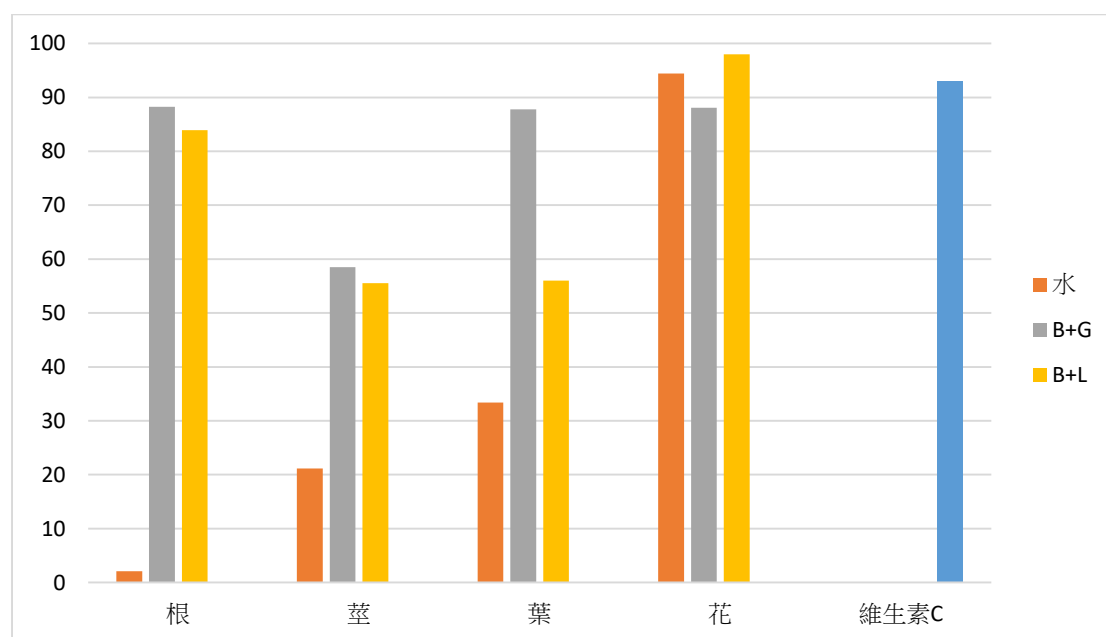
^a單位為吸光度

^bBlank Correction

各組數據整理成群組長條圖，如圖5

圖5

各樣品對自由基清除率之比較圖



(研究者自行繪製)

由圖5可見，各樣品對自由基清除率之比較如下：

- 1.維生素 C(VC)標準品：約有92%左右的高水平。
- 2.水萃取：根部僅有3%左右的自由基清除率，莖、葉提升至20 – 30%，花部萃取物抗氧化能力則與維生素 C 對照組相當。
- 3.B+G 萃取：根、葉及花的自由基清除率皆高於85%，但莖部只有接近60%的自由基清除率。
- 4.B+L 萃取：花部萃取物自由基清除率接近100%，超過對照組維生素 C。但其餘組別自由基清除率皆弱於 B+G。
- 5.在所有組別中，B+L 萃取花有最強的抗氧化效果

四、抑菌圈實驗

將各樣品均依下圖順序滴於紙碟後置於培養基上進行培養

抑菌圈大小如圖6至圖13



圖6

根萃取液對大腸桿菌
(*Escherichia coli*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

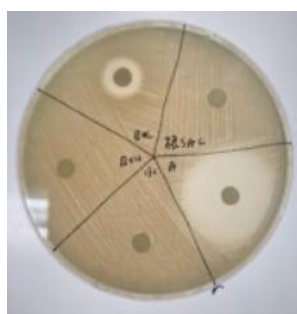


圖7

根萃取液對金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

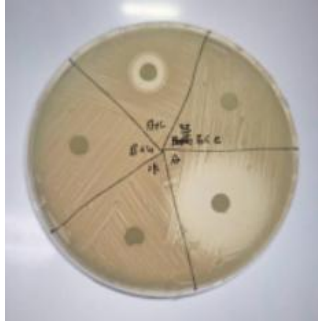


圖8

莖萃取液對大腸桿菌
(*Escherichia coli*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

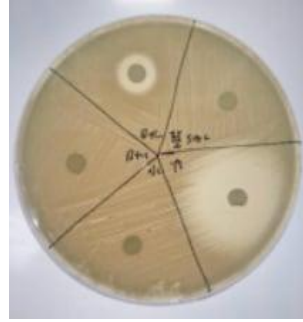


圖9

莖萃取液對金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

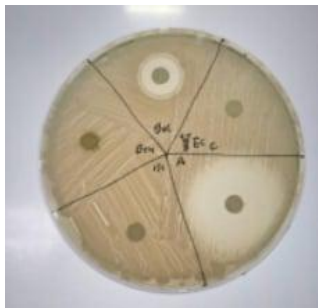


圖10

葉萃取液對大腸桿菌
(*Escherichia coli*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

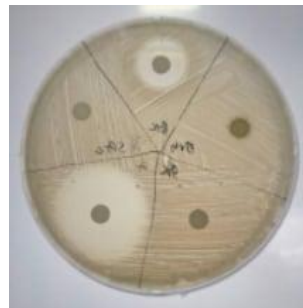


圖11

葉萃取液對金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

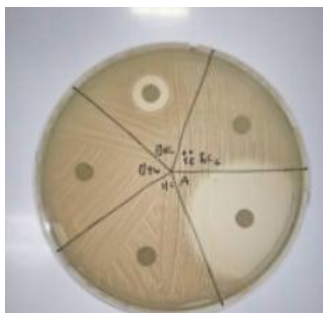


圖12

花萃取液對大腸桿菌
(*Escherichia coli*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

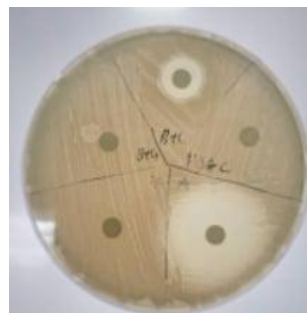


圖13

花萃取液對金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之抑菌效果
(研究者拍攝)

觀察各組抑菌圈大小可以看出：

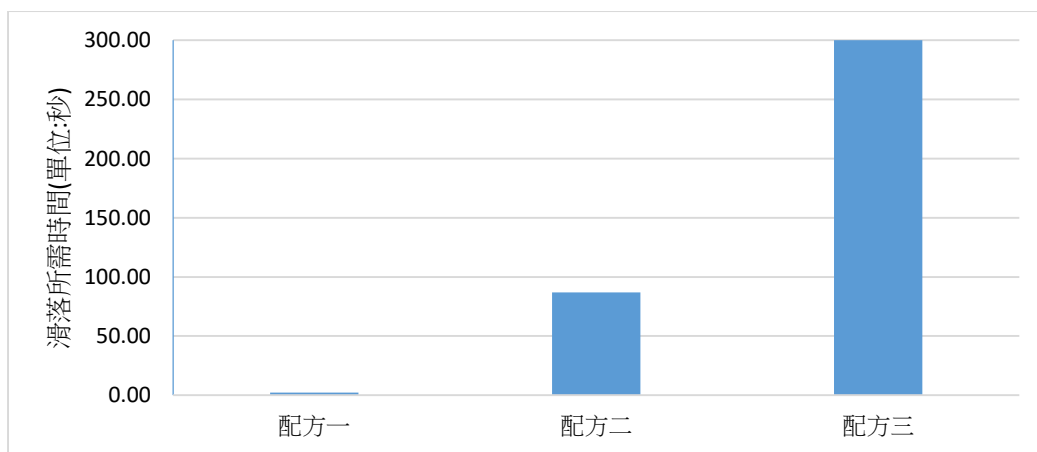
- 1.B+G 萃取花對兩種細菌之抑菌圈可達8 - 10mm
- 2.根、莖、葉部：兩種 NADES 萃取抑菌圈直徑只有2-3mm，相較於水萃取的組別小有提升，但幅度相對花較不顯著。

六、不同配方高分子材料製成凝膠與薄膜之性質

黏附性測試結果數據繪製成長條圖如圖14；靜水中膜穩定性測試結果數據繪製成折線圖如圖15；水流沖刷試驗結果數據繪製成折線圖如圖16

圖14

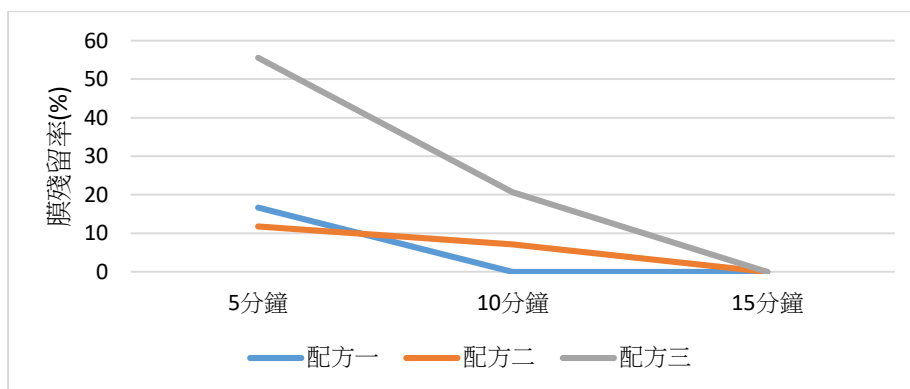
黏附性測試結果長條圖



(研究者自行繪製)

圖15

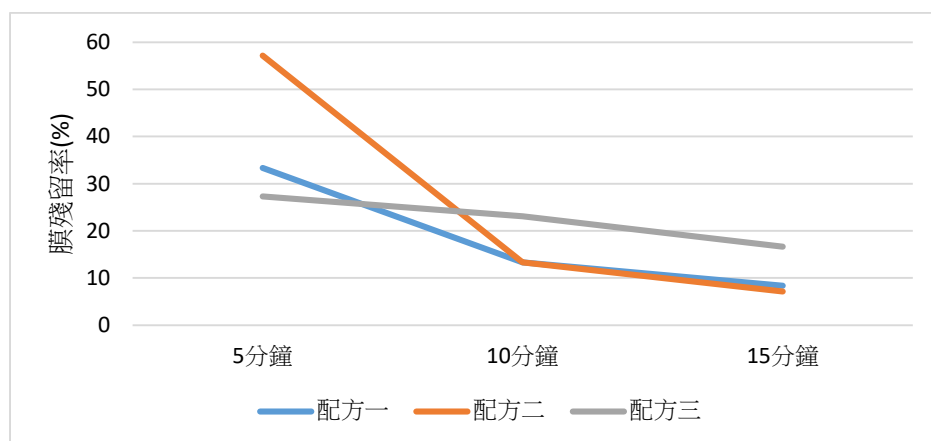
靜水中膜穩定性測試折線圖



(研究者自行繪製)

圖16

水流冲刷試驗結果折線圖



(研究者自行繪製)

觀察各實驗結果可知:

1. 在附著力測試中，與配方三相比配方一、二的附著力明顯不足，可能難以貼合口腔表面並形成薄膜。
2. 在靜水中穩定性測試中，配方三較配方一、二展現較強的防水能力。但無論何種配方形成之薄膜皆無法在水中留存超過十五分鐘，顯示薄膜防水性仍待改善。
3. 在水流冲刷試驗中，配方一、二的殘留率雖一開始大於配方三，但經過十分鐘後殘留率大幅下降，反觀配方三的殘留率下降幅度並不大。

伍、討論

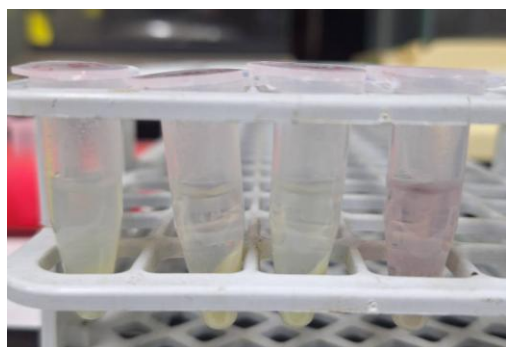
一、多酚含量的比較

在多酚含量的比較實驗中，我們發現除了 B+L 萃取花的組別以外其餘組別多酚含量皆低於水萃取或相較於水萃取沒有顯著優勢，但基於 NADES 的特性，其對於多酚的萃取率理應較水萃取高。我們認為此一現象有二個可能原因: 溶劑極性與蘭花中酚類不合或溶劑黏度過高影響萃取。蘭花中的多酚 (鞣花酸、花青素、槲皮素) 多具有多個酚羥基極性較高，而本實驗採用的 NADES 可能由於極性較低而不易與之互溶。實驗結果顯示性較差的 B+G 相對於 B+L 對多酚的萃取率更差可以間接證明此一論點。另外在實驗的過程中，我們發現與 B+L 相比，B+G 萃取物明顯較為濃稠，甚至在部分稀釋倍率下出現沉澱(見圖17)。此一性質可能阻礙萃取過程中有效成分的擴散，或造成質量傳輸

限制(mass transfer limitation)，進而降低萃取效率。多數 B+G 組別萃取效果皆不如 B+L 可為此一論點作證。

圖17

B+G 萃取物與 F-C 試劑發生沉澱



(研究者拍攝)

二、多醣含量的比較

本實驗使用之 B+G 能有效萃取花中所含多醣。此結果與參考文獻中提及以植物鹼與有機酸配製之深共熔溶劑可與蘭花花瓣細胞壁或胞內結構產生氫鍵作用，進而提升多醣釋出量(Zhao & Liu, 2022)吻合。我們進而推測由於花部位富含黏液質、多醣與色素等活性成分，在 B+L 條件下的多醣萃取量特別高。其餘使用 NADES 之組別對於蘭花多醣的萃取效果皆不如預期。經過討論後，我們認為除了與多酚萃取類似的原因外，還可能導因於不同植物部位細胞壁組成差異，使本實驗使用之兩種 NADES 均無法有效破壞除花部以外的植物細胞細胞壁，而無法有效萃取其餘部位之多醣。

四、DPPH 抗氧化能力

由維他命 C 對照組和各萃取物的自由基清除率比較推論，NADES 不僅提升多醣萃取量，亦伴隨萃取更多酚類等抗氧化物質。其中以水煮根的 DPPH 清除率最低，可能原因為水煮無法有效萃取，或水煮過程中因高溫使抗氧化物遭到破壞以至於最終萃取物無顯著抗氧化能力。而花部樣品普遍有最高 DPPH 清除率，說明花瓣中可能蘊含較多的酚酸或花青素衍生物，可藉由 B+L 配方獲得最大化的萃取效果。同時基於各組別之 DPPH 清除率與該組之多醣，多酚萃取結果比較與文獻查找(Zhang et al., 2023)，我們推論本實驗所得蘭花萃取物中，除了多酚、多醣以外仍有其餘具自由基清除能力之物質，

且這些抗氧化物能被 NADES 有效萃取，進而大幅提升 NADES 萃取物組別之抗氧化能力。

五、抑菌圈實驗

B+L 花萃取含較高含量多醣抗菌成分之現象與前述關於多醣及 DPPH 的討論結果相呼應，顯示蝴蝶蘭花部在特定 NADES 的協助下，可萃取到足以影響菌株生長的活性物質。而根據文獻資料，蘭花中抑菌物質可能包含部分多醣、酚酸或萜類化合物(Yu et al., 2020)。

六、不同配方高分子材料製成凝膠之性質

在凝膠黏附性測試中，我們觀察到 HPMC 的濃度愈高凝膠愈濃稠，且對於潮濕表面的附著力愈高，而純 PVP 製成的凝膠則難以附著。而在靜水中膜穩定性測試中，HPMC 愈高的組別在泡水後的殘留度也愈高，但三種配方皆無法在水中留存超過十五分鐘。這顯示了只由 PVP 與 HPMC 兩種相對親水材料組成的水凝膠防水能力不足，無法直接作為口內膠的配方。也許之後可透過添加其他疏水性高的高分子材料(如 Eudragit RS/RL、乙基纖維素等)來加強薄膜的防水能力。在水流沖刷試驗中，HPMC 較高的組別亦展現了對水流沖刷較高的耐性，顯示 HPMC 有助於增強膜的整體強度與附著力使其免於被水流侵蝕。但在實驗過程中我們也發現增加 HPMC 的比例雖能增加膜的附著力與結構強度，但也會大幅降低凝膠的流動性、增加成膜所需時間且易有較多氣泡。在水流沖刷試驗中含有較高比例 HPMC 的配方三最初殘留率較另兩配方低的原因可能是由於部分氣泡未能在成膜時逸出，導致上層薄膜含有氣泡而結構較弱。總而言之，只由 PVP 與 HPMC 構成的水凝膠雖具備部分成為口內膠所需的特性，但仍需其他高分子材料的參與才能做出具備完整功能性的口內膠。

圖18(研究者拍攝)

三種水凝膠配方樣品，由左至右依序為:配方一，配方二，配方三



陸、結論與應用

本研究利用 NADES(B+G、B+L)萃取廢棄蝴蝶蘭不同部位(根、莖、葉、花)，並與傳統水萃取對照比較各活性成分萃取效果，結果顯示：

1. 兩種 NADES 對於蘭花中多酚與多醣的萃取表現皆不如預期，多數組別相較傳統水萃取並無顯著提升，顯示溶劑配方仍不小有改進空間。多數 NADES 萃取物擁有較強的抗菌與抗氧化能力，表明 NADES 能有效萃取蘭花中其餘活性成分，顯示 NADES 對於蝴蝶蘭的廣譜萃取能力，與在一鍋萃取法(One-pot extraction)的應用潛力。
2. 以 B+L 萃取花時，多醣含量與抗氧化能力表現最為優異，並在抑菌圈實驗中展現明顯抑菌效果。故 B+L 萃取花為本實驗所得最適合製作口內膠之組別。
3. PVP 與 HPMC 可與 B+L 花萃取物均勻混合樣品並形成水凝膠，其中以 PVP:HPMC 比例為7:3的配方三形成之薄膜附著力較強且較為穩定。但薄膜防水性仍然不足，若能與其它疏水性較高的高分子材料結合，有望開發出具完整功能的口內膠。

綜上所言，本研究驗證了廢棄蝴蝶蘭花部位蘊含豐富多醣與具抗氧化、抗菌潛力之活性物質；若能藉由特定 NADES 進行綠色萃取並搭配高分子材料製成凝膠，將有助於蝴蝶蘭資源永續利用發展。後續可進一步改善溶劑與凝膠配方，並進行長時間接觸下的毒理及生物體內安定性研究，以期推展至實際臨床或商業應用。

柒、參考文獻資料

一、參考文獻

1. Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C. E., ... & Witkamp, G.-J. (2011). Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*, 156(4), 1701 – 1705.
<https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>
2. Manners, A., Stojanovic, A., & Stamenkovic, O. S. (2021). Natural deep eutectic solvents as green extraction media for biocompounds: A review. *Sustainable Chemistry*, 2(3), 423 – 439.
<https://doi.org/10.3390/suschem2030025>

3. Wang, Y., Zhou, R., & Cheng, X. (2019). Recent advances in HPMC-based oral gel applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 321 – 329.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.125336>
4. Yu, C. M., Chen, Y. F., & Huang, C. C. (2020). Orchid-derived polysaccharides and their bioactivities: A review of extraction, structure, and function. *Phytochemistry Reviews*, 19, 997 – 1012. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09686-3>
5. Zhang, X., Wang, J., & Li, Q. (2023). A novel approach to polysaccharide extraction from orchid waste using natural deep eutectic solvents. *Journal of Green Extraction*, 15(2), 112 – 120. <https://doi.org/10.1016/j.jge.2023.02.010>
6. Zhao, L., & Liu, T. (2022). Enhancement of antioxidant activity of herbal extracts using NADES: A green chemistry perspective. *Food Chemistry*, 368, 130699.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130699>
7. Minh, T. N., Khang, D. T., Tuyen, P. T., Minh, L. T., Anh, L. H., Quan, N. V., Ha, P. T. T., Quan, N. T., Toan, N. P., Elzaawely, A. A., & Xuan, T. D. (2016). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Phalaenopsis* orchid hybrids. *Antioxidants*, 5(3), 31.
<https://doi.org/10.3390/antiox5030031>
8. Sanja, M., Anica, B. M., Nemanja, T., Aleksandra, M., Milica, P., Irena, B. K., Karlo, J., Dario, L., Predrag, P., Danijela, B. K., & Branimir, P. (2024). Use of natural deep eutectic solvent (NADES) as a green extraction of antioxidant polyphenols from strawberry tree fruit (*Arbutus unedo* L.): An optimization study. *Microchemical Journal*, 200, 110284.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110284>
9. Hang, Q., Yi, W., Zisheng, L., Qingying, D., Hailong, Y., & Chenyi, D. (2023). An efficient approach for extraction of polysaccharide from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera by natural deep eutectic solvent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 244, 125336. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125336>
10. Yuying, G., Min, F., Xiaoxiao, C., Xiaofang, L., Hui, Y., Wenya, M., Min, G., & Li, L. (2024). Deep eutectic solvent: Synthesis, classification, properties, and application in macromolecular substances. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278(2), 134593.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134593>

11. Santana, A. P. R., Mora-Vargas, J. A., Guimarães, T. G. S., Amaral, C. D. B., Oliveira, A., & Gonzalez, M. H. (2019). Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods. *Journal of Molecular Liquids*, 293(1), 111452.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111452>
12. Martins, G. R., Monteiro, A. F., do Amaral, F. R. L., & da Silva, A. S. (2021). A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich *Euterpe oleracea* Mart. seeds extract. *Journal of Food Science and Technology*, 58(12), 4693 – 4702.
<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04959-5>
13. Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S., & Yuan, C. L. (2006). Carbohydrate analysis by a phenol – sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339(1), 69 – 72. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
14. Fernando, S., Francisco, V., Catarina, C., Francisca, D., Fátima, C., Rui, M., & Ana, C. P. (2024). A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations. *Microchemical Journal*, 202, 110801.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801>
15. Alba, R., Belén, V., Natividad, B., Fernando, D., Felipe, F., Javier, F., Jesús, G., Antonio, L., Miguel, Á. M., María, N. L., Antonio, O., & Ferran, N. (2023). Recommendations of the Spanish Antibigram Committee (COESANT) for *in vitro* susceptibility testing of antimicrobial agents by disk diffusion. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (English Ed.)*, 41(9), 571 – 576. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2023.07.012>
16. Kumbar, S. K., Laurencin, C. T., & Deng, M. (2014). *Natural and synthetic biomedical polymers* (Vol. 1). Elsevier Science.
17. Buchsel, P. C. (2007). Polyvinylpyrrolidone-sodium hyaluronate gel (Gelclair): A bioadherent oral gel for the treatment of oral mucositis and other painful oral lesions. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 4(11), 1449 – 1455. <https://doi.org/10.1517/17425255.4.11.1449>

二、圖片來源

1. National Center for Biotechnology Information (2025). *PubChem Compound Summary for Povidone*. Retrieved March 3, 2025 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Povidone>.

【評語】 052413

本研究透過綠色萃取技術於廢棄蝴蝶蘭之不同部位，萃取出多醣含量、多酚含量、抗氧化能力與抗菌能力，並應用於開發兼具環保與口腔護理潛力之天然凝膠產品。實驗結果顯示，天然深共熔溶劑 NADES，對蝴蝶蘭花部位多醣與多酚之萃取效率最佳，同時，顯現較高抗氧化能力與抑菌效力，可與特定配方高分子材料製成有效凝膠。研究成果具植物資源再利用與環境保護價值。幾點意見提供參考：

1. 選擇 HPMC 和 PVP 作為高分子基材料的原因是什麼？這些材料在口內膠中的具體功能和作用是什麼？
2. 如何評估所製成的口內膠的環保性和安全性？
3. 水凝膠之防水性能外，NADES 萃取物添加量之水凝膠抗菌表現亦可一同加入討論。

作品海報

廢棄蘭花結合高分子材料製備口內膠研究

摘要

本研究針對嘉義地區廢棄蝴蝶蘭(Phalaenopsis)資源，嘗試以天然深共熔溶劑(Natural Deep Eutectic Solvent,NADES)在加熱煮沸條件下萃取蝴蝶蘭不同部位(根、莖、葉、花)之多醣及相關活性成分，並與傳統水萃取和酒精萃取做對照。於萃取液中評估多醣、多酚含量與DPPH自由基清除能力，另透過抑菌圈實驗檢測其抗菌潛力。萃取後之產物進一步結合高分子基材料HPMC(Hydroxypropyl Methylcellulose)與 PVP(Polyvinylpyrrolidone)，製備成口內凝膠配方。實驗結果顯示，**部分NADES配方(如betaine+glycerol、betaine+lactic acid)對蝴蝶蘭花部位之多醣萃取效率特別顯著，亦展現較高之抗氧化能力與抑菌效力**；藉由高分子材料之配方優化，最終可望開發出兼具環保、功能性與口腔護理應用潛力的天然凝膠產品。

壹、研究動機

植物資源的多元應用與永續利用，一直是綠色科技領域的重要議題。臺灣的蝴蝶蘭（Phalaenopsis）在國際間以花色多變、花形優美享有盛名，因此臺灣也獲得「蘭花王國」的美名。但 是我們曾經在放學途中路過巷口花店時，看見了店內堆積許多被淘汰的蝴蝶蘭和於修剪過程中廢棄的蘭花部位。查找資料後我們得知如今多數的廢棄蝴蝶蘭都是被直接掩埋或焚燒處置，少有永續利用的方法。因此我們決定研究如何減少蘭花的浪費。查詢資料後我們得知蘭科植物富含多醣，且含有具抗氧化、抑菌潛力的活性物質。與老師討論後我們希望透過綠色化學技術萃取廢棄蘭花中的有效成分，並進一步製成凝膠敷料，希望能為廢棄蘭花資源找到新的高價值再利用方式。

貳、背景資料

一、實驗原理

1.天然深共熔溶劑(Natural Deep Eutectic Solvent,NADES)

- 多種天然分子依特定比例組成低共熔混和物
- 含之氫鍵受體與氫鍵供體(萃取極性成分時展現高效率的優勢)
- 本實驗利用兩NADES:betaine混合glycerol(以下簡稱B+G)與betaine混合lactic acid(以下簡稱B+L)

2.Folin–Ciocalteu (F–C)測多酚含量

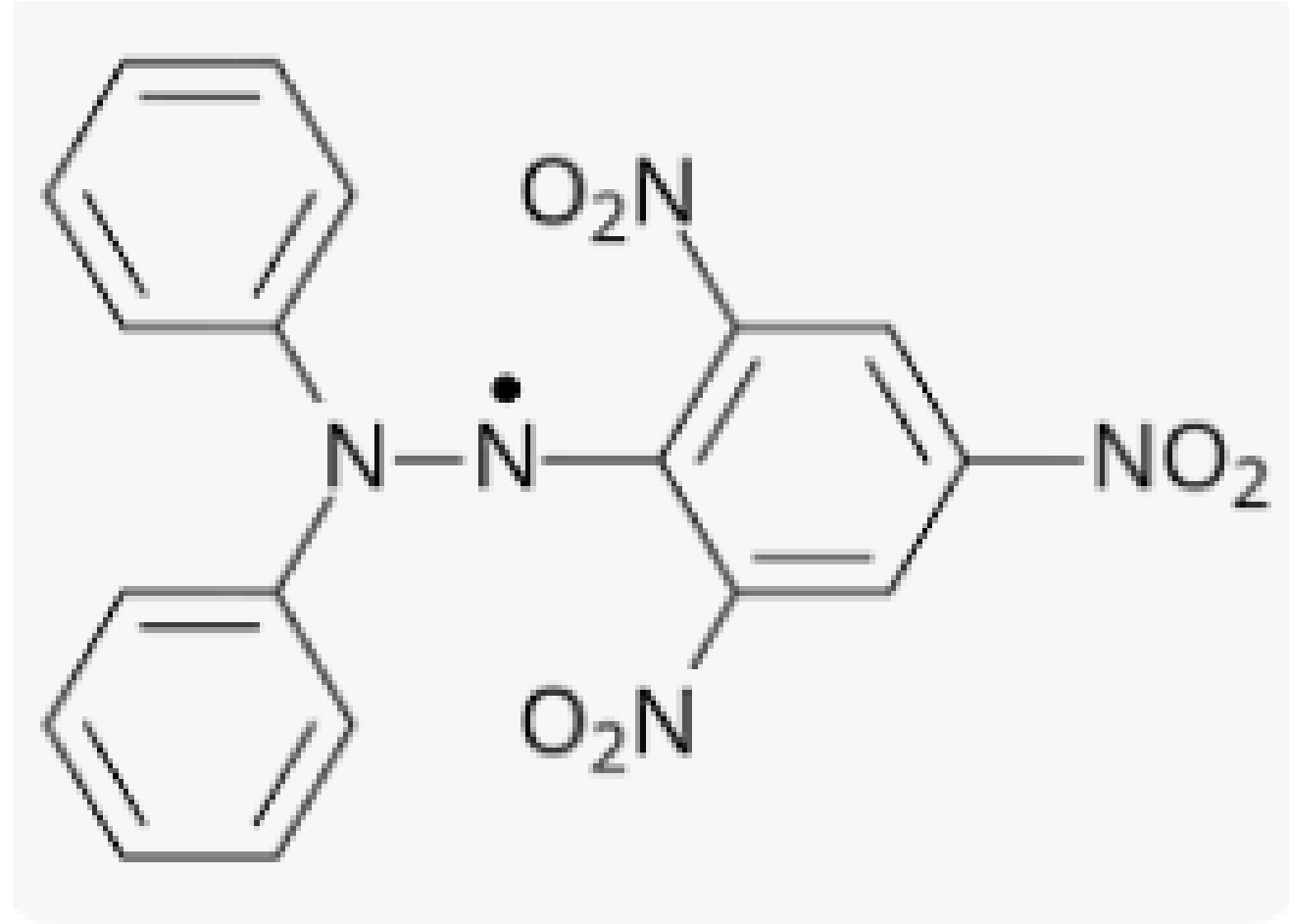
- 與酚類化合物反應會產生**藍色化合物**
- 以Gallic acid當作標準品

3.Phenol-Sulfuric Acid 法測定多糖含量

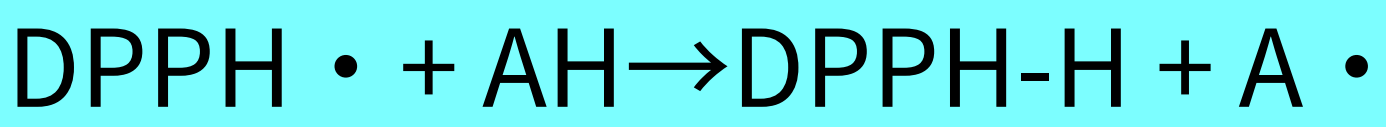
- 高溫濃硫酸會使醣類脫水產生呋喃衍生物，與苯酚反應後形成有橘色化合物
- 以葡萄糖溶液作為標準品

4.以DPPH測量樣品抗氧化能力

- DPPH具有一個不成對電子，是呈深紫色的穩定自由基
- 抗氧化劑（AH）能提供氫離子，使DPPH得以被清除
- 顏色由**藍紫→淡黃色**
- 吸光值越低表示效果越好



▲ DPPH結構圖

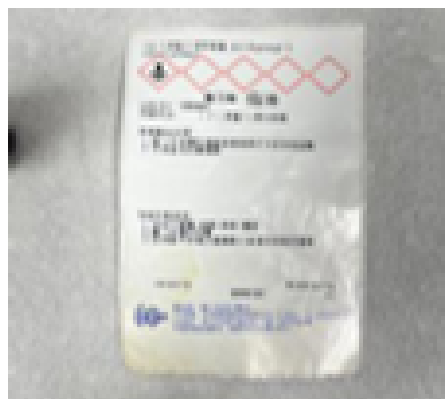

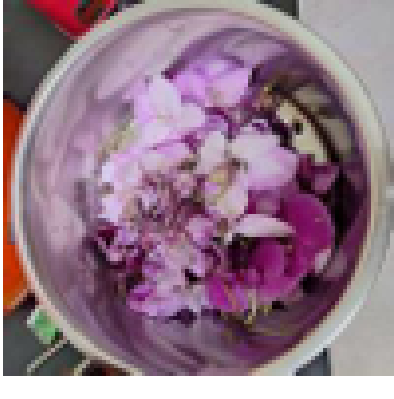

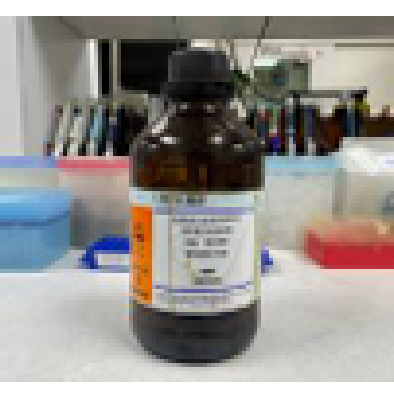
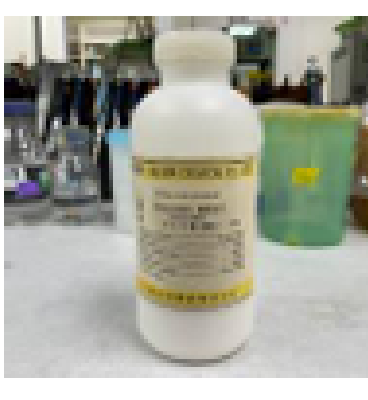
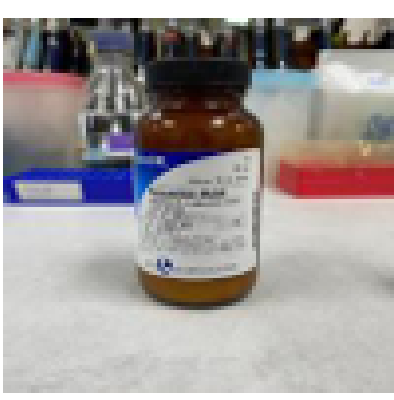


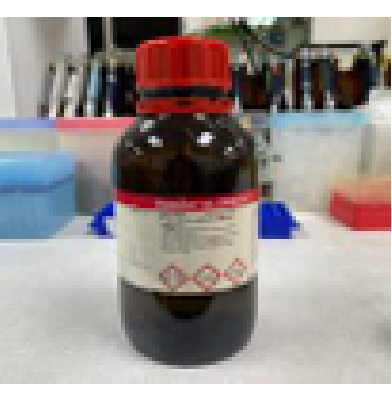

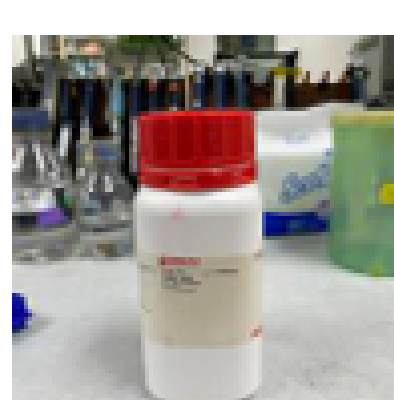


▲ 抗氧化劑與DPPH反應式

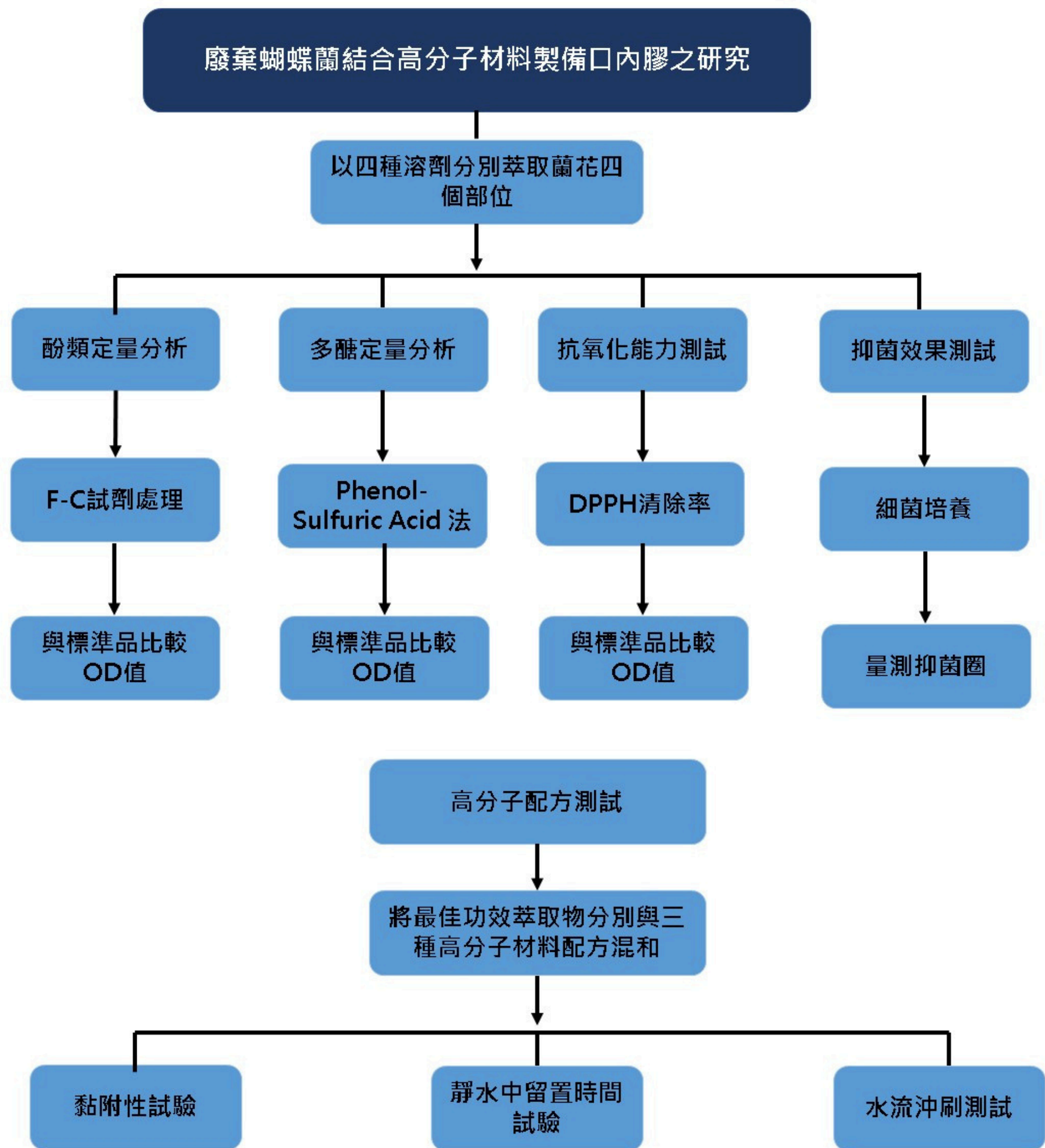
參、研究目的

- (一) 比較各種方法萃取蝴蝶蘭所得的有效分量，實現以綠色技術高效萃取廢棄蝴蝶蘭中有效成分
- (二) 評估蝴蝶蘭多醣之口腔保健潛力，包含保護黏膜、抗菌、抗氧化能力等
- (三) 比較不同配方之高分子材料與NADES萃取物形成之凝膠性質，藉此找出最適合做為凝膠敷料的配方。評估內容包括凝膠黏附性、薄膜在靜水中維持時間、以及在水流沖刷下的穩定性。

肆、實驗材料

2,2-二苯基-1-苦肼基  (研究者拍攝)	二次水  (研究者拍攝)	廢棄蝴蝶蘭  (研究者拍攝)	酒精(75%)  (研究者拍攝)
濃硫酸  (研究者拍攝)	葡萄糖  (研究者拍攝)	維他命 C  (研究者拍攝)	酚水  (研究者拍攝)
二次水  (研究者拍攝)	Folin-Ciocalteu 試劑  (研究者拍攝)	葡萄糖  (研究者拍攝)	沒食子酸  (研究者拍攝)

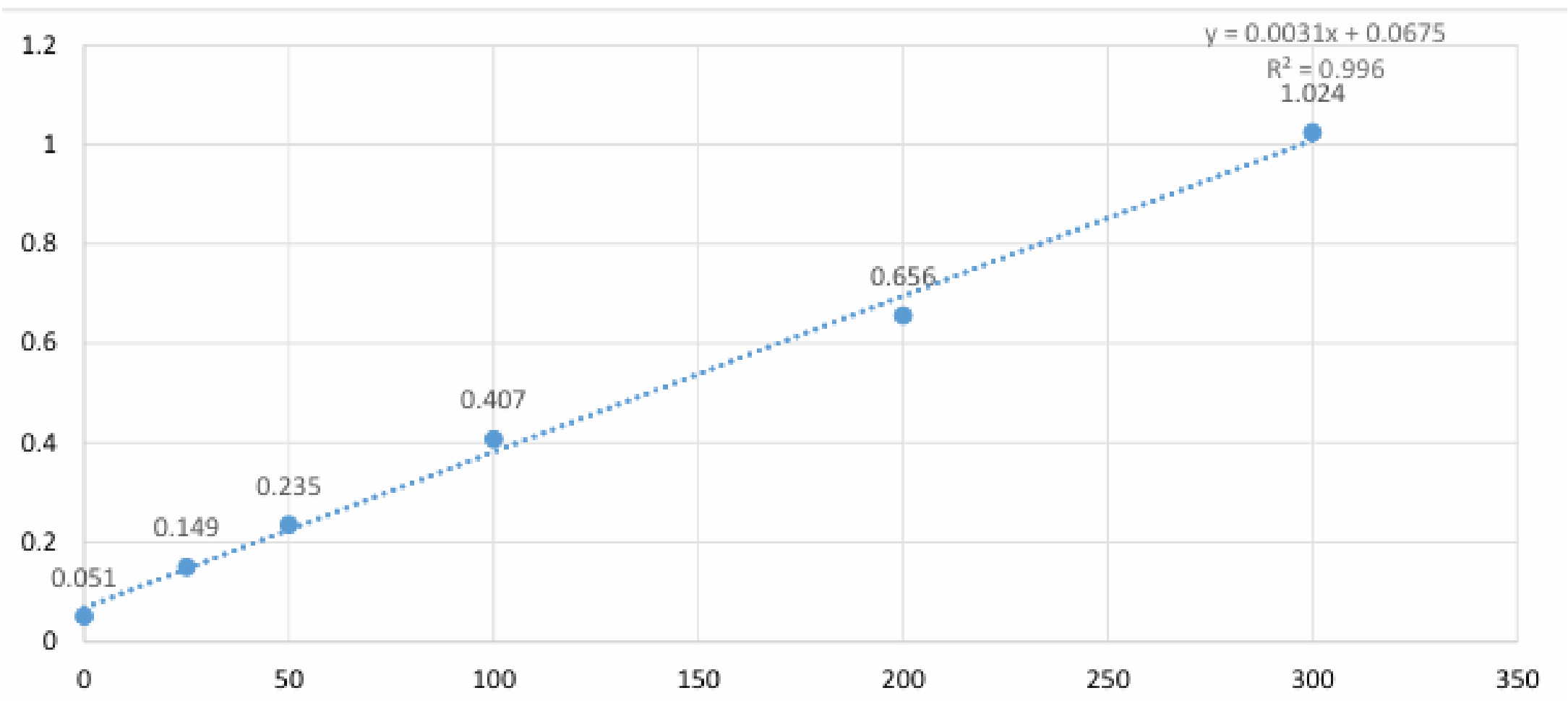
伍、實驗架構



陸、研究結果

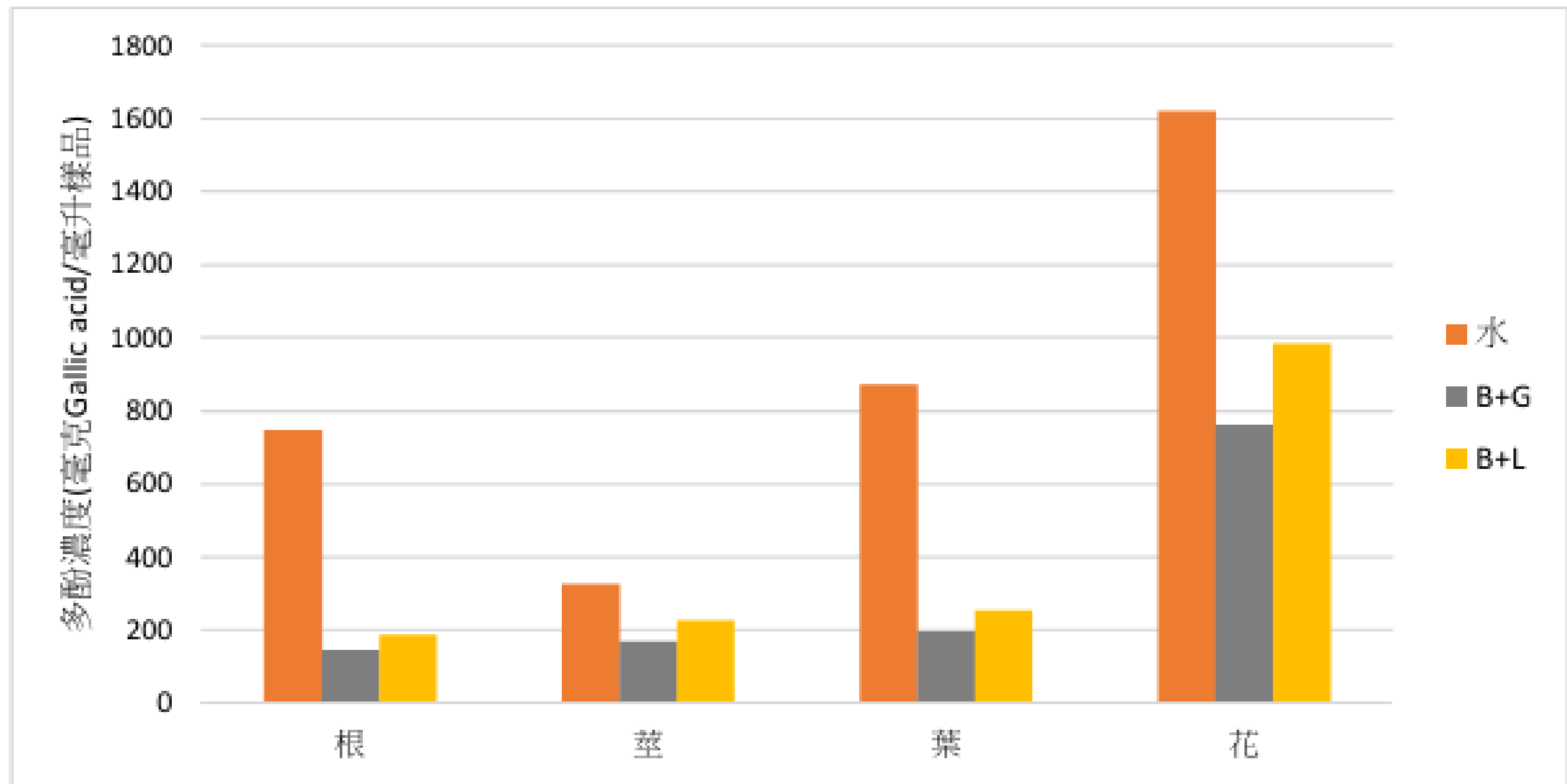
一、多酚含量比較

(一)以Gallic acid 標準液建立吸光度-多酚濃度曲線



▲ 以Gallic acid 標準液所得的吸光度-多酚濃度曲線

(二)多酚含量的測定

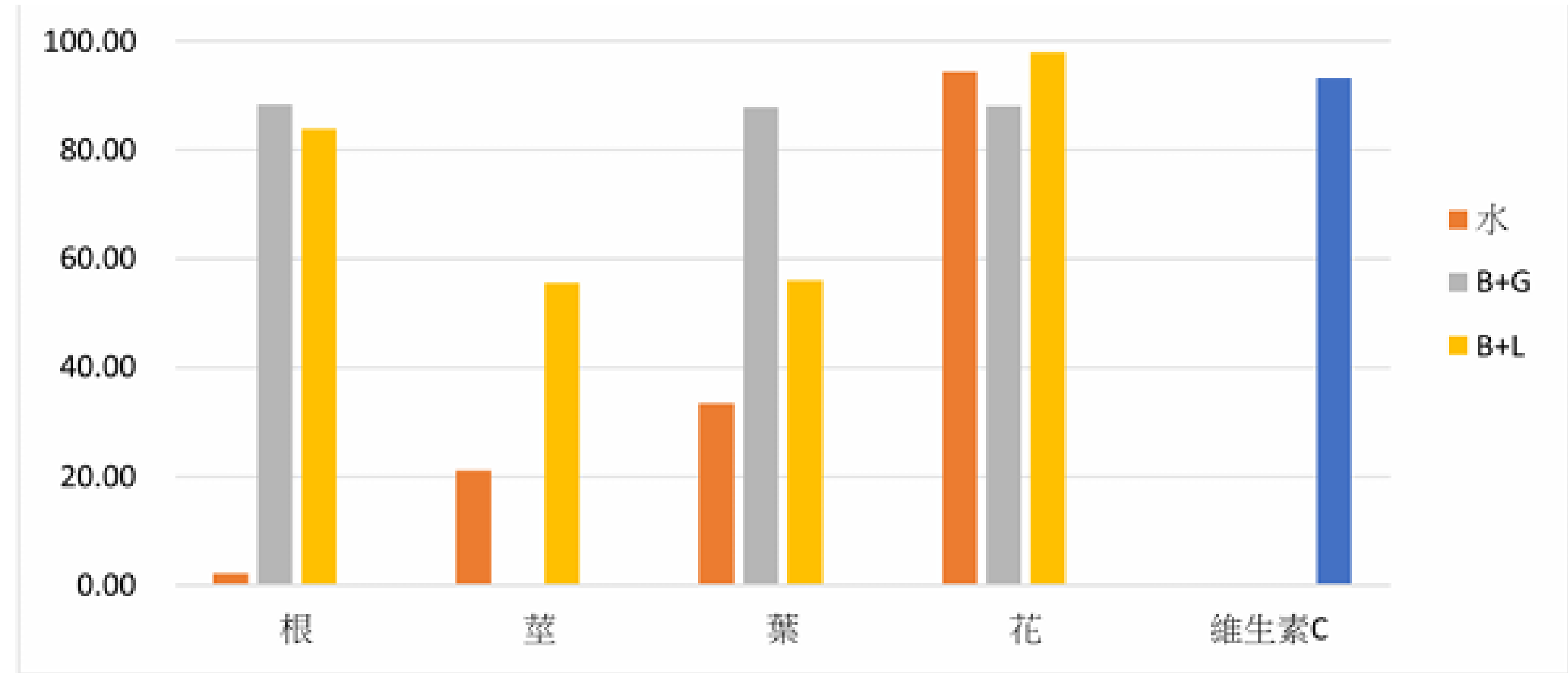


1. 水萃取花組別中的多酚含量最高
2. 多酚整體分佈為花>葉>莖>根
3. 相較於B+G，B+L對多酚的萃取率較高

三、DPPH抗氧化能力

圖7

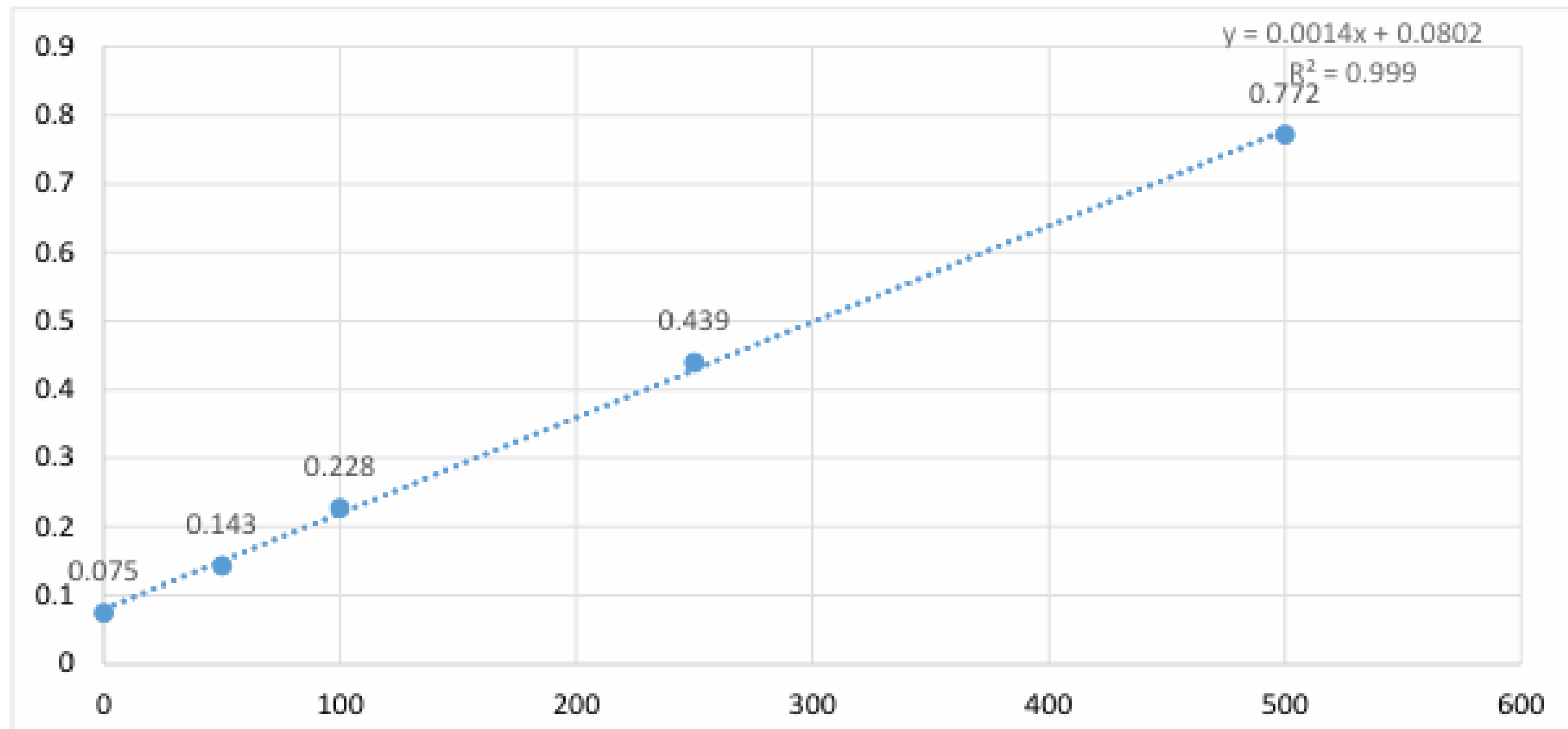
各樣品對自由基清除率之比較圖



1. 維生素C(VC)標準品：約有92%左右的高水平。
2. 水萃取：根部僅有3%左右的自由基清除率，莖、葉提升至20–30%，花部萃取物抗氧化能力則與維生素C對照組相當
3. B+G 萃取：根、葉及花的自由基清除率皆高於85%，但莖部只有接近60%的自由基清除率
4. B+L 萃取：花部萃取物自由基清除率接近100%，超過對照組維生素C。但其餘組別自由基清除率皆弱於B+G
5. 在所有組別中，B+L萃取花有最強的抗氧化效果

四、抑菌圈實驗

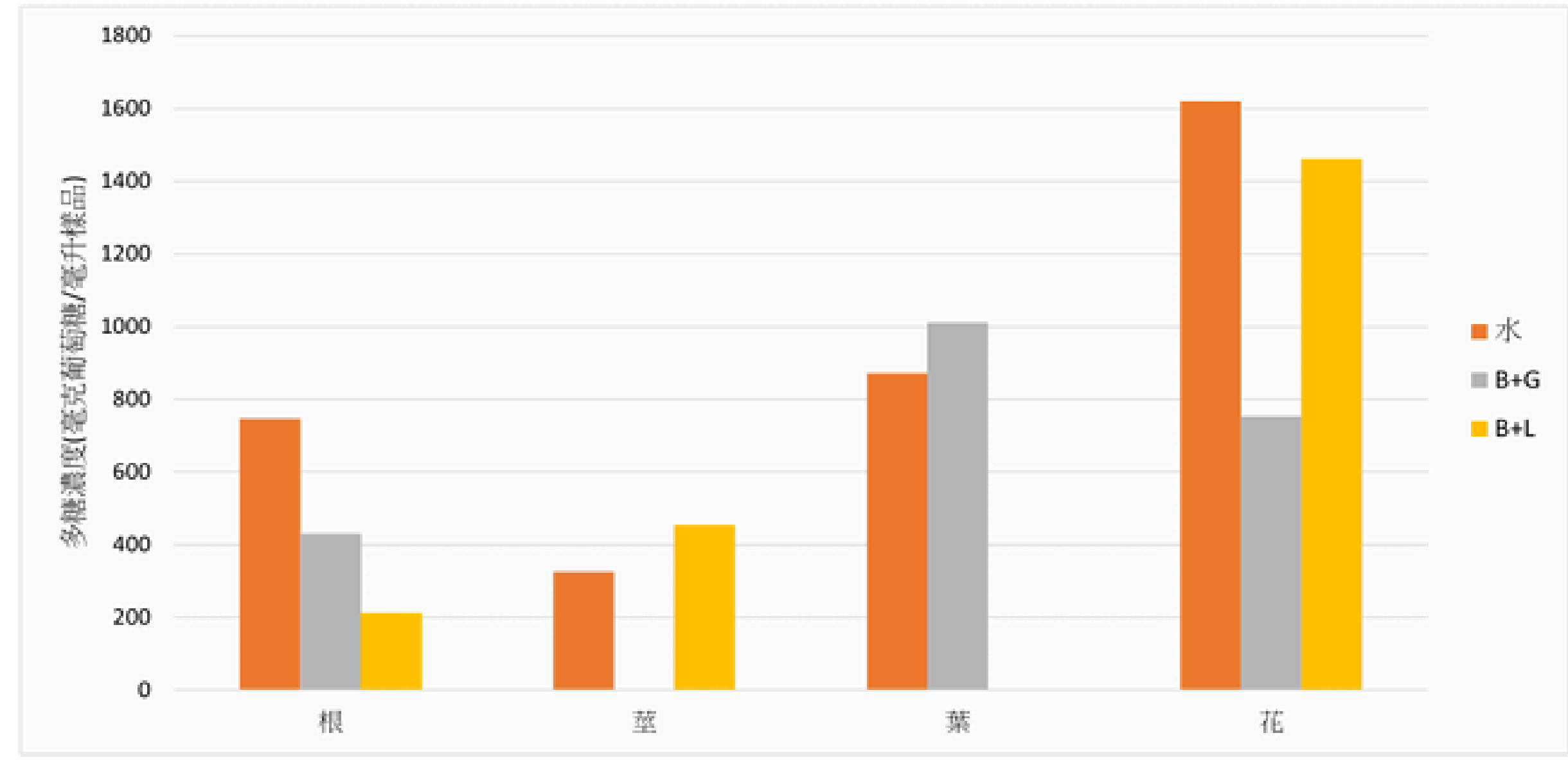
(一)建立多醣標準線



▲ 以葡萄糖標準液所得的吸光度-多醣濃度曲線

圖6

各樣品多醣含量比較圖



1. 水萃取：在根、莖、葉、花部分皆有一定多醣含量，惟莖之萃取偏低
2. B+G 萃取：除葉高於水萃取組別時，其餘組別萃取效果皆較水萃取弱。顯示 B+G 相對不利於萃取多醣。
3. B+L 萃取：除了莖的萃取效果優於水，其餘部位萃取效果皆比水弱。花的組別相較於B+G組有顯著提升，但其餘組沒有顯著效果
4. 結果顯示本實驗所使用的兩種NADES對蘭花多醣萃取效果較弱

	大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i>)	金黃葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)
根		
莖		
葉		
花		

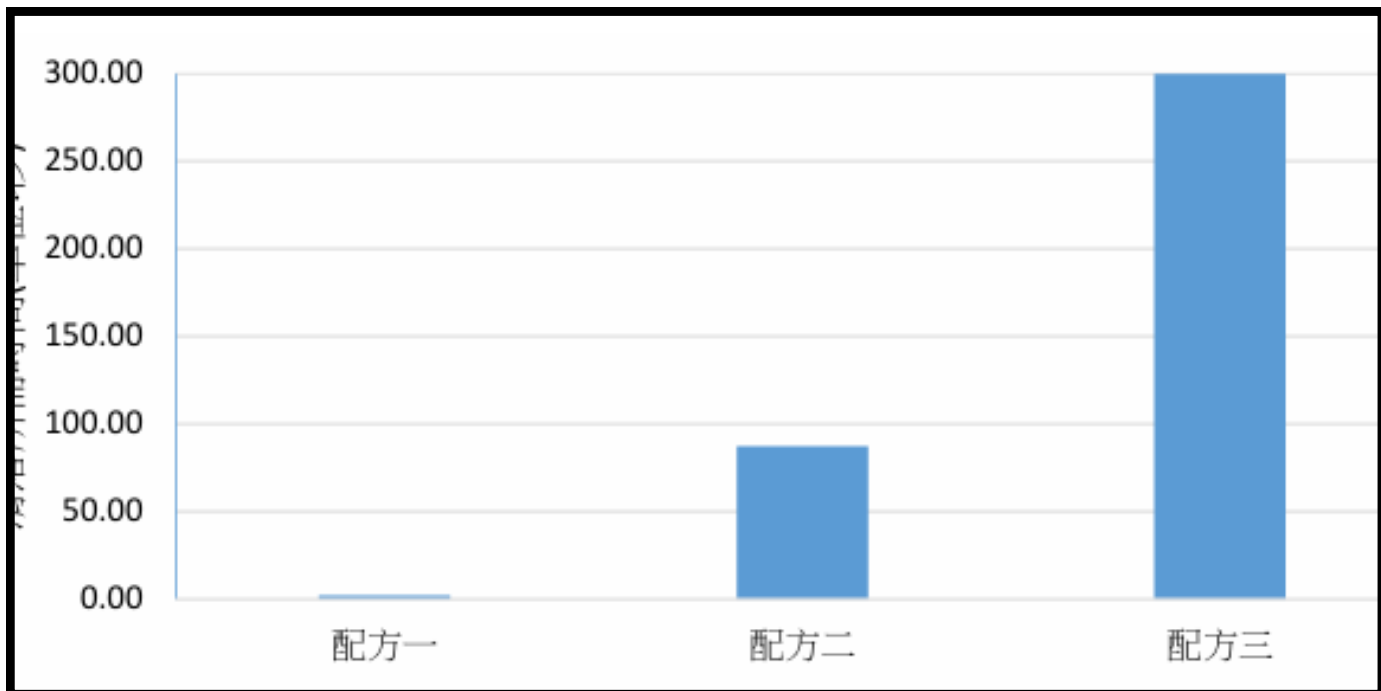
觀察各組抑菌圈大小可以看出：

1. B+G 萃取花對兩種細菌之抑菌圈可達8–10mm
2. 根、莖、葉部：兩種NADES萃取抑菌圈直徑只有2-3mm，相較於水萃取的組別小有提升，但幅度相對花較不顯著。

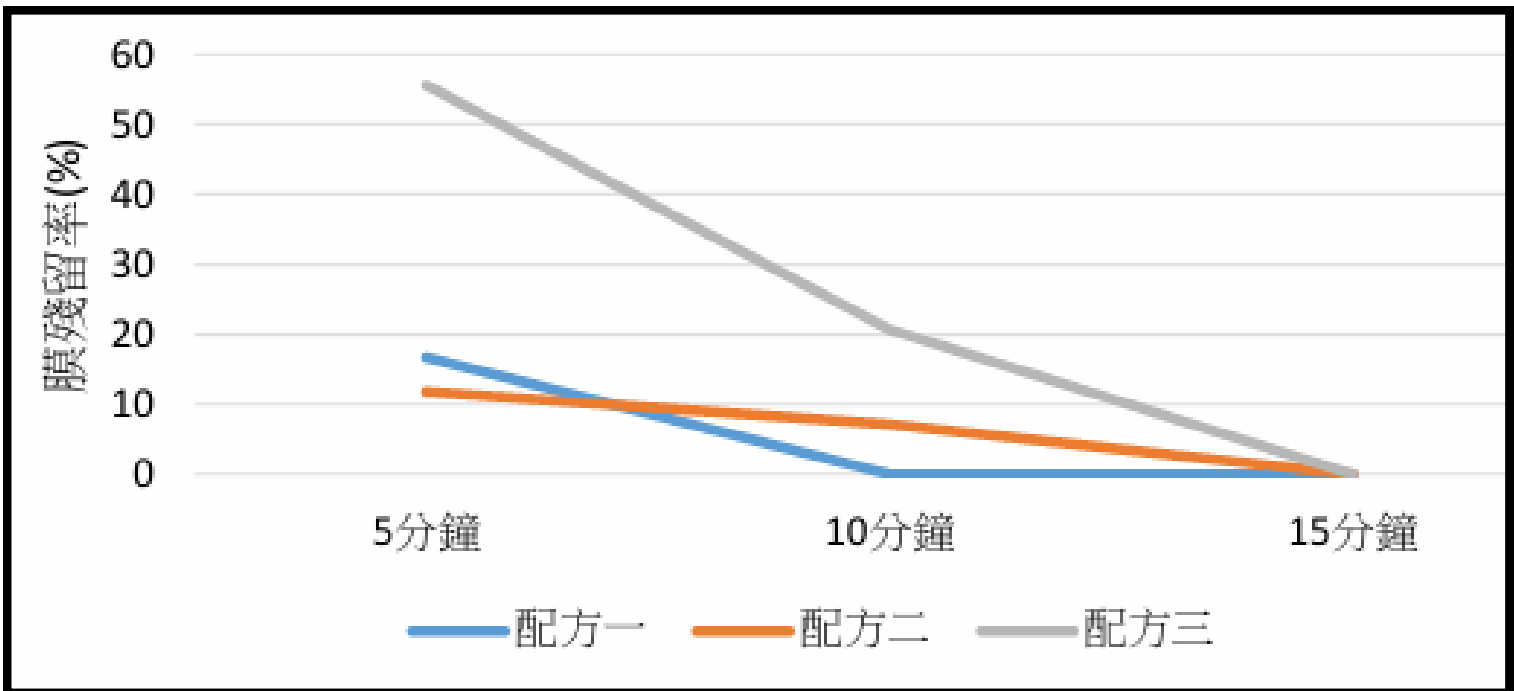


▲ 紙碟樣品滴加順序

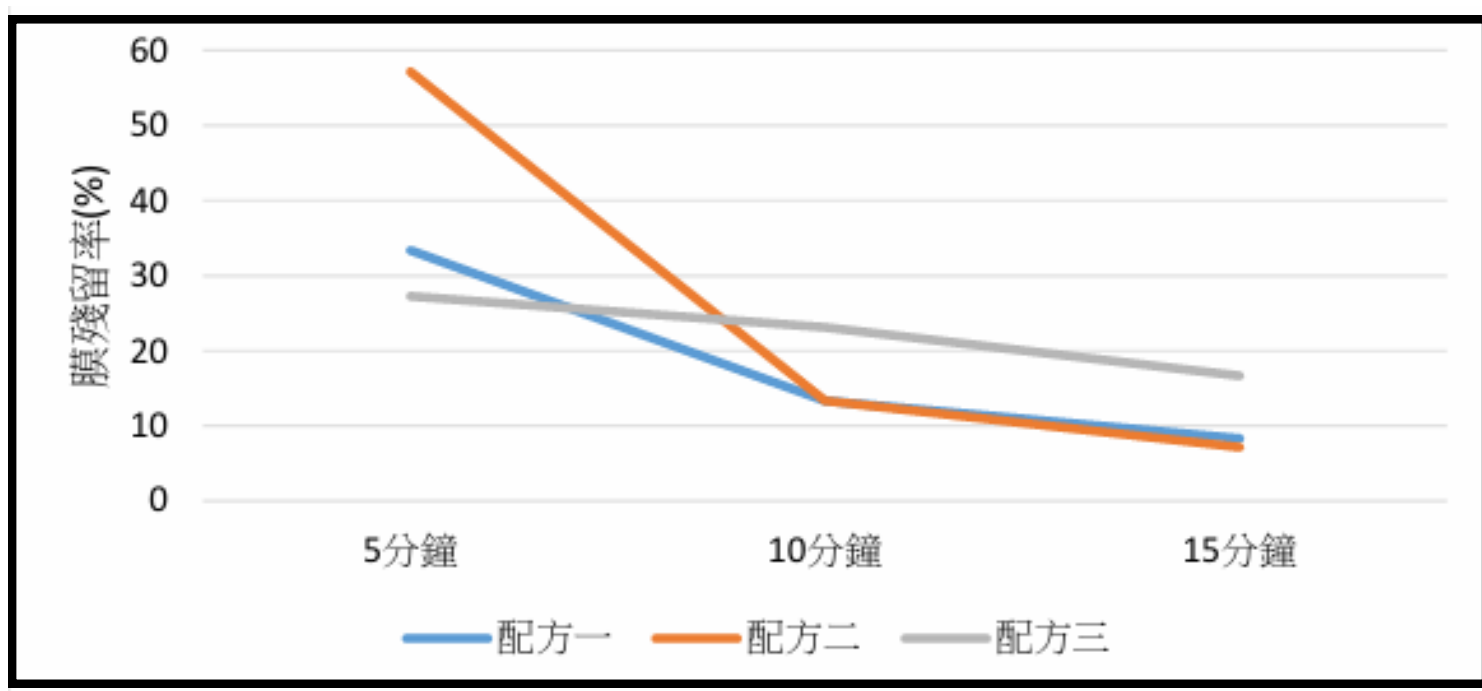
六、不同配方高分子材料製成凝膠與薄膜之性質



▲ 黏附性測試結果長條圖



▲ 靜水中膜穩定性測試折線圖



▲ 水流沖刷試驗結果折線圖

1. 在附著力測試中，與配方三相比配方一、二的附著力明顯不足，可能難以貼合口腔表面並形成薄膜。
2. 在靜水中穩定性測試中，**配方三較配方一、二展現較強的防水能力**。
3. 在水流沖刷試驗中，配方一、二的殘留率雖一開始大於配方三，但經過**十分鐘後殘留率大幅下降**，反觀配方三的殘留率下降幅度並不大。

柒、討論

(一)多酚含量比較

- 除了B+L萃取花的組別以外其餘組別多酚含量皆低於水萃取或相較於水萃取沒有顯著優勢。**溶劑極性與蘭花中酚類不合或溶劑黏度過高影響萃取**。
- B+L相比，B+G萃取物明顯較為**濃稠**，甚至在部分稀釋倍率下出現沉澱。此一性質可能阻礙萃取過程中有效成分的擴散，或造成**質量傳輸限制(mass transfer limitation)**，進而降低萃取效率。

(二)B+G莖部萃取物之沉澱情形

- 本實驗使用之B+G能有效萃取花中所含多醣。此結果與參考文獻中提及以植物鹼與有機酸配製之深共熔溶劑可**與蘭花花瓣細胞壁或胞內結構產生氫鍵作用**，進而提升多醣釋出量吻合。
- 推測由於而花部位富含黏液質、多醣與色素等 活性成分，在B+L條件下的多醣萃取量特別高。
- 其餘使用NADES之組別對於蘭花多醣的萃取效果不如預期，可能導因於**不同植物部位細胞壁組成差異**。

(三)DPPH抗氧化能力

- NADES不僅提升多醣萃取量，亦伴隨**萃取更多酚類等抗氧化物質**。
- 除了多酚、多醣以外仍有其餘具自由基清除能力之物質能被NADES有效萃取，進而大幅提升NADES萃取物組別之抗氧化能力。

(四)抑菌圈實驗

- 顯示蝴蝶蘭花部在特定NADES的協助下，可萃取到足以影響菌株生長的活性物質。
- 抑菌物質可能包含部分多醣、酚酸或萜類化合物，因此具抗菌效果。

(五)不同配方高分子材料製成凝膠之性質

- 到HPMC的濃度愈高凝膠愈濃稠，且對於潮濕表面的附著力愈高，而純PVP製成的凝膠則難以附著。
- HPMC較高，對水流沖刷較高的耐性，顯示**HPMC有助於增強膜的整體強度與附著力**使其免於被水流侵蝕。

捌、結論

1. 兩種NADES對於蘭花中多酚與多醣的萃取表現皆不如預期，顯示溶劑配方仍不小有改進空間。多數NADES萃取物擁有較強的 抗菌與抗氧化能力，顯示NADES對於蝴蝶蘭的廣譜萃取應用潛力。
2. 以 B+L 萃取花時，多醣含量與抗氧化能力表現最為優異，並在抑菌圈實驗中展現明 顯抑菌效果。故 B+L萃取花為本實驗所得最適合製作口內膠之組別。
3. PVP 與HPMC可與B+L花萃取物均勻混合樣品並形成水凝膠，其中以HPMC比例較高的配方形成之薄膜附著力較強且較為穩定。但薄膜防水性仍然不足，無法長時間於潮濕環境下保持穩定。

玖、未來展望

- (一) 進一步進改善NADES配方，提升多醣萃取率
- (二) 嘗試其他高分子材料以找出能與產生穩定薄膜的凝膠配方
- (三) 進行長時間接觸下的毒理及生物體內安定性研究，以期推展至實際臨床或商業應用

拾、參考資料

1. Manners, A., Stojanovic, A., & Stamenkovic, O. S. (2021). Natural deep eutectic solvents as green extraction media for biocompounds: A review. Sustainable Chemistry, 2(3), 423–439.
2. Zhang, X., Wang, J., & Li, Q. (2023). A novel approach to polysaccharide extraction from orchid waste using natural deep eutectic solvents. Journal of Green Extraction, 15(2), 112 120.
3. Sanja, M., Anica, B. M., Nemanja, T., Aleksandra, M., Milica, P., Irena, B. K., Karlo, J., Dario, L., Predrag, P., Danijela, B. K., & Branimir, P. (2024). Use of natural deep eutectic solvent (NADES) as a green extraction of antioxidant polyphenols from strawberry tree fruit (Arbutus unedo L.): An optimization study. Microchemical Journal, 200, 110284.