

## 梅 (*Prunus mume* Seibu. et Zucc) 及其加工品水萃物 抗氧化性及苦杏仁苷含量之探討

林欣榜\* 巫清安 蔡美珠 楊筱姿 陳如茵

財團法人 食品工業發展研究所

(接受刊載日期: 中華民國九十五年十一月十六日)

以超微弱化學光分析梅鮮果水萃物清除  $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$  的能力顯示: 除成熟梅清除  $O_2^{\cdot-}$  能力略低於 trolox 外, 青梅清除  $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$  及熟梅清除  $\cdot OH$  之能力與 trolox 無顯著差異。以超微弱化學光及初代顆粒性白血球分析梅鮮果清除  $H_2O_2$  之能力顯示, 青梅及熟梅鮮果僅略低於 trolox。高溫高壓 (121 °C、15 min) 處理梅鮮果水萃物, 不影響其清除活性氧能力及總多酚含量。青梅鮮果加工成日式酸漬梅後, 清除  $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$  及  $H_2O_2$  之  $IC_{50}$  分別提高 1.6、1.7 及 3.0 倍, 而脆梅則分別提高 16.1、4.2 及 8.9 倍; 這兩種產品清除  $ROO\cdot$  之 lag time 分別為原料之 69% 及 5%, 顯示清除活性氧能力皆顯著降低。青梅鮮果、日式酸漬梅及脆梅之總多酚含量分別為  $18.92 \pm 2.14$ 、 $9.04 \pm 2.88$ 、 $3.77 \pm 1.23$  equiv.  $\mu g$  gallic acid/mg dry wt. extract。苦杏仁苷含量也因加工而減少, 青梅鮮果、日式酸漬梅及脆梅分別為  $641 \pm 18$ 、 $305 \pm 23$ 、 $96 \pm 15$  mg/100g dry wt.。梅胚及脫鹽梅胚之活性氧清除能力及總多酚含量也遠低於鮮果原料, 顯示醃漬過程使梅果內容物流失, 同時各項清除活性氧能力、總多酚含量及苦杏仁苷含量也都大量流失。由梅果直接燻製之烏梅, 除  $\cdot OH$  及  $ROO\cdot$  之清除能力低於鮮果原料外,  $O_2^{\cdot-}$ 、 $H_2O_2$  之清除能力及總多酚含量與梅鮮果間, 無顯著性差異。由梅果汁液熬煮精煉之梅精, 其清除活性氧能力及總多酚含量與梅鮮果比較, 皆無顯著性差異。

**關鍵字:** 梅果加工品, 清除活性氧能力, 超微弱化學光分析法, 顆粒性白血球, 總多酚, 苦杏仁苷。

## Antioxidative Activity and Amygdalin Content of Water Extract of Mei Fruit (*Prunus mume* Seibu. et Zucc) and its Processed Products

Shin-Bong Lin\*, Ching-An Wu, Meei-Ju Tsai, Hsiao-Tsu Yang and Ru-Yin Chen

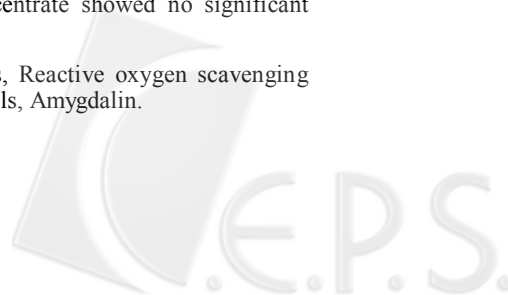
Food Industry Research and Development Institute, Hsinchu, Taiwan, R.O.C

(Accepted for publication: November 16, 2006)

The reactive oxygen scavenging capacities of crude water extracts of Mei fruit and its processed products were evaluated by ultraweak chemiluminescence analysis. The  $O_2^{\cdot-}$  scavenging capacity of mature fruit was lower than that of trolox. However, both  $O_2^{\cdot-}$  and  $\cdot OH$  scavenging capacities of immature fruit and  $\cdot OH$  scavenging capacities of mature fruit were shown no significant difference from trolox. The  $H_2O_2$  scavenging capacities of Mei fruit were slightly lower than trolox by ultraweak chemiluminescence and primary granulocyte analysis. The treatment of high pressure and high temperature (121 °C、15 min) had no significant effect on the reactive oxygen scavenging capacity and the total polyphenols content. Compared with fresh fruits, the  $IC_{50}$  values of  $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$  and  $H_2O_2$  scavenging capacities of Japanese sour Mei increased 1.6, 1.7 and 3.0 folds, and crispy Mei increased 16.1, 4.2 and 8.9 folds respectively. However, the lag times of  $ROO\cdot$  of Japanese sour Mei and crispy Mei were only 69% and 5% of fresh fruits respectively. The total polyphenols contents of Japanese sour Mei and crispy Mei decreased to  $9.04 \pm 2.88$  and  $3.77 \pm 1.23$  equiv.  $\mu g$  gallic acid/mg dry wt. extract respectively from  $18.92 \pm 2.14$  equiv.  $\mu g$  gallic acid/mg dry wt. extract of fresh fruits. The amygdalin contents of Japanese sour Mei and crispy Mei were also decreased to  $305 \pm 23$  and  $96 \pm 15$  mg/100g dry wt from  $641 \pm 18$  mg/100g dry wt. of fresh fruits. The total polyphenols and amygdalin contents and the reactive oxygen scavenging capacities of salted Mei and desalted semi-product were also lower than those of fresh fruits. It is due to the loss of fruit juice during salting process. Neither  $O_2^{\cdot-}$  nor  $H_2O_2$  scavenging capacity of smoked Mei was different from fresh fruits. The  $\cdot OH$  and  $ROO\cdot$  scavenging capacities of smoked Mei were slightly lower than those of fresh fruits. The reactive oxygen scavenging capacity and the total polyphenols content of Mei-juice concentrate showed no significant difference when compared with fresh fruit.

**Key words:** *Prunus mume* Mei (Japanese apricot) processed products, Reactive oxygen scavenging capacity, Ultraweak chemiluminescence, Primary granulocyte, Total polyphenols, Amygdalin.

\* Corresponding author. E-mail: lsb@firdi.org.tw



## 前 言

因為抗生素之發明，多數人類的傳染性疾病得以控制，於是壽命延長了，然慢性疾病包括癌症、心血管疾病、糖尿病等卻成為當今威脅人類壽命前幾名之殺手<sup>(1)</sup>。體內氧化/抗氧化不平衡之現象，往往是這些慢性疾病發生之源頭<sup>(2)</sup>。活性氧(reactive oxygen species)包括超氧陰離子(superoxide anion:  $O_2\cdot^-$ )、過氧化氫(hydrogen peroxide;  $H_2O_2$ )、氫氧自由基(hydroxyl radical:  $\cdot OH$ )和過氧化自由基(peroxyl radical:  $ROO\cdot$ )等會與細胞中之大分子如核酸、蛋白質及細胞膜不同成分作用，而傷害生物體。人體內兩大自由基的來源：一為粒腺體利用電子傳遞鏈產生能量時，部分電子於傳遞過程中從路徑流失，而直接將氧分子還原成超氧陰離子、氫氧自由基等<sup>(2)</sup>；另一來源則是吞噬細胞如巨噬細胞、顆粒性白血球等，利用 NADPH 氧化酶產生的自由基，將吞入的細菌等殺死。在先天免疫系統(innate immune system)中，吞噬作用清除外來病原菌佔有重要的角色。顆粒性白血球是體內重要的吞噬細胞之一，利用產生之活性氧，殺死入侵的微生物。顆粒性白血球的吞噬小體(phagosome)利用 NADPH 氧化酶將電子轉移到氧分子上，形成超氧陰離子，超氧歧化酶(superoxide dismutase; SOD)將超氧陰離子轉變成過氧化氫，而後經由髓過氧化物酶(myeloperoxidase: MPO)轉變為次氯酸(hypochlorous acid)與氯胺(chloramine)，這些轉變過程產生的活性氧可殺死入侵的病原菌。然在此同時，過多的活性氧也會造成正常細胞的傷害<sup>(2)</sup>。此外，細胞膜之脂質氧化產生過氧化自由基，將會以連鎖性反應繼續破壞細胞，導致組織傷害，引發疾病<sup>(1)</sup>。蔬果內普遍含有不同的抗氧化成分(如類黃酮等)，可減少脂質氧化及活性氧生成，調節或補充體內之氧化/抗氧化之不平衡現象<sup>(3,4,5)</sup>，降低體內之過度發炎反應<sup>(6)</sup>，誘發體內抗氧化酵素之合成<sup>(7)</sup>等，進而預防疾病的發生，而達到保健之作用。

梅(*Prunus mume* Seibu. et Zucc)是亞洲地區特有的果樹，除中國大陸華中、華南、臺灣、日本及韓國外，其他國家很少栽培。台灣地區主要栽培於南投縣、臺東縣、臺中縣山坡地<sup>(8)</sup>，產期集中於3月中旬至5月上旬<sup>(9)</sup>，其中“胭脂(Yentsu)”是目前栽培較多之品種<sup>(10)</sup>。由於梅果生產期短，且鮮果保存不易，

故常以“鹽漬”的方式製成“梅胚”，以利儲存，並供日後梅產品加工之用。運用不同成熟期之果實及製程，可加工成各式各樣的產品，供消費者選擇，如：不同口味的脆梅、蜜餞、果醬、梅精、梅汁等。本草綱目記載，梅可用於醫療及保健，為一天然健康食品<sup>(11)</sup>，具有整腸、恢復疲勞等作用。由於不同成熟度之梅果，其抗氧化性及苦杏仁苷含量有顯著差異<sup>(12)</sup>，而不同加工製程所得到的產品是否會影響產品的抗氧化性及苦杏仁苷含量，亦是需要探討的問題。

本研究乃運用高靈敏度且容易測定等優點之超微弱化學光技術(ultraweak chemiluminescence)<sup>(13,14)</sup>，測定梅鮮果水萃物清除活性氧能力，包括：超氧陰離子、氫氧自由基、過氧化氫及過氧化自由基等。並進一步以 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate 誘發初代顆粒性白血球產生過氧化氫，測定梅鮮果水萃物清除過氧化氫的能力<sup>(15)</sup>。復以超微弱化學光技術分析幾種梅產品清除活性氧能力之差異，並分析總多酚及苦杏仁苷含量，以探討加工製程對梅產品抗氧化性及苦杏仁苷含量的影響，及梅產品抗氧化性之差異，供業者生產、消費者選購時之參考。

## 材 料 與 方 法

### 一、材料

#### 1. 梅果及加工品

##### (a) 梅果

“胭脂”品種，收穫於南投縣信義鄉，青梅(immature Mei)採收於盛花後 81 天(2005 年 3 月 29 日)，而熟梅採收於盛花後 110 天(2005 年 4 月 26 日)。

##### (b) 梅加工品

###### (i) 脆梅(Crispy Mei)

青梅果清洗後，加入原料重 6%粗鹽攪拌 10 min，鹽漬一夜，流水漂洗 60 min 以脫鹽、脫澀。滴乾後，加入梅子重量 1:1 之 20°Bx 冷藏糖漬至平衡，再更換成 30°Bx 糖水，冷藏浸漬 24 h，如此每 24 h 逐次提高 10°Bx，使成品達到 60-65°Bx，即為脆梅。

###### (ii) 日式酸漬梅(Japanese sour Mei)

未熟青梅果清洗後，加入與原料等重之食鹽-乳酸鈣溶液(15%鹽-0.4%乳酸鈣)浸泡一夜後，棄汁液並滴乾，加入等重量之酸漬調味液(含 0.5%的丙氨酸、甘氨酸、

味素、檸檬酸和醋酸、75%之異麥芽寡醣溶液)，待溶液與果實平衡後，即為日式酸漬梅。

(iii)梅胚(Salted Mei)

取熟梅果，加入原料重量 23%之食鹽，醃漬 45 天，隨後日曬，至水分 60-65%，即為梅胚半成品。

(iv)脫鹽梅胚(Desalted semi-product)

加入與梅胚等重之水，每隔 30 min 攪拌一次，3 h 後棄水、梅胚滴乾和更換等量的水，如此重複操作三次，梅胚之鹽分可脫至 6%左右。

(v)烏梅(Smoked Mei)

烏梅購自南投縣信義鄉之農民，以 40 ℃之爐灶燃燒木材，烘焙熟梅果，在不傷表皮之原則下，每隔 8 h 上下翻動一次，使水分含量均勻，至果肉呈暗褐色、果皮起皺紋為止，如此共 2-3 天。

(vi)梅精(Mei-juice concentrate)

梅精購自南投縣信義鄉之農民，乃將梅果榨汁，汁液以小火熬煮 48 h 以上，約至原來汁液重量的四十分之一時，呈暗黑濃稠液，即為梅精。

## 2. 試驗動物

試驗動物四週齡雄性 Sprague Dawley (SD)大鼠，購自樂斯科生物科技，購入後飼養於食品工業發展研究所動物中心。飼養環境設定為溫度  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、溼度  $60 \pm 10\%$  及光照 12 小時亮、12 小時暗。飼養至 7-10 週齡時，方進行試驗。

## 3. 化學試藥

苦杏仁苷 (Amygdalin)、lucigenin、arginine、methyl-glyoxal (pyruvaldehyde; 2-oxopropanol)、indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide (IBG)、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、2,2'-azobis (2-amidopropane) dihydrochloride (ABAP)、luminol、Folin-Ciocalteu reagent、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、gallic acid、heprin、dextran、Histopague<sup>®</sup> 1077、Histopague<sup>®</sup> 1119、2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA)與 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)購自 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)； $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%, v/v)、ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)和甲醇購自 Merck 公司；HBSS buffer (Hank's balanced salts solution)選購 Gibco BRL。

## 二、試驗方法

### 1. 分析樣品的製備

稱取分析樣品果肉(包括鮮果或加工品) 200 g，於 100 ℃ 500 mL 之水煮 30 min，倒出水萃物，再加 100 ℃ 500 mL 之水煮 30 min，混合第 1 及 2 次水萃物，定量至 1,000 mL，冷凍保存，供各種活性氧自由基清除能力的分析。鮮果水萃物進一步以初代顆粒性白血球分析清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  之能力。同時測定各水萃物的固形物含量，以換算成萃出液之乾物重。

### 2. 梅的加工方式對活性氧清除能力的影響

#### (a) 高溫高壓處理梅鮮果水萃物對活性氧清除能力的影響

將製備之青梅鮮果萃出液經 121 ℃、15 min 處理，以超微弱化學光分析熱處理前後水萃物清除活性氧的能力，並分析總多酚含量。

#### (b) 梅產品清除活性氧能力、總多酚及苦杏仁苷含量

以超微弱化學光分析梅水萃物及梅各種加工產品，包括：脆梅、日式酸漬梅、梅胚、脫鹽梅胚、烏梅及梅精水萃物清除超氧陰離子、氫氧自由基、過氧化自由基和過氧化氫等活性氧的能力，並分析總多酚及苦杏仁苷含量。

## 三、分析方法

### 1. 清除活性氧能力之分析

#### (a) 超微弱化學光分析

參考 Tsai 等人<sup>(13,14)</sup> 之方法分析，即  $\text{O}_2^{\cdot-}$  形成系統之反應溶液包含 2.0 mM lucigenin、1.0 M arginine 及 1.4  $\mu\text{M}$  methylglyoxal。 $\cdot\text{OH}$  之形成系統乃利用 Fenton 反應，反應溶液包括 3  $\mu\text{M}$  IBG、1.0 mM  $\text{FeSO}_4$ 、3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 10 mM EDTA。 $\text{ROO}\cdot$  之形成系統包括 2.0 mM luminol、0.2 M ABAP， $\text{H}_2\text{O}_2$  產生系統則為 2.0 mM luminol 及 1.2%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{ROO}\cdot$  之分析法如陳等<sup>(12)</sup>，其中  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  之清除力以  $\text{IC}_{50}$  (concentration of 50% inhibition) 表示，即抑制系統中 50% 自由基之濃度，其濃度越低表示清除自由基能力越強。 $\text{ROO}\cdot$  能力方面則以 lag time 表示，即待測物加入系統後， $\text{ROO}\cdot$  被延遲偵測到的時間，當 lag time 越長，表示清除  $\text{ROO}\cdot$  的能力越強。

#### (b) 初代培養細胞分析

參考 Walrand 等人<sup>(15)</sup> 的方法，乃以二

氧化碳犧牲大鼠，隨後以 heparine 採血管做心臟採血，加入等體積的 3% dextran 均勻混合，室溫靜置 20 min，使紅血球沉澱。於 20 °C、300 × g 離心 10 min，去除上清液，以 10 mL 0.9% NaCl 懸浮細胞。在另一離心管中依序加入 10 mL Histopaque® 1119、Histopaque® 1077 與細胞懸浮液，使三種液體間保持清晰界面，於 20 °C、700 × g 離心 30 min 後，收集位於 Histopaque® 1119 與 Histopaque® 1077 界面間的顆粒性白血球。加入 0.9% NaCl，20 °C、1,600 rpm 離心去除 Histopaque®，再以 0.2% NaCl 懸浮細胞，去除殘餘的紅血球，隨即以 1.6% NaCl 恢復等張性，再離心移除 NaCl 溶液。以 HBSS 懸浮細胞，於 37 °C 避光下，加入 20 μM 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate 震搖 10 min，加入待測溶液，震搖 10 min，隨後加入 1 μM TPA，震搖 10 min，以流式細胞儀分析顆粒性白血球產生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的量，計算加入食材後抑制 TPA 產生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 活性氧之比率。

## 2. 總多酚含量分析

依據 Singleton 等人<sup>(16)</sup> 分析方法，即待測樣品與 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent、7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液混合，以分光光度計測定 760 nm 吸光值，並計算出相當於 gallic acid 含量。

## 3. 苦杏仁苷分析

於室溫下，取 6 g 果肉，加入 10 mL 甲醇溶液，以超音波(BRANSON 8210)振動萃取 6 h，經高速離心機以 3,000 rpm、10 min 離心後，上清液用 0.45 μm 濾膜過濾，隨即以 HPLC 分析，再由已知濃度之苦杏仁苷(10–1,000 ppm)標準曲線(回歸相關係數 r<sup>2</sup> = 0.998)換算樣品中未知苦杏仁苷之濃度。HPLC 之分析條件為：管柱 Chrom-pack C-18 column (250 × 4.6 mm)、移動相 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (20/80)、流速 3 mL/min、UV 檢測器波長 218 nm 及注射體積 20 μL<sup>(17)</sup>。

# 結果與討論

## 一、鮮梅果水萃物及 trolox 清除活性氧的能力

以超微弱化學光方法分析 trolox 及青梅(immature Mei)、熟梅(mature Mei)水萃物清除活性氧能力，顯示於表一。雖然熟梅 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、·OH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之 IC<sub>50</sub> 均大於青梅，然其間並無顯著

性差異。將梅鮮果水萃物與 trolox 相比顯示，除熟梅水萃物清除 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 能力略低於 trolox 外，青梅清除 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、·OH 及熟梅水萃物清除 ·OH 之能力與 trolox 無顯著差異。然而在清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 及 ROO· 能力方面，梅鮮果水萃物則皆顯著低於 trolox，其中熟梅與青梅對 ROO· 之 lag time 約只有 trolox 之三十分之一，與 trolox 相距較遠。

顆粒性白血球在無刺激劑(negative control)、刺激劑(TPA)與梅鮮果水萃物或 trolox 存在下，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的螢光含量變化如圖一，即在 TPA 刺激下，顆粒性白血球產生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的螢光向右偏移動，但有抗氧化物存在時，則偏移較少。

結果顯示，以顆粒性白血球分析鮮梅果水萃物清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之能力略低於 trolox，其中熟梅果(IC<sub>50</sub> 為 99.46 ± 25.76)略低於於青梅果(IC<sub>50</sub> 為 73.69 ± 5.01)，但其間無顯著差異(表二)，此結果與表一超微弱化學光分析結果之趨勢相近；而熟梅果與 trolox (IC<sub>50</sub> 為 59.18 ± 18.44)間則有顯著差異(表二)。

由於梅鮮果水萃物並非純物質，以超微弱化學光方法分析其清除 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、·OH 自由基之能力與 trolox 相近；又以超微弱化學光及初代顆粒性白血球分析也顯示梅鮮果清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 活性氧之能力與 trolox 相近，故梅鮮果富含高的抗氧化力是不容忽視的。

## 二、梅果加工方式對活性氧清除能力的影響

由於梅果產期短而集中，貯藏期不長，果實偏酸，故梅果加工品盛行。梅果最常用的加工方式有糖漬、醃漬、熬煮濃縮等，一方面利於保存，另一方面可調製成大眾接受及喜愛之產品。由於梅果富具有高的抗氧化能力，但經過一連串之加工處理，是否影響梅果原有的抗氧化能力，是本篇進一步探討之動機。

### 1. 高溫高壓處理梅水萃物對活性氧清除能力的影響

梅精為梅汁經過 48 小時以上熬煮濃縮而成的產品，試驗上不易比照此條件操作，因此以高溫高壓處理萃出液來比較處理前後活性氧清除能力。經過 100 °C 萃取之梅鮮果水萃物，再經 121 °C、15 min 高溫高壓處理，以超微弱化學光分析活性氧清除能力(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、·OH、ROO· 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)，並分析總多酚含量，

表一 梅果及其加工產品清除活性氧之能力

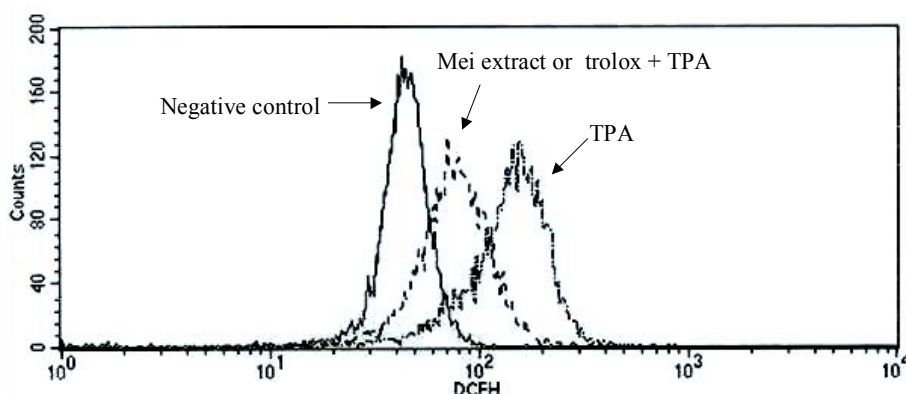
Table 1. The reactive oxygen scavenging capacity of Mei fruit and its products

Item	Reactive oxygen scavenging capacity <sup>1</sup>			
	<i>IC</i> <sub>50</sub> ( $\mu\text{g dry wt. extract / mL}$ )			Lag time ( $\text{sec}/\mu\text{g dry wt. extract / mL}$ )
	$\text{O}_2^{\cdot-}$	$\cdot\text{OH}$	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{ROO}\cdot$
Trolox	$10.73 \pm 1.02^{\text{a2}}$	$1.45 \pm 0.85^{\text{a}}$	$10.00 \pm 1.84^{\text{a}}$	$30.00 \pm 0.58^{\text{d3}}$
Mei fruit and its processed products				
Immature Mei	$14.88 \pm 1.04^{\text{ab}}$	$3.13 \pm 1.02^{\text{a}}$	$17.88 \pm 2.01^{\text{b}}$	$1.00 \pm 0.16^{\text{c}}$
Japanese sour Mei	$23.77 \pm 0.81^{\text{c}}$	$5.91 \pm 1.31^{\text{b}}$	$53.08 \pm 3.25^{\text{c}}$	$0.69 \pm 0.03^{\text{b}}$
Crispy Mei	$239.51 \pm 2.43^{\text{e}}$	$13.25 \pm 2.24^{\text{c}}$	$159.67 \pm 3.58^{\text{d}}$	$0.05 \pm 0.01^{\text{a}}$
Mature Mei				
Mature Mei	$18.94 \pm 1.07^{\text{b}}$	$4.04 \pm 1.37^{\text{a}}$	$18.78 \pm 2.30^{\text{b}}$	$0.84 \pm 0.24^{\text{c}}$
Mei-juice concentrate	$18.40 \pm 1.32^{\text{b}}$	$4.38 \pm 1.85^{\text{a}}$	$18.94 \pm 2.35^{\text{b}}$	$0.89 \pm 0.24^{\text{c}}$
Smoked Mei	$21.15 \pm 2.25^{\text{bc}}$	$10.24 \pm 2.34^{\text{b}}$	$18.48 \pm 2.52^{\text{b}}$	$0.45 \pm 0.21^{\text{b}}$
Salted Mei	$56.93 \pm 2.41^{\text{d}}$	$46.55 \pm 3.47^{\text{c}}$	$24.00 \pm 1.52^{\text{b}}$	$0.30 \pm 0.12^{\text{ab}}$
Desalted semi-product	$128.34 \pm 3.65^{\text{d}}$	$45.85 \pm 3.89^{\text{c}}$	$161.33 \pm 4.54^{\text{d}}$	$0.15 \pm 0.06^{\text{a}}$

1 Ultraweak chemiluminescence analysis.

2 Each value represents means  $\pm$  SD (n = 4)

3 Means within the same column followed by the different letters are significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.



圖一 顆粒性白血球在無刺激劑(negative control)及有刺激劑(TPA)與梅鮮果水萃物或 trolox 存在下，其過氧化氫的螢光含量變化

Fig. 1. An illustrative histogram represents hydrogen peroxide fluorescence of granulocyte in the absence (negative control) or presence of stimulator (TPA) and Mei fruit extract or trolox.

顯示處理前後間，清除各活性氧能力及總多酚含量皆無顯著差異(表三)，表示高溫高壓對梅果水萃物的抗氧化性影響不大，何況除了梅精，需要高溫高壓或長時間加熱處理的情況並不多。

## 2. 梅加工品活性氧清除能力之比較

### (a) 活性氧的清除能力

不同梅產品萃出液經超微弱化學光分析清除活性氧之能力顯示(表一)，梅果製成的加工品中，日式酸漬梅之各項活性氧清除能力皆顯著低於梅鮮果；而脆梅各項更是顯著低於日式酸漬梅。梅果加工成

日式酸漬梅，清除  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$  及  $\text{H}_2\text{O}_2$  之 *IC*<sub>50</sub> 分別提高 1.6、1.7 及 3.0 倍，而脆梅則分別提高 16.1、4.2 及 8.9 倍；此兩種產品  $\text{ROO}\cdot$  之 lag time 分別為鮮果原料之 69% 及 5%。顯示梅果製作之日式酸漬梅與脆梅於加工處理過程(漂水、浸泡於鹽液或糖液等)，內容物流失，使各項清除活性氧能力有顯著減少的現象。

相同的，成熟梅果及其加工品的各項活性氧清除能力中，梅胚皆顯著低於成熟梅果，而脫鹽梅胚又顯著低於梅胚；至於烏梅，除了清除  $\cdot\text{OH}$  及  $\text{ROO}\cdot$  能力略低於成熟梅果外，清除  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  之能力與成熟梅果間，並無顯著差

表二 用初代顆粒性白血球分析梅鮮果水萃物及 trolox 清除過氧化氫之能力

Table 2. The hydrogen peroxide scavenging capacity of Mei fruit extract compared with trolox by primary granulocyte analysis

Item	Hydrgen peroxide scavenging <sup>1</sup> <i>IC</i> <sub>50</sub> ( $\mu\text{g dry wt. extract / ml}$ )
Trolox	59.18 $\pm$ 18.44 <sup>a2</sup>
Immature Mei	73.69 $\pm$ 5.01 <sup>ab3</sup>
Mature Mei	99.46 $\pm$ 25.76 <sup>b</sup>

1 Primary granulocyte analysis.

2 Each value represents means  $\pm$  SD (n = 4)

3 Means between treatments of the same column followed by the same letters are no significant difference at 5% level by t- test.

異；而梅精各項清除活性氧能力與成熟梅果間，皆無顯著差異。由於烏梅與梅精乃直接加工，未經過漂水、醃漬等處理過程，因此其各項清除活性氧能力與原料鮮果相比，降低不多。

## (b) 總多酚含量

表四顯示梅果及其加工品之總多酚含量，青梅總多酚含量比熟梅高，顯示梅子總多酚含量會隨成熟度增加而減少。在加工產品中，日式酸漬梅之總多酚含量(9.04  $\pm$  2.88 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )顯著低於青梅鮮果，而脆梅(3.77  $\pm$  1.23 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )又顯著低於日式酸漬梅。成熟梅果總多酚含量(12.48  $\pm$  3.67 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )與烏梅(13.71  $\pm$  2.54 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )、梅精(13.50  $\pm$  2.34 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )相近，

且無顯著差異。而梅胚(2.02  $\pm$  0.71 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )與脫鹽梅胚(1.52  $\pm$  0.74 *equiv.  $\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}$* )則皆顯著低於成熟梅果，顯示此兩產品總多酚含量如同清除活性氧能力般，於加工過程大量流失。

## (c) 苦杏仁苷含量

苦杏仁苷是具有苦味的產氰性配醣體，最初在杏仁種子中發現，如果與  $\beta$ -glucosidase 同時食用，將促進水解產生劇毒之氰酸，大鼠只要服用 600 *mg/kg BW* 苦杏仁苷，則全部致死<sup>(18)</sup>。未成熟的梅果也含有苦杏仁苷，隨著成熟期的增加，苦杏仁苷含量將逐漸降低<sup>(12,19)</sup>。

比較青梅鮮果及其加工品中的苦杏仁苷含量，脆梅(96  $\pm$  15 *mg/ 100 g dry wt.*)顯著低於日式酸漬梅(305  $\pm$  23 *mg/ 100 g dry wt.*)及青梅鮮果(641  $\pm$  18 *mg/ 100 g dry wt.*)，其含量約為日式酸漬梅之三分之一，青梅鮮果的六分之一；而日式酸漬梅之含量又顯著低於青梅鮮果，約為青梅鮮果之一半(表五)。青梅加工品中，苦杏仁苷降低的情形，與其清除活性氧能力及總多酚含量降低的情形一致。本研究曾嘗試測定苦杏仁苷的抗氧化性，但未測得(未顯示數據)，故苦杏仁苷含量的降低與清除活性氧能力、總多酚含量的降低，並無相關性。

從以上梅果加工品活性氧的清除能力、總多酚及苦杏仁苷含量的結果可知，加工過程中，原料漂水的時間越長、醃漬或糖漬之程度越深，則梅子內容物的流失也越多，於是產品的抗氧化性、總多酚及苦杏仁苷的含量也降低越多。以成熟度較低之梅果為原料加工，由於其杏仁苷含量高，苦澀味也較強

表三 高溫高壓處理對梅鮮果水萃物清除活性氧能力及總多酚含量之影響

Table 3. Effect of high temperature and high pressure treatments of Mei extracts on reactive oxygen scavenging capacity and the total polyphenols contents

Treatment	Reactive oxygen scavenging capacity <sup>1</sup>				Total polyphenols content ( <i>equiv. <math>\mu\text{g gallic acid/mg dry wt. extract}</math></i> )
	<i>IC</i> <sub>50</sub> ( $\mu\text{g dry wt. extract / mL}$ )			Lag time ( <i>sec/<math>\mu\text{g dry wt. extract / mL}</math></i> )	
	O <sub>2</sub> · <sup>-</sup>	·OH	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ROO·	
Control	14.88 $\pm$ 1.04 <sup>a2</sup>	3.13 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>	17.88 $\pm$ 2.01 <sup>a</sup>	1.00 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	17.82 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>
121 °C, 15 min	12.09 $\pm$ 1.81 <sup>a3</sup>	3.01 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>	18.87 $\pm$ 2.95 <sup>a</sup>	0.92 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	19.39 $\pm$ 1.71 <sup>a</sup>

1 Ultraweak chemiluminescence analysis.

2 Each value represents means  $\pm$  SD (n = 4)

3 Means between treatments of the same column followed by the same letters are no significant difference at 5% level by t- test.

表四 梅果及不同加工品總多酚含量之比較  
Table 4. The total polyphenols contents of Mei fruit and its products

Item	Total polyphenols content (equiv. $\mu\text{g gallic acid}/\text{mg dry wt. extract}$ )
Immature Mei	$18.92 \pm 2.14^c$
Japanese sour Mei	$9.04 \pm 2.88^b$
Crispy Mei	$3.77 \pm 1.23^a$
Mature Mei	$12.48 \pm 3.67^b$
Mei-juice concentrate	$13.50 \pm 2.34^b$
Smoked Mei	$13.71 \pm 2.54^b$
Salted Mei	$2.02 \pm 0.71^a$
Desalted semi-product	$1.52 \pm 0.74^a$

1 Each value represent means  $\pm$  SD (n = 4).

2 Means within the same column followed by the different letters are significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

表五 青梅及其加工品的苦杏仁苷含量  
Table 5. Amygdalin contents of immature Mei and its processed products

Item	Amygdalin content ( $\text{mg}/100 \text{ g dry wt.}$ )
Immature Mei	$641 \pm 18^c$
Japanese sour Mei	$305 \pm 23^b$
Crispy Mei	$96 \pm 15^a$

1 Each value represent means  $\pm$  SD (n = 4).

2 Means followed by the different letters are significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

(12)，製作產品時，往往需要運用漂水以脫澀，方為消費者接受。其中日式酸漬梅只經一次鹽液浸漬，梅果內容物流失還不甚嚴重，然而脆梅歷經漂水及不同濃度的糖液浸漬，製程中梅果內容物嚴重流失，造成活性氧清除能力、總多酚及苦杏仁苷的含量顯著降低，其幅度遠高於日式酸漬梅，此結果乃反應製程中內容物流失之程度，即梅果抗氧化成分流失之程度與製程之繁簡及漂水、鹽液糖液浸漬之程度有密切關係。

傳統上業者往往於短暫的梅果盛產期，將梅果製成高鹽的梅胚，利於儲存。當需要加工成梅果產品時，再將梅胚脫鹽及調味。由於梅胚利用高鹽進行醃漬，鹽漬過程中有大量梅汁自梅果流出而造成內容物流失。而在梅胚漂水脫鹽時，又有大量內容物繼續流失。故清除活性氧能力及總多酚含量方面與

鮮果相比，梅胚已嚴重降低，脫鹽梅胚更嚴重下降。故從梅果抗氧化性觀點觀之，高鹽醃漬對梅果似乎不是一種很好的保存方式。

烏梅及梅精之製作，乃運用燻製或熬煮濃縮而成，並未有內容物嚴重流失的情形，其活性氧清除能力及總多酚含量與熟梅鮮果相近或略低，即烏梅或梅精似乎完全保有製作前梅鮮果原料之抗氧化性質，也顯示燻製或熬煮濃縮的溫度，不致造成梅果抗氧化性之損失。本研究曾以冷水萃取梅子，發現其水萃物清除活性氧能力及總多酚含量皆遠低於沸水萃出者(未顯示數據)，顯示其具抗氧化性等之植物化學活性物質，以沸水較易萃出。

梅鮮果與梅精之抗氧化性極為接近，蔡等人<sup>(20)</sup>指出，以梅精餵食 ICR 小鼠，可以增加麩胱胺酸-S-轉移酵素(glutathione S-transferase; GST)、蛋白質及其 mRNA 的表現。而 GST 為體內重要之抗氧化酵素，可以催化麩胱胺酸與親電性致突變之活化物質結合，進而將這些物質排出體外，以降低化學性誘發腫瘤發生的機率。此乃顯示梅精或梅果成分能誘發體內抗氧化酵素之生合成，積極捍衛體內活性氧不平衡之任務。Utsunomiya 等人<sup>(21)</sup>則指出梅精具有之清除活性氧能力，可抑制血管收縮素 II (angiotensin II) 誘發血管平滑肌細胞生長之訊息，對心血管具有保護作用。Chuda 等人<sup>(22)</sup>在 *in vitro* 實驗指出梅精所含成分 mumeferal 可增進血液之流動性，然而梅含有之其他機能性成分，目前研究不多。故若因加工製程而喪失梅果之天然抗氧化性，則十分可惜。

故現階段宜積極開發另一種能留住梅果抗氧化性的保存方式、改善醃漬方式、減少梅果抗氧化性之損失，如：收穫夠成熟之果實、減少漂水時間、運用流失梅汁、冷凍貯藏、開發新製程、創造新產品等，使琳瑯滿目之梅產品都能擁有梅果天然賦予的高抗氧化性，讓消費者不論做何種選擇，都能分享梅果給人類健康帶來的益處等，皆是大家值得努力的方向。

## 謝 誌

本研究承蒙經濟部(計畫編號：94-EC-17-A-18-R7-0332)及農委會(計畫編號：94 農科-12.1.1-牧-U1(2))經費補助，特此致謝。



## 參 考 文 獻

- (1) 臺灣地區主要死因死亡率趨勢圖：<http://www.doh.gov.tw/statistic/data/死因摘要/92年/92.htm> (2004)。
- (2) 凌關庭：《抗氧化食品與健康》，pp. 1-51。化學工業出版社，北京，中國 (2004)。
- (3) B. M. Ames: Dietary carcinogens and anticarcinogens: Oxygen radicals and degenerative disease. *Science*, **221**: 101-104 (1983).
- (4) K. F. Gey: The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: Epidemiology and mechanisms. *Biochem. Soc. Trans.*, **18**: 1041-1045 (1990).
- (5) H. Wang, G. Cao and R. Prior: Total antioxidant capacity of fruit. *J. Agric. Food Chem.* **44**: 701-705 (1996).
- (6) M. T. Huang, G. Ghai and C. T. Ho: Inflammatory process and molecular targets for anti-inflammatory nutraceuticals. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, **3**: 127-139 (2004).
- (7) P. Talalay, T. A. W. Dinkova-Kostova and W. D. Holtzclaw: Importance of phase 2 gene regulation in protection against electrophile and reactive oxygen toxicity and carcinogenesis. *Advan. Enzyme Regul.*, **43**: 121-134 (2003).
- (8) 歐錫坤：梅。臺灣農家要覽(電子書)，農作篇(二)，增修定第三版，行政院農業委員會出版，財團法人豐年社發行，臺北，臺灣 (2006)。
- (9) 丘應模：《臺灣的果樹》，pp.46-48，渡假出版社有限公司，台北，中華民國 (1991)。
- (10) 行政院農業委員會：92 農業統計年報，pp.110，行政院農業委員會統計室，台北，中華民國 (2004)。
- (11) 李時珍：《本草綱目(下)》，甘偉松增訂，pp. 41-45，宏業書局有限公司，台北，中華民國 (1974)。
- (12) 陳如茵、楊筱姿、蔡美珠、林欣榜：梅(*Prunus mume* Seibu. et Zucc)之花及不同成熟度果實水萃物抗氧化性及苦杏仁苷含量之探討。《台灣農業化學與食品科學》，**44**: 351-357 (2006)。
- (13) C. H. Tsai, A. Stern, J. F. Chiou, C. L. Chern and T. Z. Liu: Rapid and specific detection of hydroxyl radical using an ultraweak chemiluminescence analyzer and a low-level chemiluminescence emitter: application to hydroxyl radical-scavenging ability of aqueous extracts of food constituents. *J. Agric. Food Chem.*, **49**: 2137-2141 (2001).
- (14) C. H. Tsai, R. C. Chang, J. F. Chiou and T. Z. Liu: Improved superoxide-generating system suitable for the assessment of the superoxide-scavenging ability of aqueous extracts of food constituents using ultraweak chemiluminescence. *J. Agric. Food Chem.*, **51**: 58-62 (2003).
- (15) S. Walrand, S. Valeix, C. Rodriguez, P. Ligot, J. Chassagne and M. P. Vasson: Flow cytometry study of polymorphonuclear neutrophil oxidative burst: a comparison of three fluorescent probes. *Clin Chim Acta.*, **331**: 103-110 (2003).
- (16) V. L. Singleton, R. Orthofer and R. M. Lamuela-Raventos: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, **299**: 152-178 (1999).
- (17) 張正明：梅子醃漬前果汁之製取及脫除苦味方法之研究，pp.12-32，國立台灣大學食品科技研究所碩士論文，台北，台灣 (1984)。
- (18) S. R. Adewusi and O. Oke: On the metabolism of amygdalin. 1. The LD<sub>50</sub> and biochemical changes in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **63**: 1080-1083 (1985).
- (19) 柏有成：梅子核仁中 $\beta$ -Glucosidase之純化與生化性質之探討。國立台灣大學園藝研究所碩士論文，台北，台灣 (1988)。
- (20) 蔡金川、許明仁、黃志揚、馬易世、林昭庚：梅精之解毒機轉，p.59，中華實驗動物學會第8屆第二次會員大化暨學術研討會論文集 (2005)。
- (21) H. Utsunomiya, S. Takekoshi, N. Gato, H. Utatsu, E. D. Motley, K. Eguchi, T. G. Fitzgerald, M. Mifune, G. D. Frank and S. Eguchi: Fruit-juice concentrate of Asian plum inhibits growth signals of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II. *Life Sci.*, **72**: 659-667 (2002).
- (22) Y. Chuda, H. Ono, M. Ohnishi-Kameyama, K. Matsu-moto, T. Nagata and Y. Kikuchi: Mume-fural, citric acid derivative improving blood fluidity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). *J. Agri. Food Chem.*, **47**: 828-31 (1999).

