

美和科技大學

107 年度教師專題研究計畫 結案報告

總計畫名稱：檢測有機牛蒡葉萃取物美白及抗老化活性成分之研究

計畫編號：MH-107-DBS-002

計畫期間：107.01.01.~107.12.31.

計畫主持人：鄭智交

共同主持人：蔡豐仁、林峰源

研究助理：潘憶琳、蕭亦宸

經費總額：50,000 元

實際支用金額：48,116 元

經費來源：107 年度教育部獎補助款

一、中英文摘要

(一) 中文摘要。(五百字以內)

摘要：牛蒡養生保健的功效已廣為人知，而屏東歸來鄉牛蒡在產銷班的努力之下，乃採用自然的有機農法耕作，品質優良。然而採收牛蒡後留下的大量牛蒡葉並未加以利用，殊為可惜！牛蒡葉跟牛蒡一樣含有許多活性成分，只是多了些苦澀味。因此，像牛蒡葉這種有機栽培的農業廢棄物，若能適時導入生物技術轉變成農業資材，如萃取牛蒡葉活性成分，開發美白及抗老化保養化妝品，加以善用有機牛蒡葉。將可提高牛蒡有機栽培之附加價值，藉以增加農民的收入並發展地方產業特色，提昇歸來牛蒡產業的競爭優勢。也可發展出屏東在地特色的時尚科技保養品。

實驗結果顯示：

- a. 牛蒡根部抗氧化物含量高於葉部。
- b. 牛蒡根部表皮抗氧化物含量特別高。
- c. 嫩葉的抗氧化物含量高於一般的葉子。
- d. 牛蒡葉部的粗估美白成分含量高於根部。
- e. 牛蒡嫩葉部分粗估美白成分含量特別高。
- f. 成熟根部的美白成分含量稍多於未成熟根部。

建議：

- a. 牛蒡根皮抗氧化物含量特高，建議有機牛蒡連皮一起料理食用可提高抗氧化物攝取量。
- b. 有機牛蒡葉嫩葉部分可萃取開發為美白化妝品原料。

關鍵詞：牛蒡、牛蒡葉、化妝品、美白、抗氧化

(二)英文摘要 (五百字以内)

Abstract: Burdock health care effect has been widely known. However, during harvest period a largenumber of burdock leaves are not used. The Burdock production and marketing classes ofPingtung by the natural organic farming methods produced good quality of burdock. In addition, burdock leaves, like burdock, contain many active ingredients, just a bit more bitter taste. Therefore, several biotechnological methods are introduced to extract the activeconstituents of the burdock leaf and to develop of whitening and anti-aging cosmetics. Thiswill make good use of organic burdock leaves.

It will increase the added value of organic cultivation of burdock and increase the incomeof farmers. It will develop local industry characteristics and enhance the competitive advantage of Pingtung burdock industry.

Experiment result shows:

- a. The antioxidant content of the root of burdock is higher than that of the leaf.
- b. The anti-oxidant content of the epidermis of the roots of Burdock is particularly high.
- c. The antioxidant content of young leaves is higher than that of ordinary leaves.
- d. The rough estimate of the whitening component of the burdock leaves is higher than the root.
- e. The content of whitening ingredients in the tender part of the burdock is particularly high.
- f. Mature roots have slightly more whitening ingredients than immature roots.

Suggest:

- a. The anti-oxidation content of the burdock root bark is extremely high. It is recommended that the organic burdock and the bark together can increase the antioxidant intake.
- b. The organic burdock leaves can be extracted and developed into whitening cosmetic raw materials.

Keywords: *Arctium lappa* L. 、 Burdock leaf 、 cosmetics 、 whitening 、 antioxidants

二、前言

1、研究計畫之背景

牛蒡茶之推廣已然普及，但因有機栽培成本高，耕作面積有限，利潤空間有限。若能將採收後的大量牛蒡葉加以回收再利用，萃取有效成分開發美白及抗老化保養化妝品，將可提升牛蒡產業的附加價值，創造在地產業歸來牛蒡產銷班的競爭優勢。

歸來牛蒡的品種主要是由日本引進，根據研究顯示(孫,2008;于,2007)牛蒡富含菊糖、粗纖維、蛋白質、鈣、磷、鐵及多種維生素。其胡蘿蔔素含量比胡蘿蔔高約 150-270 倍，胡蘿蔔素在人體內會轉變為維生素 A，對於清除體內毒素、預防腫瘤、治療夜盲症、保護視力及皮膚美容都有很好的作用。此外，蛋白質和鈣的含量更為根莖類之首。

根據分析(孫,2006;胡,2002)，牛蒡鮮根每 100 克含水份 90.10 克、蛋白質 4.10 克、碳水化合物 3.50 克、粗纖維 1.50 克、脂肪 0.10 克、灰份 0.70 克、維生素 B1,0.03 毫克、維生素 B2,0.50 毫克、鈣 2 毫克、鐵 2 毫克、磷 116 毫克。

牛蒡葉每 100 克含水份 87 克、蛋白質 4.7 克、碳水化合物 3 克、粗纖維 2.4 克、灰份 2.4 克、脂肪 0.8 克、胡蘿蔔素 390 毫克、維生素 B1,0.02 毫克、維生素 B2,0.29 毫克、維生素 B3,1.1 毫克、維生素 C,2.5 毫克、鈣 242 毫克、鐵 7.6 毫克、磷 61 毫克。

牛蒡莖葉含揮發油、鞣質、黏液質、咖啡酸、氯原酸、異氯原酸等。Pereira 等人(Pereira,2005)，研究牛蒡葉粗提物對口腔中引起牙髓感染的常見病菌，包括糞腸球菌、金黃色葡萄球菌、綠膿桿菌、枯草桿菌及白色念珠菌的抗菌活性，結果都有很好的抑菌效果。

牛蒡葉中所含的牛蒡苷元則是具有阻斷 HIV-1 病毒感染的作用(Vlietinck,1998)，此外，牛蒡苷元也具有抗流感病毒作用(高陽,2008)。體外實驗中，Kardosova 等人(2006)，發現牛蒡葉多醣具有良好的抗氧化活性，其活性相當於維生素 E 的 45%。在體內實驗中，Liu 等人(2005)，發現牛蒡抽提物可明顯提升大鼠體內抗氧化酵素---超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase; SOD) 活性，提升體內抗氧化活性。可見牛蒡葉中也含有抗菌、抗發炎的氯原酸及美膚功效的胡蘿蔔素等成分(chan, 2011; de Oliveira, 2014)。因此，如何有效利用有機牛蒡葉，是個值得努力研究的主題。

2、國內外有關研究現況分析

2-1 國內外發展方向、策略分析

目前國內有關牛蒡葉的研究相當多，主要是做成分萃取、成分分析及探討做為食品添加物之潛力研究。但並未有將牛蒡葉應用於保養化妝品之研究。因牛蒡葉含有豐富的綠原酸及多酚化合物，根據研究(盧,2009)，綠原酸具有美白活性，當黑色素細胞培養液中含有 0.02%綠原酸時，可有效降低其黑色素產量達 3-4 成。而從牛蒡葉中萃取綠原酸(Ferracane,2010)，萃取率可高達 2-3%。將牛蒡葉抽提物作為食品原料目前尚有疑慮，但若當化妝品原料，則較為可行，只要通過初步細胞毒性檢測及皮膚刺激性檢測，就可著手開發相關保養品，如美白化妝品、抗老化化妝品等。

2-2 競爭力分析

1.SWOT(優勢/劣勢/機會/威脅)分析

優勢(S) 有機栽培的牛蒡葉,品質好安全佳，可確保無農藥殘留問題。牛蒡葉抽提物可放心作為保養化妝品添加物，若牛蒡葉抽提率可達經濟效益，將可促進有機產業的發展，開創出讓生產者、消費者及開發研究者都獲益的三贏局面。

劣勢(W) 有機栽培的牛蒡葉,耕作成本較高。添加牛蒡葉抽提物的化妝品，單價也會高一些，所以，行銷時需做市場區隔，強調有機環保愛地球的概念。

機會(O) 歸來牛蒡產銷班生產的牛蒡，品質品牌形象佳，若能以生物科技成功抽提牛蒡葉有效成分，抽提率達經濟效益。開發的產品並利用細胞平台檢測產品美白的安全性及有效性，將有助於產品的行銷，進而提升有機牛蒡產業的附加價值，提升歸來牛蒡產業競爭優勢。

威脅(T) 長期以來國人普遍認為有機產品的價格偏高，品質管控不一，所以，行銷策略擬定，可能需多元一點比如，買多少牛蒡商品，可加送牛蒡保養品，以贈品方式行銷。此外，國內消費普遍有舶來品及品牌的迷思，國外大廠生產的品牌化妝品更優，評價也較高。因此該如何扭轉國人既有的觀念讓大家有機會願意試用我們的產品是相當重要的課題。

2-3.可行性分析

本計畫將利用農業資材-有機牛蒡葉，進行綠原酸及多酚活性成分萃取回收，以提高有機牛蒡產業的附加價值。並將萃取物應用於美白及抗老化化妝品配方中。目前萃取方法為 20%酒精加熱萃取，猶如燉補料理的方式，可行性相當高。本計畫的初步結果顯示牛蒡葉萃取物富含抗氧化物，而嫩葉含量高於老葉，根部高於莖葉，根表皮高於表皮以下，建議有機牛蒡連皮一起料理食用可提高抗氧化物攝取量。

三、研究方法、步驟

1-1. 牛蒡葉抽提物製備:

a.20%乙醇活性成份萃取物:

方法: 20%乙醇萃取法、高壓滅菌釜加熱處理 20 分鐘。

離心，加入等量 95%酒精，儲存備用。

1-2.體外(in vitro)抗氧化測試:

方法:以總酚含量、DPPH 清除率測定法(鄭, 2000)，初步了解個別萃取物的抗氧化能力以作為後續實驗之比對及參考。

1-2-1. DPPH 抗氧化能力檢測系統:

將 DPPH 以酒精配製成 240 uM 取 1000u

L 與萃取液 20 uL 混合，靜待 30 分鐘後，取反應液 200 uL 至 96-well 中以 ELISA reader 測其 517nm 吸光值，吸光值降低之百分比則為其清除率。

以維生素 C 為標準品，計算為維生素 C 當量數可稱為”粗(估)抗氧化物含量”。

1-3.美白功效評估檢測系統:

1-3-1 酪胺酸酶酵素檢測系統:

方法: 取 0.25mM L-dopa 65ul, 50mM phosphate buffer(pH 6.5) 105ul, 及 Sample solution 10ul 混合均勻後，再加入[200U/ml] mushroom-tyrosinase 20ul 之後 30 分鐘，測 OD475nm 的讀值。計算抑制百分比 (% inhibition):

$\%inhibition = \frac{A-B}{A} * 100$;

A:標準組 OD475nm 讀值; B:實驗組 OD475nm 讀值。

以 Kojic acid 為標準品，計算為 Kojic acid 當量數可稱為”粗(估)美白成分含量”。

四、研究結果與討論

1. 本計畫完成的工作項目為:(1)完成牛蒡葉活性成分的萃取。(2)牛蒡葉活性成分抗氧化及美白試驗評估。分述如下:

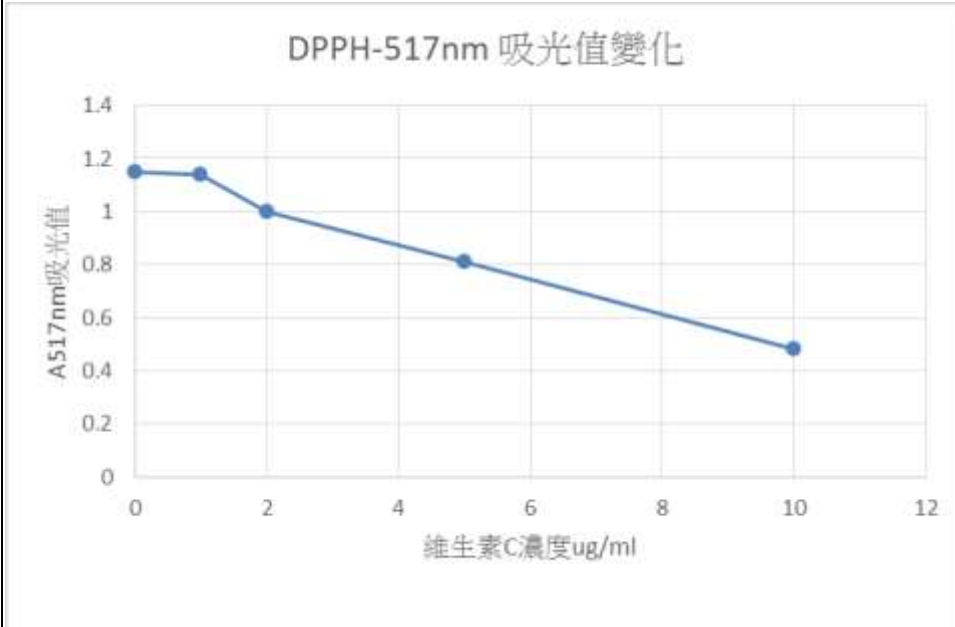
(1)完成牛蒡葉活性成分的萃取

取 100g 牛蒡葉子加入 200g 20%乙醇，取 100g 牛蒡根加入 100g 20%乙

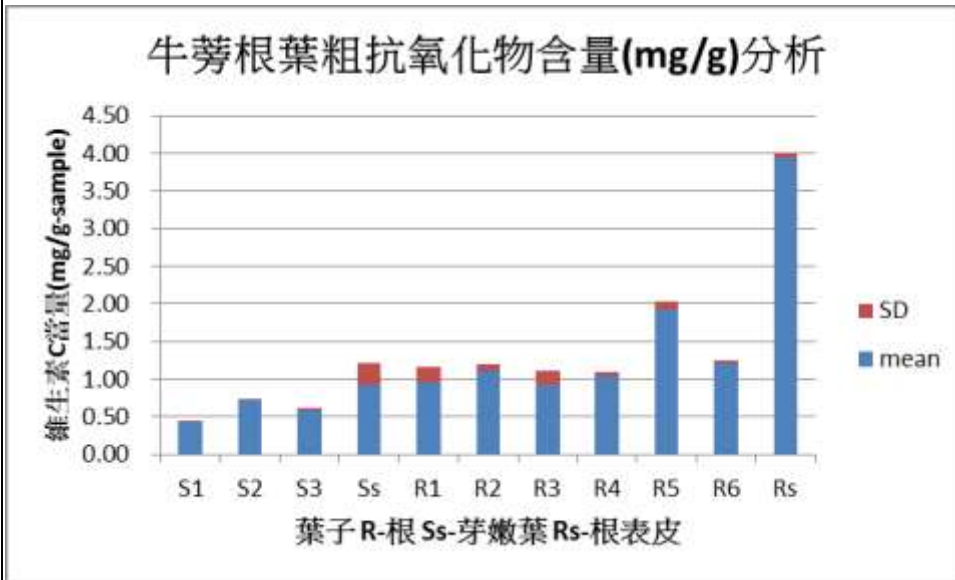
醇，經高壓滅菌釜加熱處理 20 分鐘。離心，加入等量 95% 酒精，儲存備用，冷凍保存不結冰。萃取率牛蒡葉子約為 0.5mg(粗抗氧化物)/g(濕重)，牛蒡根約為 1-1.5mg(粗抗氧化物)/g(濕重)。

(2) 牛蒡葉活性成分抗氧化試驗評估

首先先做 DPPH 試驗做出維生素 C 抗氧化活性標準曲線如下：



維生素 C 2ug-10ug 有很好的線性關係，吸光值 1.0---0.5 之間。牛蒡粗萃物的活性，以維生素 C 當量來估算，結果如下：



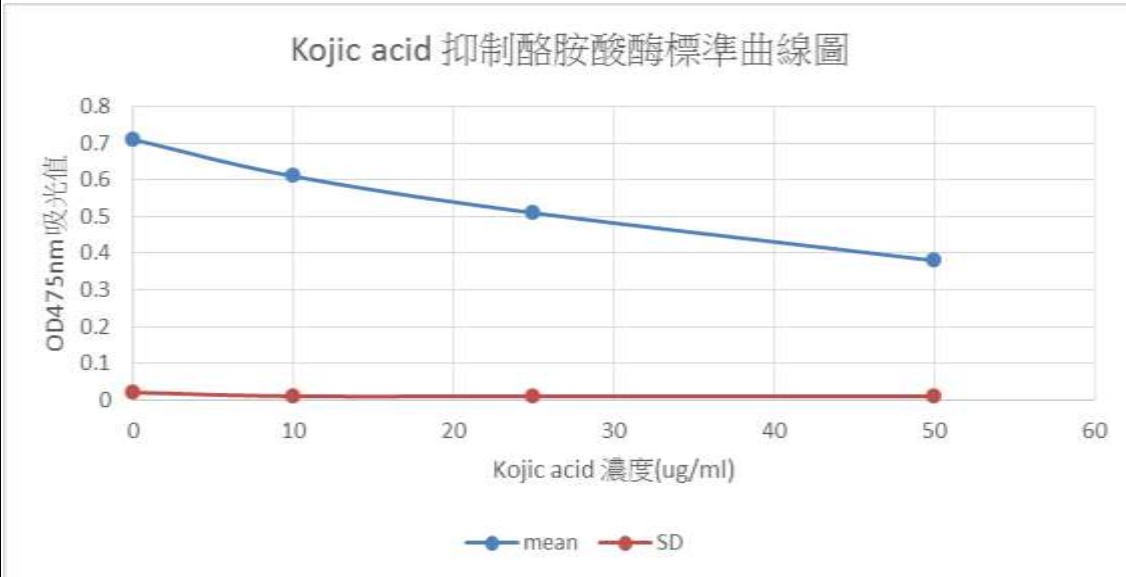
- a. 牛蒡根部(R1.R2.R3.R4.R5.R6.)抗氧化物含量高於葉部(S1.S2.S3.)
- b. 牛蒡根部表皮抗氧化物含量特別高(Rs >>R4.R5.R6)
- c. S1.S2.S3.為 3 株牛蒡葉子編號，Ss 為 3 株牛蒡株的心葉嫩芽，結果發現

嫩葉的抗氧化物含量高於一般的葉子。

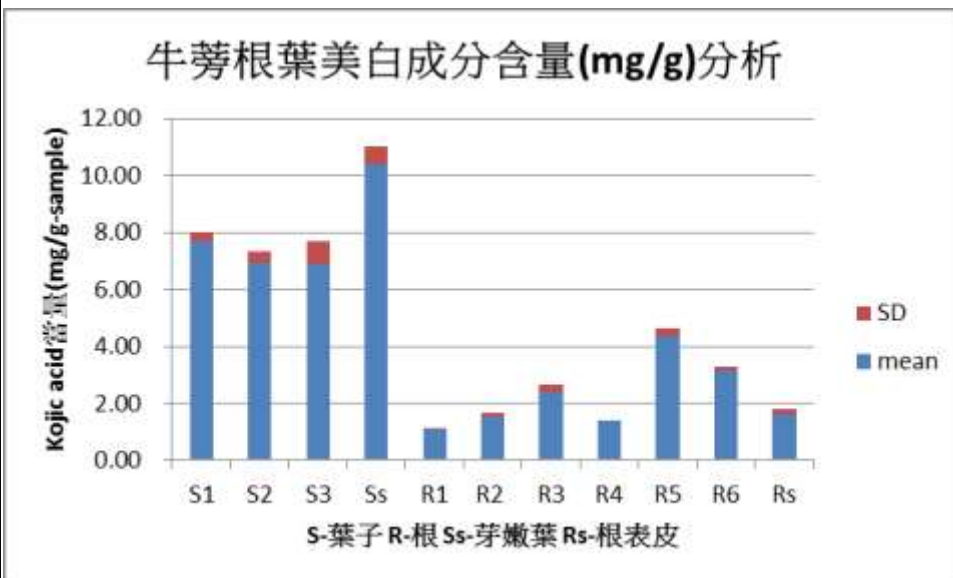
- d. R1.R2.R3.為3株牛蒡根部的編號(牛蒡根部未成熟只有30-40 cm)，d.
R4. R5. R6. 為成熟牛蒡根部(有80-90 cm)，Rs 為成熟根部的外表皮有特高的抗氧化物含量。

(3) 牛蒡葉活性成分美白試驗評估

首先先做 Kojic acid 抑制酪胺酸酶活性的標準曲線如下:



Kojic acid 0-50ug/mL 有很好的線性關係，吸光值 0.7—0.4 之間。
牛蒡粗萃物的活性，以維生素 C 當量來估算，結果如下:



- a. 牛蒡根部(R1.R2.R3.R4.R5.R6.)粗估美白成分含量低於葉部(S1.S2.S3.)。
- b. 牛蒡嫩葉部分粗估美白成分含量特別高(Ss >>S1.S2.S3.>> R5.R6)

- c. S1.S2.S3.為3株牛蒡葉子編號，Ss 為3株牛蒡株的心葉嫩芽，結果發現嫩葉的粗估美白成分含量高於一般的葉子。
- d. R1.R2.R3.為3株牛蒡根部的編號(牛蒡根部未成熟只有30-40 cm)，
R4.R4.R6.為成熟牛蒡根部(有80-90 cm)，結果發現成熟根部的美白成分含量稍多於為成熟根部 (R5.R6.> R2.R3.)，而成熟根部的外表皮含量則低於根部平均值(Rs<<R5.R6)。
2. 本計畫對參與本計畫的研究人員，研究期間可獲得抗氧化活性試驗、美白活性試驗檢測平台相關知識之充實，並熟悉相關研究實驗技術。因此，對保健化妝品相關產業研發人才之培育助益良多。
- 3.本計畫可增加屏東在地有機牛蒡產業的附加價值(萃取物開發為化妝品或保健品原料)及經濟效益，達到提高農民經濟收入的間接效益，促進有機農業之發展，讓農業更環保，讓人與自然更友善。

五、結論

本計畫的初步結果顯示牛蒡萃取物富含抗氧化物，而嫩葉含量高於老葉，根部高於莖葉，根表皮含量特高，建議有機牛蒡連皮一起料理食用可提高抗氧化物攝取量。此外，結果也顯示牛蒡葉萃取物富含粗估美白成分含量，而嫩葉含量高於老葉，葉部高於根部，建議有機牛蒡葉嫩葉部分可萃取開發為美白化妝品原料。

六、參考文獻

參考文獻：

于宏. 牛蒡的化學成分與生物活性. 國外醫藥·植物藥分冊.

2007;22(6):244-247.

胡喜蘭, 劉存瑞, 曾憲佳. 新疆不同地區牛蒡根中氨基酸和八種元素的含量分析. 廣西中醫藥.

2002;25(2):55-56.

孫長花. 牛蒡的營養和藥用價值及其加工利用. 揚州大學烹飪學報.

2008;(2):61-64.

孫愛東. 牛蒡的營養價值及其發現現狀. 中國食物與營養. 2006;(1)25-27.

鄭智交 (2000) 植物黃酮類成份之抗氧化活性探討及 Brousochalcone A 成分抑制巨噬細胞一氧化氮合成作用之研究。臺灣大學藥理研究所博士論文。高陽, 董雪, 康廷國. 牛蒡子苷元體外抗流感病毒活性 中草藥. 2002;33(8):724-726.

Chan, Y. S., Cheng, L. N., Wu, J. H., Chan, E., Kwan, Y. W., Lee, S. M. Y., ... & Chan, S. W. (2011). A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (burdock). *Inflammopharmacology*, 19(5), 245-254.

de Oliveira, J. R., de Aguiar Almeida, R. B., Vilela, P. D. G. F., de Oliveira, F. E., da Rocha, R. F., Jorge, A. O. C., & de Oliveira, L. D. (2014). Control of microorganisms of oral health interest with *Arctium lappa* L.(burdock) extract non-cytotoxic to cell culture of macrophages (RAW 264.7). *Archives of oral biology*, 59(8), 808-814.

Ferracane, R., Graziani, G., Gallo, M., Fogliano, V., & Ritieni, A. (2010). Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(2), 399-404.

Kardosova A, Machova E. Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides. *Fitoterapia*.2006;77(5):367-373.

Liu S , Chen K. Isolation and identification of arctiin and arctigenin in leave of burdock(*Arctium lappa* L.)by polyamide column chromatography in combination with HPLC-ESI/MS. *Phytochem Anal*, 2005;16(2):86-89.

Liu S, Li Y, Li S. An experimental research into the anti-aging effects of *Radix Arctii Lappae*.*J T radit Chin Med*. 2005;25(4):296-299.

Park SY, Hong SS, Han XH. Lignans from *Arctium lappa* and their inhibition of LPS-induced nitric oxide production. *Chem Pharm Bull*. 2007;55(1):150-152.

Pereira JV, Bergamo DC, Pereira JO. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. *Braz Dent J*.2005;16(3):192-196.

Vlietinck AJ, DeBruyne T, Apers S. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Planta Med*. 1998;64(2):97-109.

七. **致謝：**屏東縣歸來鄉牛蒡產銷班陳建行班長熱心協助及提供牛蒡植株樣品，真心感謝！