

農業部林業及自然保育署屏東分署

# 黃荊成分研究及其保健活性開發

## 成果報告書

執行機關：國立中興大學

執行單位：國立中興大學 森林學系

計畫主持人：王升陽 森林學系特聘教授兼循環經濟研究學院 院長

共同計畫主持人：曹乃文 循環經濟研究學院特用作物及代謝體學位  
學程 助理教授

中華民國 112 年 12 月 21 日

# 目 錄

成果報告摘要.....	1
一、前言.....	2
二、重要工作與材料方法.....	3
三、結果與討論.....	7
(一) 黃荊葉子精油與純露之萃取標準作業流程.....	7
(二) 黃荊葉子精油活性試驗結果.....	8
1. DPPH 自由基清除能力.....	8
2. 細胞毒殺分析.....	8
3. 抗發炎分析.....	11
4. 抑制黑色素沉澱分析.....	13
5. 抑制脂質油脂生成.....	16
6. 腸道屏障活性分析.....	17
(三) 黃荊葉子精油成分分析結果.....	19
1. 南部.....	19
2. 東部.....	25
3. 中部.....	29
4. 黃荊葉子精油成分在不同地區差異性.....	31
5. 黃荊純露以 SPME 進行 GC-MSS 分析.....	32
6. 定量黃荊乙醇萃取物中牡荊素含量.....	34
(四) 開發黃荊衍生產品.....	35
1. 黃荊溫熱眼罩.....	35
2. 黃荊舒緩按摩油.....	37
四、結論.....	38
五、重要工作甘特圖與預定工作進度表.....	39
六、引用文獻.....	40
期初報告書面審查意見回覆表.....	43
期中報告書面審查意見回覆表.....	45
期末報告書面審查回覆表.....	50

## 成果報告摘要

本計畫完成黃荊精油萃取與活性分析，開發黃荊溫熱眼罩和黃荊舒緩按摩油兩款產品，黃荊之香味的主要成分之一  $\beta$ -caryophyllene 具多樣化活性，如抗發炎、抑制黑色素活性、保護神經保護、作為大麻素受體 2 之拮抗劑等等，證實黃荊確實為地區代表性且具獨特功效植物，精油主要來源為黃荊葉子蒸餾獲得，費工費時，不易短時間獲得大量精油，且市面上未見到有販售黃荊精油，如未來要擴大發展，建議尋找或者規劃可供大量採集枝葉之來源，並可考慮事先製備精油倉儲，可克服加工與銷售之原料來源問題。

## 一、前言

唇形花科(Lamiaceae)牡荊屬(*Vitex*)的黃荊分佈於低海拔 500 公尺以下之海濱或山坡地，黃荊對荒地護坡和風沙防治等有一定作用，是優良的水土保持灌木。黃荊全株皆可入藥。荊條葉性平，微苦、辛，無毒，具有解表化濕、殺蟲、止痛之功效，可治療風寒感冒、急性胃腸炎、久痢不愈等。黃荊葉和枝條的清香有舒緩心情、緩解疲勞、保護血管、使人頭腦清醒等功效。黃荊的根和莖則對呼吸道炎症、慢性支氣管炎、瘧疾及肝炎等疾病有較好治療作用，其精油可以顯著增強巨噬細胞吞噬活性，也可用於鎮咳祛痰。通過實驗表明，黃荊中所含有的精油成分的生物活性有調節內分泌功能、抗腫瘤、抗氧化、抑菌防腐等功效（謝建春等人，2016）。黃荊在農業上也有一定價值，其熱水萃取液是一種高效低毒的農藥，可用於防治農作物害蟲（Meena et al., 2011）。

黃荊的精油主要由  $\alpha$ -pinene、 $\beta$ -pinene、 $\beta$ -caryophyllene、phellandrene、terpinene、sabinene、caryophyllene oxide、1,8-cineole 等多個單萜及倍半萜構成（丁國鈺和胡萍，2020），由我們初步對屏東產黃荊的枝葉精油成分分析的結果發現，主要的成分為 $\beta$ -caryophyllene 佔 34.7%，其次為 $\beta$ -pinene(10.2%)、valencene（5.4%）以及 1,8-Cineole（2.3%）。 $\beta$ -Caryophyllene 為黃荊精油的主成分，含量佔三分之一，研究顯示  $\beta$ -Caryophyllene 具有多樣化的活性，除了已被廣泛運用的抗發炎活性，它也被證明對大麻素受體 2（Cannabinoid receptor 2；CBR2）有顯著的結合活性（Francomano et al., 2019），換句話說， $\beta$ -Caryophyllene 是一種膳食植物大麻素（因為其可與大麻素受體結合），並可透過降低氧化壓力和穩定粒腺體具有神經保護能力。除了 CBR2 之拮抗劑外， $\beta$ -caryophyllene 還被發現可以正向調節 PPAR- $\gamma$ 、TLR 和神經免疫通路，這些可能是與保護神經元損失有關的靶點。從不同植物來源中提取的含有  $\beta$ -caryophyllene 的精油在減輕氧化壓力和粒線體功能障礙後也顯示出有

希望的神經保護作用，因此可開發具功能性的精油產品。關於黃荊非揮發性成分也有一些研究發表，如從黃荊的種子中分離出四種新的酚類化合物，分別是 vitexnegheteroins A–D (1–4)，以及八種已知化合物，同時這些酚類物的抗氧化和抗炎活性也被測試。大多數化合物顯示出很強的 ABTS 自由基清除活性，並且所有測試的化合物也都顯示出抑制 NO 產生活性。由這個研究的結果支持這種可食用芳香植物的傳統用途，並顯示其具可開發為新型抗氧化和抗炎功能食品的潛力。此外，黃荊的成分 isorientin-6''-O-cafate 也被證實具有  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性，而  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制劑 ( $\alpha$ -glucosidase inhibitors) 來控制飯後血糖的平穩，主要在延緩澱粉類食物的分解及吸收 (Hu et al., 2015; 2017)。

本計畫重要工作分列如下：

- (1) 建立黃荊精油指標成分之指紋圖譜及主成分定量。
- (2) 探討黃荊精油之生物活性至少 6 種。
- (3) 黃荊精油衍生產品至少研發 2 項，各 200 份。
- (4) 製定黃荊精油及純露之萃取方法
- (5) 分析不同地區(品系)黃荊精油成分的差異

## 二、重要工作與材料方法

### 1. 精油之製備

將採集之黃荊秤重，並以水蒸餾法萃取精油。試材 200 g 裝入圓底燒瓶中，並加入 1 L 蒸餾水蒸餾，進行水蒸餾法萃取精油，6 hr 後收集精油，並計算精油收率。

## 2. 指標成分分析

GC/MS 分析：精油以乙酸乙酯稀釋為 10  $\mu$ L/mL，所獲得的乙酸乙酯層再利用 Perkinelmer 公司 Clarus 690 氣相層析儀配合 SQ8S GC/MS 質譜儀進行鑑定。所使用之分離管柱為 COL-Elite 5MS，長度 30 m，內徑 0.25 mm，膜厚 0.25  $\mu$ m，載流氦氣的流速 (Flow) 1 mL/min，分流比 (Splitting ratio) 1:60，注射孔溫度 240°C，離子化電壓 70 eV，質譜範圍 (Mass range) m/z 為 50-650 a.m.u.。分析所使用的起始溫度為 45°C，以 3°C/min 的速度升溫至 180°C，再以 10°C/min 升溫至 280°C，並維持 5 min。成分鑑定上使用 National Institute of Standards and Technology (NIST) V.2.0 和 Wiley 7.0 資料庫的質譜比對，再進一步以標準品比對確認。此外，也使用 Kovat's indices (KI) 進行確認，黃荊純露之揮發性成分則以 SPME 分析條件採用前處理預熱 10 min，吸附時間為 10 min，脫附時間為 3 min。

## 3. 分析黃荊 6 種活性試驗

(1) 抗氧化分析 DPPH 自由基清除能力是用來評估是否具有抗氧化能力的一種簡單的試驗。DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 是一種穩定的自由基，當其溶於甲醇或乙醇中會呈現藍紫色，加入精油樣品後，如果會和 DPPH 自由基直接反應，進而抑制 DPPH 自由基的氧化連鎖反應，這時候呈現藍紫色的 DPPH 溶液會轉成澄清的黃色，這就表示加入的黃荊成分具有捕捉 DPPH 自由基的能力，而呈現的顏色愈淡，則表示捕捉 DPPH 自由基的能力愈強，也就表示精油樣品的抗氧化能力越好。將黃荊成分做序列稀釋並與緩衝溶液及 DPPH 在避光下混合反應 30 min，反應後偵測其 530 nm 的吸光值。

(2) 抗發炎分析：抑制一氧化氮自由基 (NO) 的生成為評估抗發炎活性的主要方法之一，其分析原理為利用 Lipopolysaccharide (LPS) 刺激老鼠巨噬

細胞 RAW264.7，模擬發炎反應時，由誘導型一氧化氮 (NO) 生成酵素 (inducible nitric oxidesynthase ; iNOS) 產生大量 NO 自由基，並利用黃荊成分進行清除 NO 自由基的能力來評估成分是否具有抗發炎活性。試驗方法為取 RAW264.7 小鼠巨噬細胞植入 96 well 組織培養盤中，細胞濃度為  $1 \times 10^5$  cells/well，細胞貼覆於培養盤後隨即添加不同稀釋倍數的精油樣品，培養 1 hr 後添加 LPS ( $1.0 \mu\text{g/mL}$ )，再培養 24 hr 後，進行 NO 測定試驗。利用 Griess 法進行 NO 測定試驗，將上述反應後之上清液取  $100 \mu\text{L}$ ，加入等量的 Griess 試劑(0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine in  $\text{H}_2\text{O}$  與 1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid 混合溶液)，偵測其 540 nm 的吸光值。由於 NO 的半衰期很短，迅速會被氧化成 nitrite 的量，再進一步氧化成為 nitrate，因此在短時間內可使用 Griess reagent 測定 nitrite 的量，來間接表示 NO 的釋放量。

- (3) 細胞毒殺分析：以 MTT assay 又稱 Tetrazolium assay 來測試精油樣品對細胞的毒性。此方法利用呈色來測定細胞粒腺體的琥珀酸脫氫酶活性，存活細胞數量與所測的酵素活性表現呈正相關。試驗步驟為將細胞植入 96 well 培養盤中，待細胞貼覆於培養盤後隨即添加不同稀釋倍數的精油樣品，培養 24 及 48 hr 後，將上清液完全除去，加入含有  $500 \mu\text{g/mL}$  MTT (3-(4,5- Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)之培養液  $100 \mu\text{L}$ ，置於培養箱培反應 2 hr 後，再抽掉上清液並加入  $100 \mu\text{L}$  DMSO 將細胞及其內結晶溶解，利用酵素免疫分析儀測量波長 570 nm 之吸光值。因活細胞粒線體內的琥珀酸脫氫酶仍具有活性，能使黃色的 MTT 還原而成藍紫色 formazon 結晶，再用 DMSO 均勻溶解，當藍紫色越深表示細胞存活量越多。

- (4) 抑制黑色素沉澱分析：試驗步驟為將 B16 小鼠黑色素瘤細胞植入 6 wells 的培養盤中，細胞濃度為  $2 \times 10^5$  cells/well，待細胞貼覆後，加入精油樣

品及 40 mM 誘導劑毛喉素 (forskolin)，培養 72 hr 後，抽掉上清液並加入 1 N 的 NaOH 溶液，60°C 加熱 1 hr 後以酵素免疫分析儀測量其吸光值。

(5) 抑制脂質油脂生成分析：分析原理是在脂肪細胞分化成熟的過程中，同時加入黃荊成分進行培養，最後測量所累積的脂質含量。步驟為將小鼠脂肪前驅細胞 (3T3-L1) 培養於 DMEM 含 10% 小牛血清 (bovine serum) 的培養液中，待細胞長滿後 2 天加入分化劑誘發其分化，分化劑包含 1 ug/mL 胰島素，0.5 mM 異丁基甲基黃嘌呤及 1 M 皮質類固醇，4 天後，將培養液置換為含 10% FBS 之 DMEM，再經過 4 天的培養即可得成熟脂肪細胞；接著將細胞固定與染色：先去除上清液後，以 4% 三聚甲醛固定 1 小時，以去離子水清洗數次後再以 0.5% Oil Red O 染色 15 分鐘，此時細胞內脂質油滴呈現深紅色，可藉由顯微鏡觀察脂質堆積情形。最後，以異丙醇於室溫下萃取出細胞中所含之 Oil Red O 染劑，利用酵素免疫分析儀偵測波長 510 nm 之吸光值即可量化細胞內脂質含量，進而推算出不同處理組對於影響脂質堆積量的效果。

(6) 腸道屏障分析：試驗步驟為將 Caco-2 人類結腸癌細胞植入特殊的 12 well 培養盤中，待貼覆後加入黃荊成分及誘導發炎之藥物，培養 27 天後，以 Millicell-ERS voltohmmeter 測量其 TEER (Transepithelial Electrical Resistance) 值，TEER 是用來評估細胞單層膜的完整性，可藉此判斷腸膜是否因發炎而導致不完整。另外，由於頂層的培養基會額外加入螢光的化合物，培養 27 天後，取底層的培養基利用螢光的偵測來評估腸膜是否因為發炎而改變其通透性。

#### 4. 黃荊精油衍生產品開發

將根據生物活性試驗的結果，開發眼罩、按摩油等衍生產品，各 200 份。

#### 5. 製定黃荊精油及純露之萃取方法

建立以蒸餾設備取得黃荊葉精油之標準作業流程，評估製備精油所需要

之樣品重量規格及其精油收率、純露收率等。

#### 6. 分析不同地區(品系)黃荊精油成分的差異性

蒐集台灣各地區可取得之黃荊樣品並萃取葉子精油，經由 GC-MS 分析其主成分並比較各地區黃荊葉子精油成分及含量百分比差異性。

### 三、結果與討論

#### (一) 黃荊葉子精油與純露之萃取標準作業流程

黃荊取其葉子稱重後置入水蒸餾設備內進行蒸餾，以 100°C 蒸餾 6 小時，黃荊葉子精油收率計算約為 0.2%~0.3% 左右，每 10 公斤鮮葉收集 20 公升純露，採用 300 公升規模之水蒸氣蒸餾設備，每次可填料約 20 公斤，收穫 40 ml 的黃荊葉子精油以及 40 公升黃荊純露，蒸餾所需水源與天然氣則需充足供應。

採集地區	葉子精油收率 (%)
高雄六龜	0.29%
屏東潮州	0.22%
屏東恆春	0.28%
台東鯉魚山	0.16%
花蓮瑞穗	0.25%
苗栗通宵	0.17%



## (二) 黃荊葉子精油活性試驗結果

### 1. DPPH 自由基清除能力

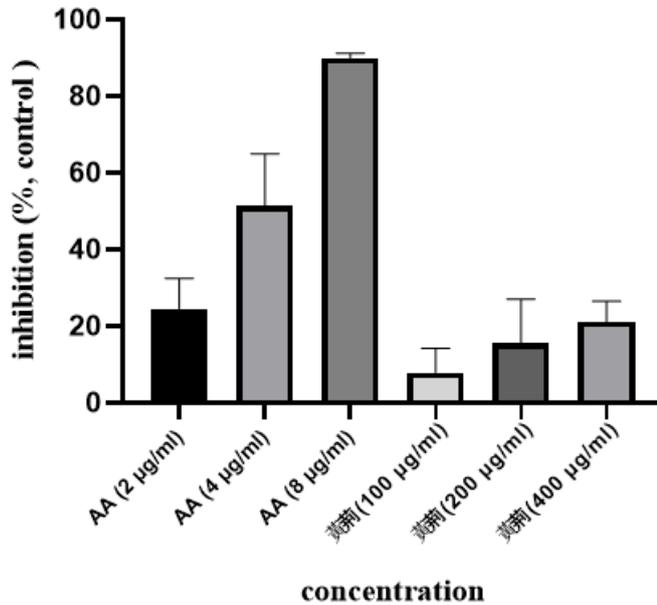


圖 1. 黃荊葉子精油 DPPH 自由基清除能力。

濃度 100 µg/ml 的黃荊葉子精油對 DPPH 自由基的清除率為 7.9%、200 µg/ml 的黃荊葉子精油清除率為 15.5%，400 µg/ml 的黃荊葉子精油清除率為 21.1%，而 positive control 組抗壞血酸(AA) 對 DPPH 自由基清除率 IC<sub>50</sub> 為 4.17 µg/ml，DPPH 自由基清除能力優於黃荊精油。試驗結果顯示，由低濃度 100 µg/ml 到高濃度 400 µg/ml，黃荊葉子精油的 DPPH 自由基清除能力均低於 20%，推測黃荊葉子精油無自由基清除效果，不具有抗氧化活性。

### 2. 細胞毒殺分析

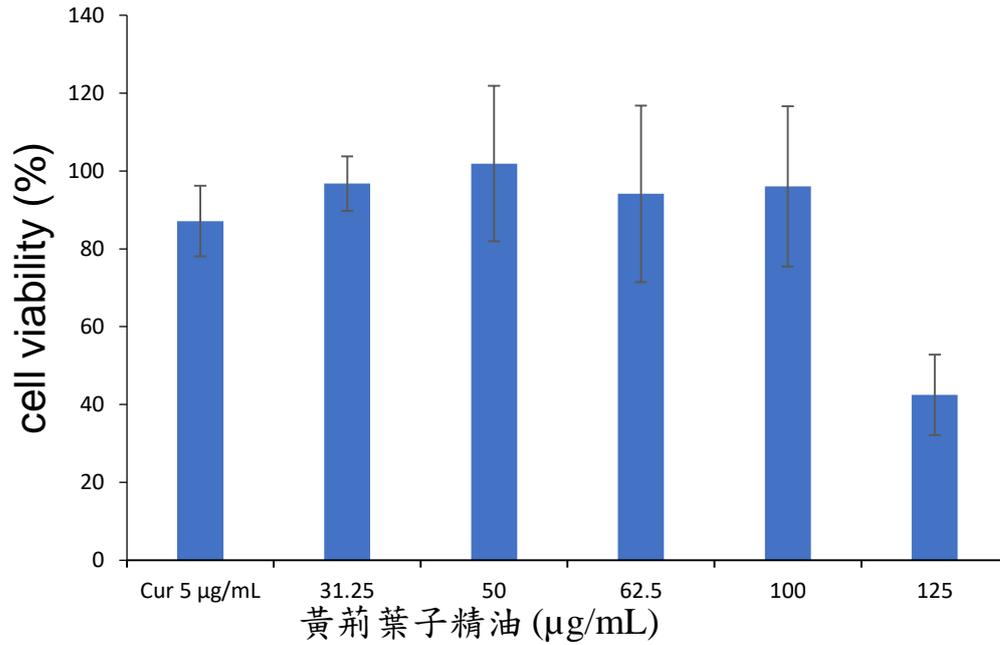


圖 2. 黃荊葉子精油對 RAW cell 之細胞毒殺試驗結果。

黃荊葉子精油加入小鼠巨噬細胞(RAW cell)培養 24 小時後，黃荊葉子精油濃度 100 µg/mL 達 96.0%細胞存活率，濃度增加到 125 µg/mL 時細胞存活率降為 42.5%，positive control 組薑黃素(curcumin) 濃度 5 µg/mL 具有 87.1%細胞存活率。結果顯示黃荊葉子精油在濃度 125 µg/mL 以上時才有細胞毒殺效果。

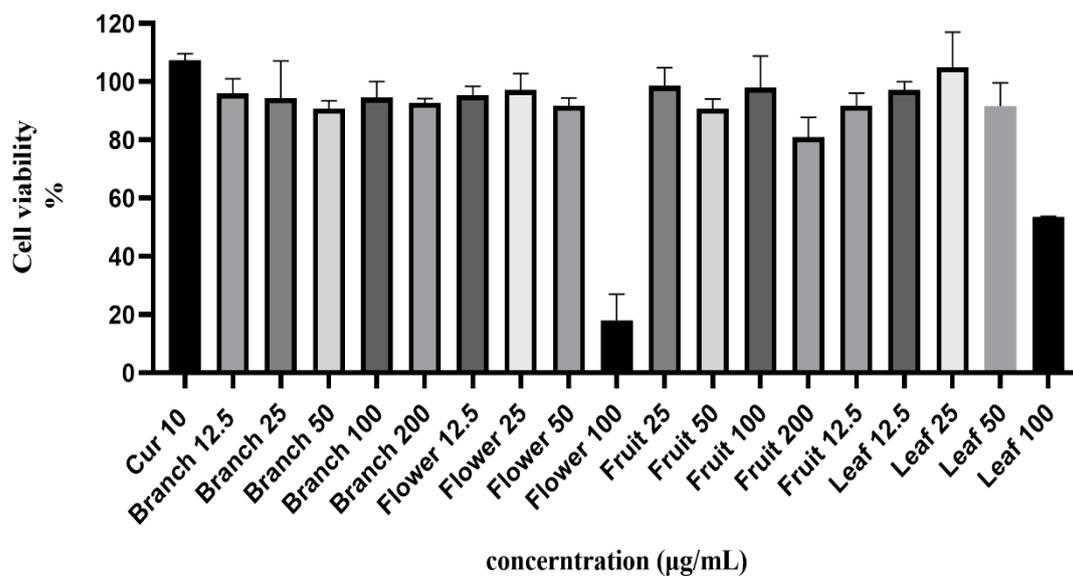


圖 3. 黃荊枝條、花、果實和葉乙醇萃取物對 RAW cell 之 MTT 結果。

另外以乙醇萃取黃荊葉子、黃荊枝條、黃荊花和黃荊果實萃取物分析對 RAW cell 細胞毒性效果，結果顯示黃荊枝條和果實的乙醇萃取物由濃度 12.5 µg/mL 到 200 µg/mL 不具細胞毒性，細胞存活率均高於 80%，黃荊花和葉的萃取物則是在濃度 12.5 µg/mL 到 50 µg/mL 不具細胞毒性，細胞存活率高於 80%。

### 3. 抗發炎分析

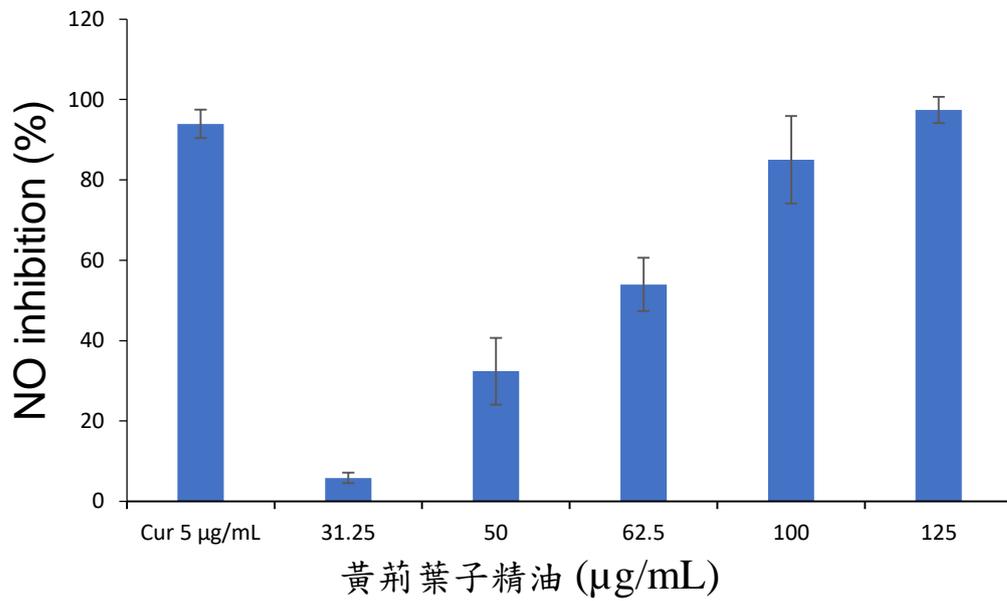


圖 4. 黃荊葉子精油對 NO 抑制結果。

以黃荊葉子精油對 RAW cell 進行 NO 抑制實驗，對照組薑黃素(curcumin) 在 5 µg/mL 達 93.9%NO 抑制率，黃荊葉子精油濃度在 100 µg/mL 有 85.0% NO 抑制率，在濃度 125 µg/mL 有 97.4% NO 抑制率，惟此濃度已具細胞毒殺性。結

果

顯示黃荊葉子精油對於 NO 的抑制效果不明顯。

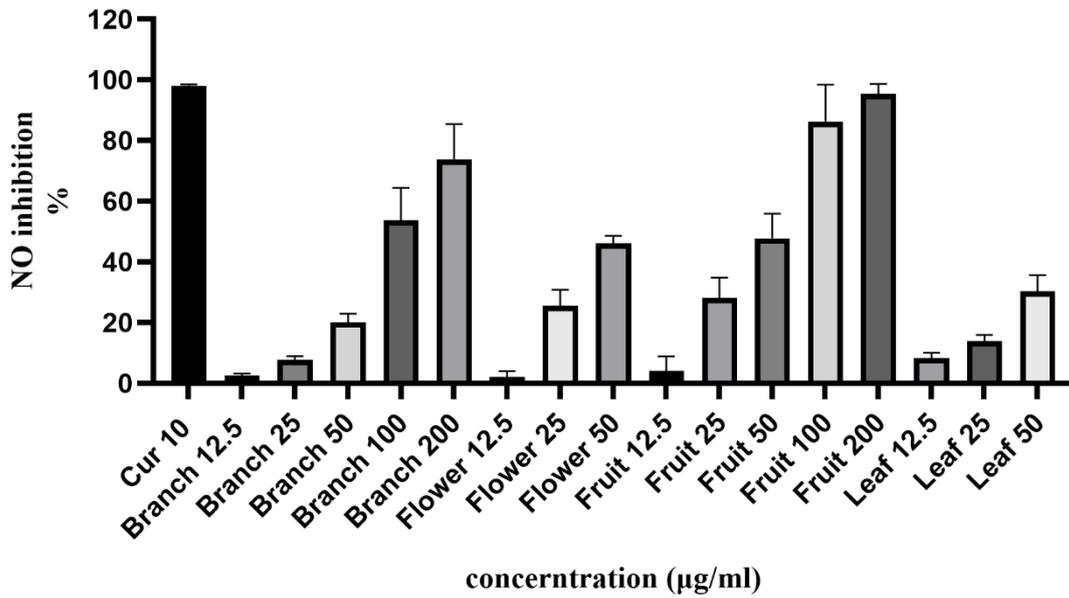


圖 5. 黃荊乙醇萃取物對 NO 抑制結果。

(A) 黃荊枝條 (B) 黃荊花 (C) 黃荊果實 (D) 黃荊葉子

取黃荊葉子、黃荊枝條、黃荊花和黃荊果實之乙醇萃取物進行 NO 抑制活性實驗，結果顯示，4 種萃取物以黃荊花乙醇萃取物效果最好，在 50 µg/mL 時 NO 抑制率為 46.2 %，表現次佳為黃荊葉子乙醇萃取物，濃度 50 µg/mL 時 NO 抑制率為 34.6 %，黃荊枝條乙醇萃取物和黃荊果實乙醇萃取物效果較差，IC<sub>50</sub> 值分別為濃度 124.4 µg/mL 和 152.4 µg/mL。

#### 4. 抑制黑色素沉澱分析

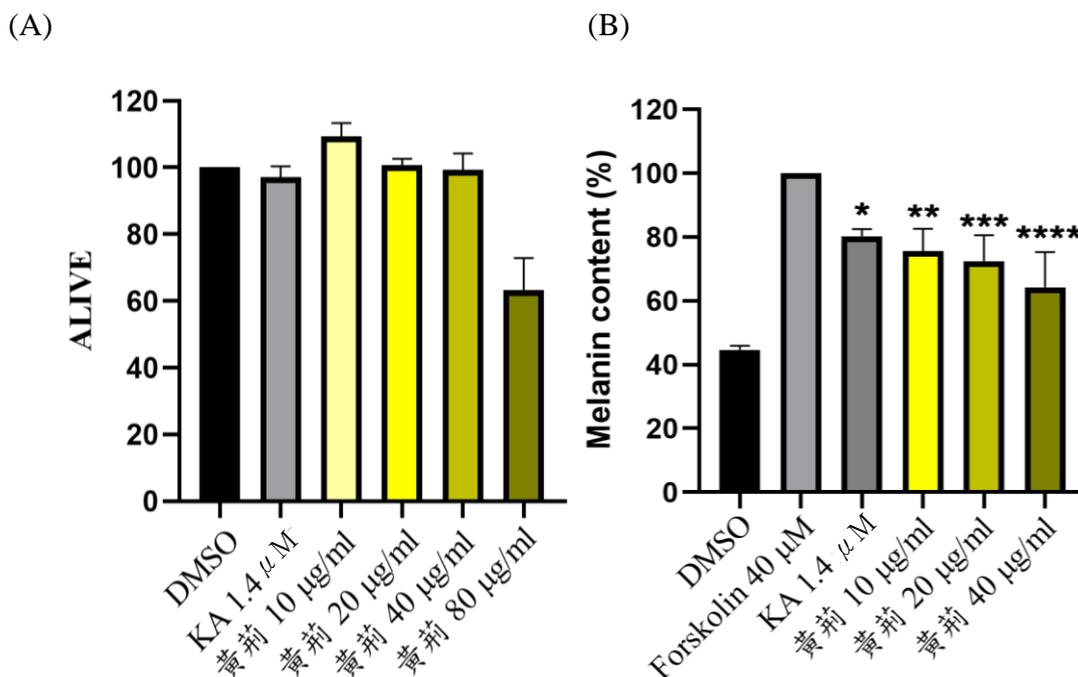
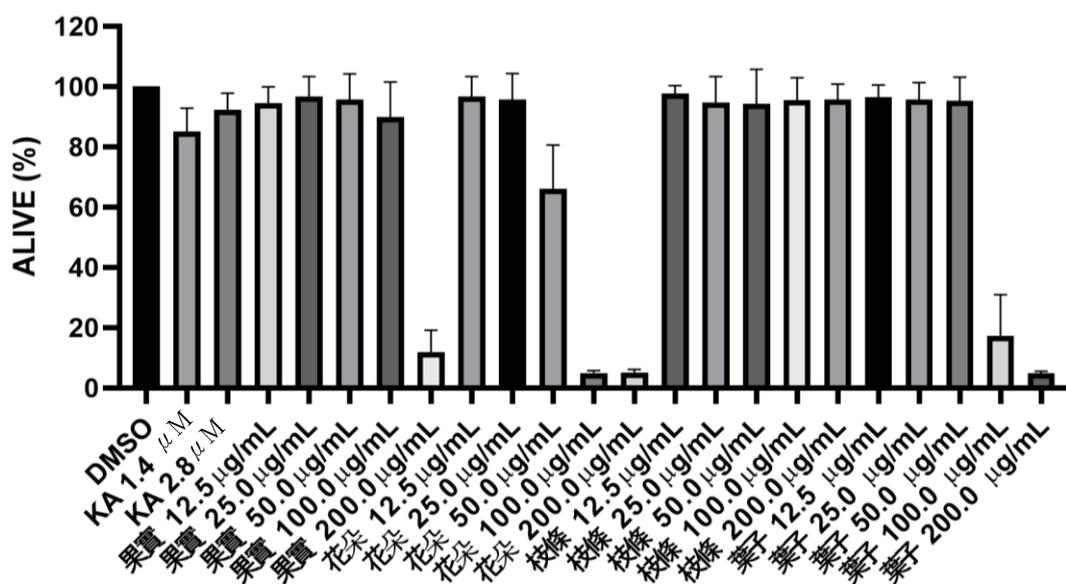


圖 6. 黃荊葉子精油抑制黑色素沉澱結果：(A) 黃荊葉子精油對 B16F10 細胞存活率影響 (B) 黃荊葉子精油對黑色素含量影響。

#### (A) 黃荊乙醇萃取物對 B16F10 細胞存活率



(B)黃荊乙醇萃取物對黑色素含量影響

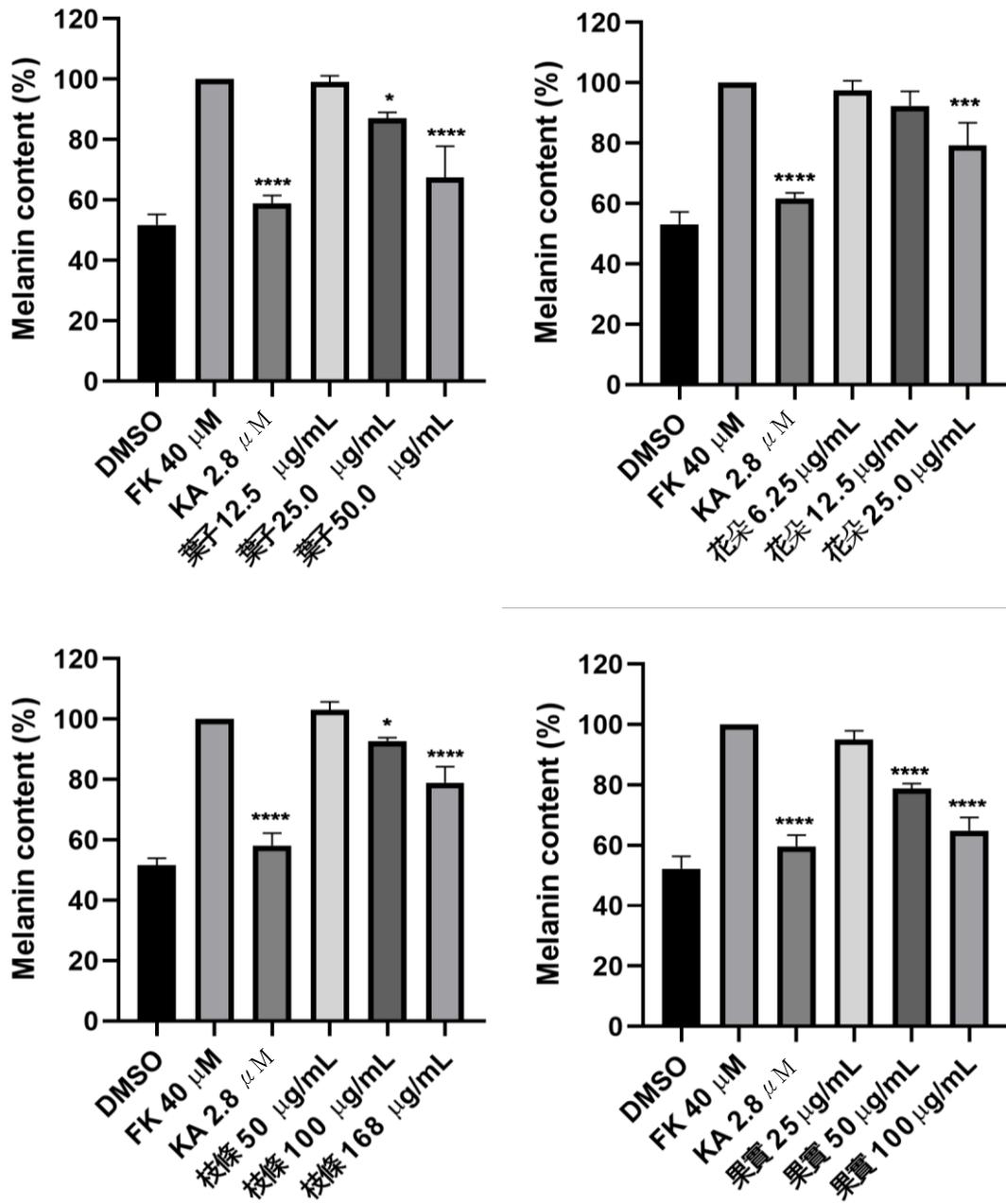


圖 7. 黃荊乙醇萃取物抑制黑色素沉澱結果：(A) 黃荊黃荊乙醇萃取物對 B16F10 細胞存活率影響 (B)黃荊黃荊乙醇萃取物對黑色素含量影響。

經 forskolin 誘導小鼠黑色素瘤細胞(B16F10)產生黑色素，添加黃荊葉子精油(圖 6)與經過乙醇萃取抽乾的黃荊葉子、黃荊枝條、黃荊花和黃荊果實萃取物(圖 7)，結果顯示黃荊葉子精油在 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度即可有效抑制黑色素含量至 75.57%，抑制效果優於 positive control 麴酸(kojic acid) 的 80.27%，而在濃度 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抑制黑色素含量分別為 72.47% 及 64.26%，濃度達 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  時顯示對 B16F10 細胞有毒殺效果，細胞存活率降為 63.27%。由實驗結果得知，黃荊葉子精油具有極佳的抑制黑色素沉澱效果。黃荊乙醇萃取物顯示，黃荊花朵、葉子和果實在高濃度對 B16F10 細胞有毒殺效果，而在不具細胞毒殺性的濃度內，表現最佳的是黃荊葉子乙醇萃取物，在 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度下，抑制黑色素含量至 67.54%，其次為黃荊花乙醇萃取物，在 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度下，抑制黑色素含量至 79.26%，且黃荊花乙醇萃取物在提高濃度後，顯現對 B16F10 細胞毒殺性，故只進行到 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度，黃荊果實之乙醇萃取物在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度下，抑制黑色素含量至 64.90%，枝條則不具顯著抑制黑色素效果。

## 5. 抑制脂質油脂生成

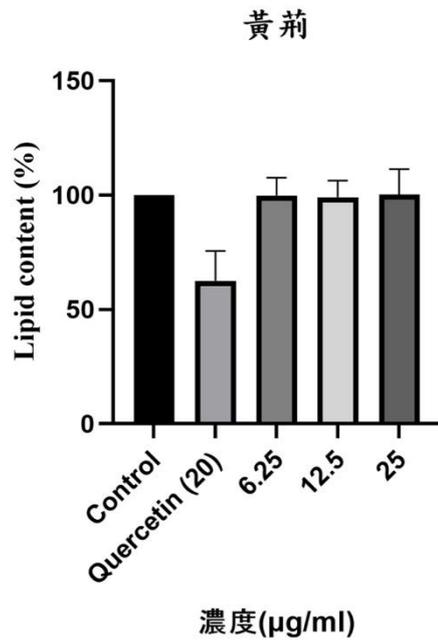
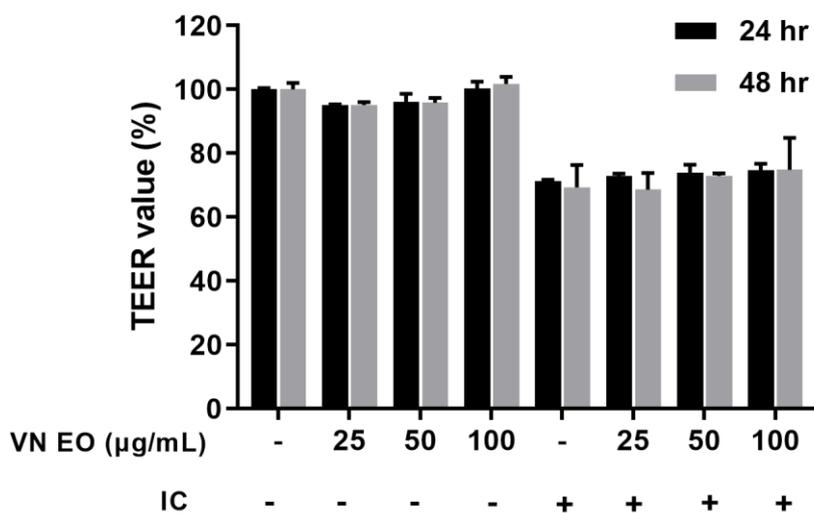


圖 8. 黃荊葉子精油抑制脂肪細胞試驗。

經由 3T3-L1 脂肪細胞實驗模式，結果顯示黃荊葉子精油在濃度 6.25 μg/mL、12.5 μg/mL 以及 25 μg/mL 的濃度下，黃荊精油相較於正對照組 (Quercetin) 均無抑制脂肪效果，Quercetin 濃度 20 μg/mL 則有 36.63% 脂肪細胞抑制率。

## 6. 腸道屏障活性分析

(A)



(B)

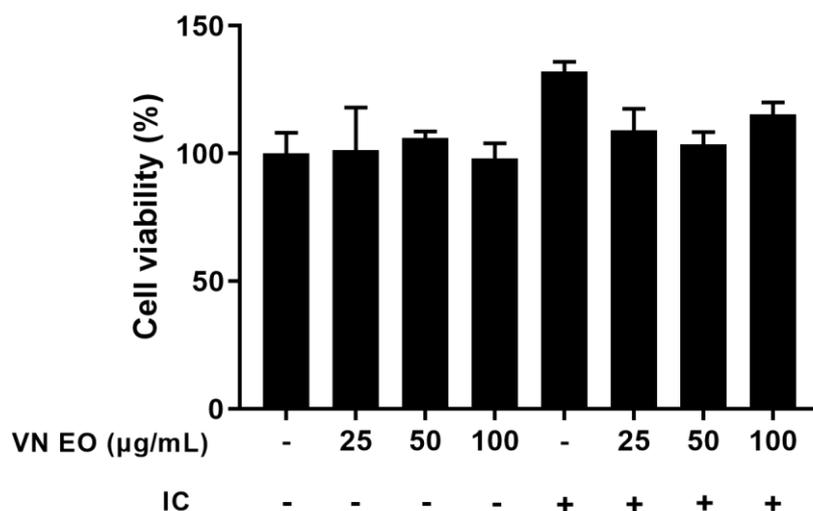


圖 9. 黃荊葉子精油腸道屏障活性試驗。(A) 黃荊葉子精油對 TEER 的影響 (B) 黃荊葉子精油對 Caco-2 細胞存活率之影響

經由腸道屏障結果顯示，黃荊葉子精油的 TEER 值於 24 和 48 小時與對照組無顯著差異。而利用炎症雞尾酒(Inflammatory cocktail, IC)誘導發炎 24 小時後，能將 TEER 值降低至  $71.3 \pm 0.5\%$ ，與對照組具有顯著差異，表示細胞單層通透性增加。但同時利用黃荊葉子精油進行治療，結果顯示黃荊葉子精油的 TEER 值

和誘導組無顯著差異，表明黃荊葉子精油無法增加腸道屏障，亦不能恢復誘導所導致之腸道屏障功能障礙。而黃荊葉子精油對 Caco-2 細胞加藥 48 小時後，誘導組的細胞存活率較對照組提高 32.1%，顯示利用 IC 誘導 Caco-2 細胞不具細胞毒性，而細胞用 25、50 和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之黃荊葉子精油進行治療後亦不會降低細胞存活率。

(三) 黃荊葉子精油成分分析結果

1. 南部

(1) 採集地點：高雄六龜

樣品編號：vne-l\_20230724\_no2

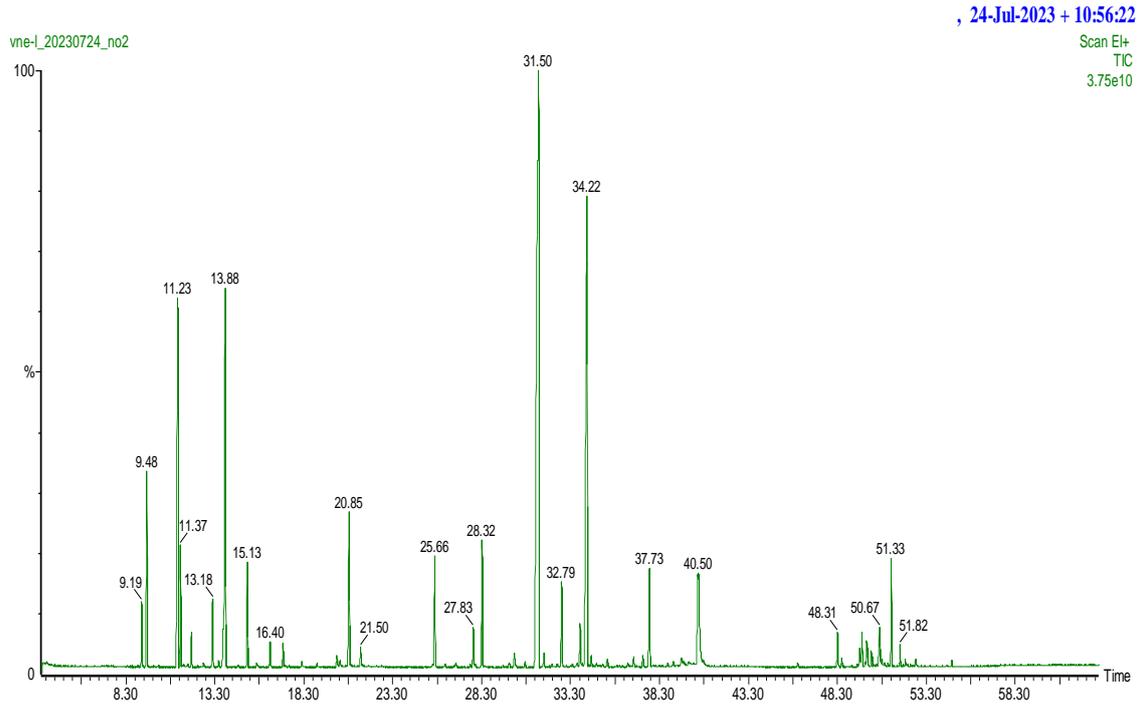


圖 10. 高雄六龜黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 1. 高雄六龜黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.19	3-Thujene	1.02%	930
2	9.48	$\alpha$ -Pinene	3.44%	937
3	11.23	Sabinen	9.88%	975
4	11.37	$\beta$ -Pinene	1.64%	978
5	11.99	$\beta$ -Myrcene	0.53%	990
6	13.18	$\alpha$ -Terpinene	1.15%	1016
7	13.52	p-Cymene	0.12%	1024
8	13.88	Eucalyptol	8.81%	1033
9	15.13	$\gamma$ -Terpinene	1.83%	1059
10	16.40	$\alpha$ -Terpinolene	0.44%	1085
11	17.13	Linalool	0.42%	1098
12	20.85	Terpinen-4-ol	3.25%	1178
13	21.50	$\alpha$ -Terpineol	0.42%	1191
14	25.66	Lavandulyl acetate	2.03%	1282
15	27.83	$\delta$ -Eiemene	0.74%	1331
16	28.32	$\alpha$ -Terpinyl acetate	2.46%	1343
17	30.15	$\beta$ -Elemen	0.33%	1384
18	31.50	$\beta$ -Caryophyllene	29.11%	1416
19	31.80	$\gamma$ -Elemene	0.36%	1423
20	32.79	Humulene	1.77%	1448
21	33.84	Germacrene D	0.85%	1473
22	34.22	Eremophilene	15.05%	1482
23	37.73	Caryophyllene oxide	2.11%	1572
24	40.50	$\beta$ -Eudesmol	4.75%	1646

(2) 採集地點：屏東潮州

樣品編號：vne-l\_20230725\_no11

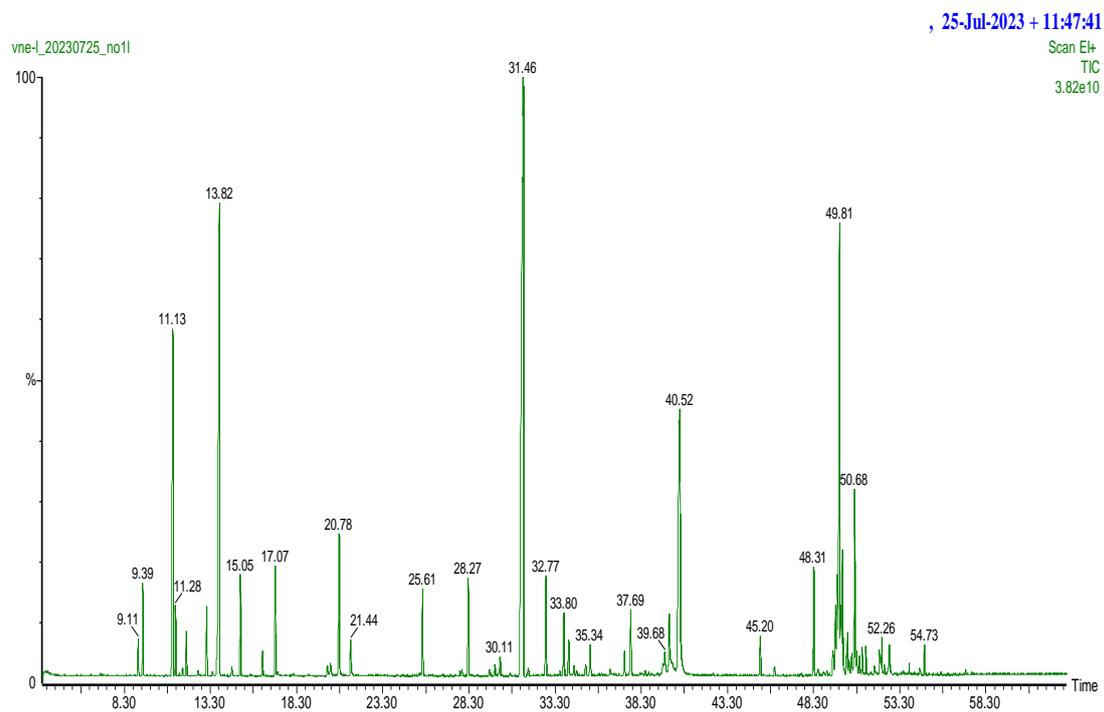


圖 11. 屏東潮州黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 2. 屏東潮州黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.11	3-Thujene	0.45%	928
2	9.39	$\alpha$ -Pinene	1.22%	935
3	11.13	Sabinen	6.45%	974
4	11.28	$\beta$ -Pinene	0.85%	976
5	11.90	$\beta$ -Myrcene	0.58%	989
6	13.09	$\alpha$ -Terpinene	0.94%	1014
7	13.82	Eucalyptol	9.76%	1031
8	15.05	$\gamma$ -Terpinene	1.47%	1058
9	16.32	$\alpha$ -Terpinolene	0.37%	1083
10	17.08	Linalool	1.60%	1097
11	20.78	Terpinen-4-ol	2.49%	1177
12	21.44	$\alpha$ -Terpineol	0.64%	1190
13	25.61	Lavandulyl acetate	1.26%	1281
14	27.91	$\delta$ -Eiemene	0.11%	1333
15	28.28	$\alpha$ -Terpinyl acetate	1.52%	1342
16	29.80	$\beta$ -Bourbonene	0.20%	1376
17	30.11	$\beta$ -Elemen	0.35%	1383
18	31.46	$\beta$ -Caryophyllene	24.32%	1415
19	31.75	$\beta$ -Copaene	0.18%	1422
20	32.77	Humulene	1.71%	1447
21	33.80	Germacrene D	1.07%	1472
22	34.39	Eremophilene	0.15%	1486
23	37.69	Caryophyllene oxide	1.14%	1571
24	39.93	Hinesol	2.14%	1630
25	40.52	$\beta$ -Eudesmol	10.21%	1646

(3) 採集地點：屏東恆春

樣品編號：vne-l\_20230724\_no5

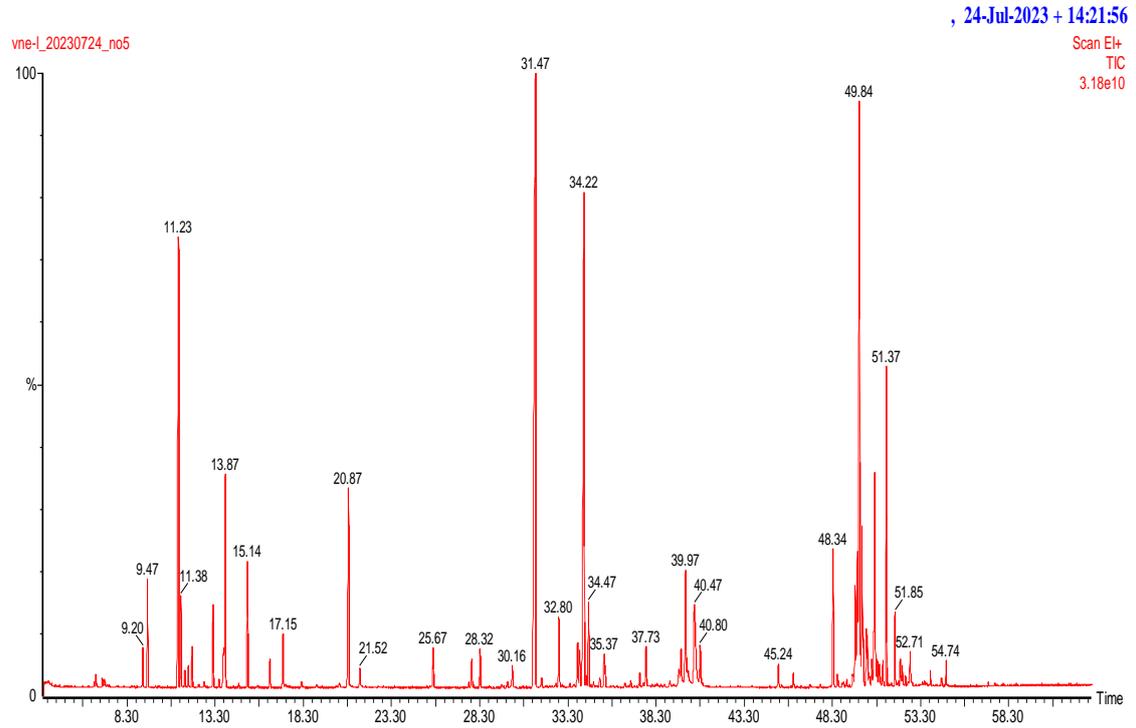


圖 12. 屏東恆春黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 3. 屏東恆春黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.20	3-Thujene	0.47%	930
2	9.47	$\alpha$ -Pinene	1.36%	937
3	11.23	Sabinen	8.75%	976
4	11.38	$\beta$ -Pinene	1.06%	978
5	13.18	$\alpha$ -Terpinene	1.05%	1017
6	13.52	p-Cymene	0.10%	1024
7	13.87	Eucalyptol	3.50%	1032
8	15.14	$\gamma$ -Terpinene	1.69%	1060
9	16.41	$\alpha$ -Terpinolene	0.38%	1085
10	17.15	Linalool	0.73%	1098
11	20.87	Terpinen-4-ol	3.30%	1178
12	21.52	$\alpha$ -Terpineol	0.33%	1191
13	25.67	Lavandulyl acetate	0.51%	1282
14	27.85	$\delta$ -Eiemene	0.42%	1332
15	29.85	$\beta$ -Bourbonene	0.11%	1378
16	30.16	$\beta$ -Elemen	0.38%	1384
17	31.47	$\beta$ -Caryophyllene	18.53%	1415
18	31.81	$\gamma$ -Elemene	0.18%	1424
19	32.80	Humulene	1.07%	1448
20	33.86	Germacrene D	0.72%	1474
21	34.22	Eremophilene	10.59%	1482
22	34.47	$\beta$ -Selinene	1.28%	1488
23	37.73	Caryophyllene oxide	0.65%	1572
24	39.97	Hinesol	2.82%	1631
25	40.47	$\beta$ -Eudesmol	2.83%	1645

2. 東部

(4) 採集地點：台東鯉魚山

樣品編號：vne-l\_20230615\_no5

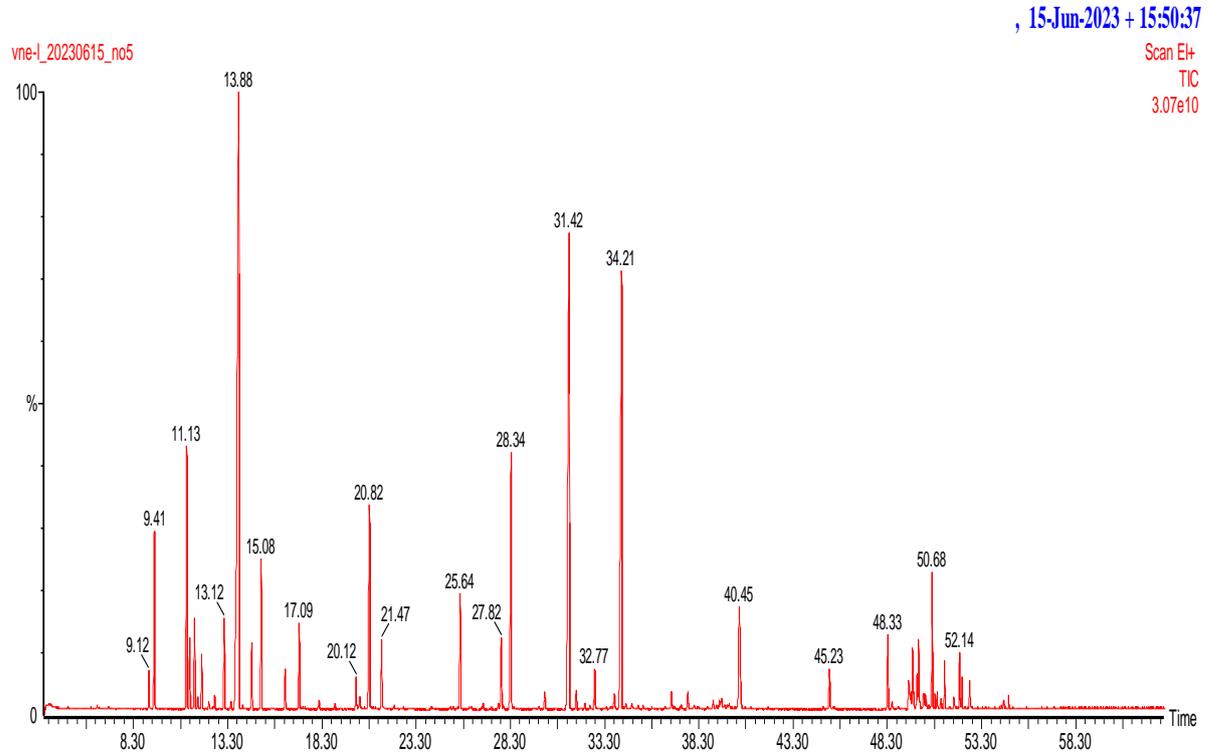


圖 13. 台東鯉魚山黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 4. 台東鯉魚山黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.41	$\alpha$ -Pinene	2.88%	935
2	11.13	Sabinene	4.67%	973
3	11.54	$\beta$ -Pinene	1.67%	982
4	11.92	$\beta$ -Myrcene	0.82%	989
5	13.12	$\alpha$ -Terpinene	1.51%	1015
6	13.47	<i>p</i> -Cymene	0.14%	1023
7	13.88	Eucalyptol	21.97%	1033
8	15.08	$\gamma$ -Terpinene	2.51%	1058
9	16.35	$\alpha$ -Terpinolene	0.68%	1083
10	17.09	Linalool	1.41%	1097
11	20.82	Terpinen-4-ol	4.29%	1177
12	21.47	$\alpha$ -Terpineol	1.24%	1190
13	25.64	Lavandulyl acetate	1.96%	1282
14	27.82	$\delta$ -Elemene	1.24%	1331
15	28.34	$\alpha$ -Terpinyl acetate	5.27%	1343
16	30.13	$\beta$ -Elemen	0.33%	1384
17	31.42	$\beta$ -Caryophyllene	14.18%	1414
18	31.79	$\gamma$ -Elemene	0.34%	1423
19	32.77	Humulene	0.74%	1447
20	33.82	Germacrene D	0.33%	1473
21	34.21	Eremophilene	12.17%	1482
22	40.45	$\beta$ -Eudesmol	3.12%	1644

(5) 採集地點：花蓮瑞穗

樣品編號：vne-l\_20230620\_no0

, 20-Jun-2023 + 14:04:59

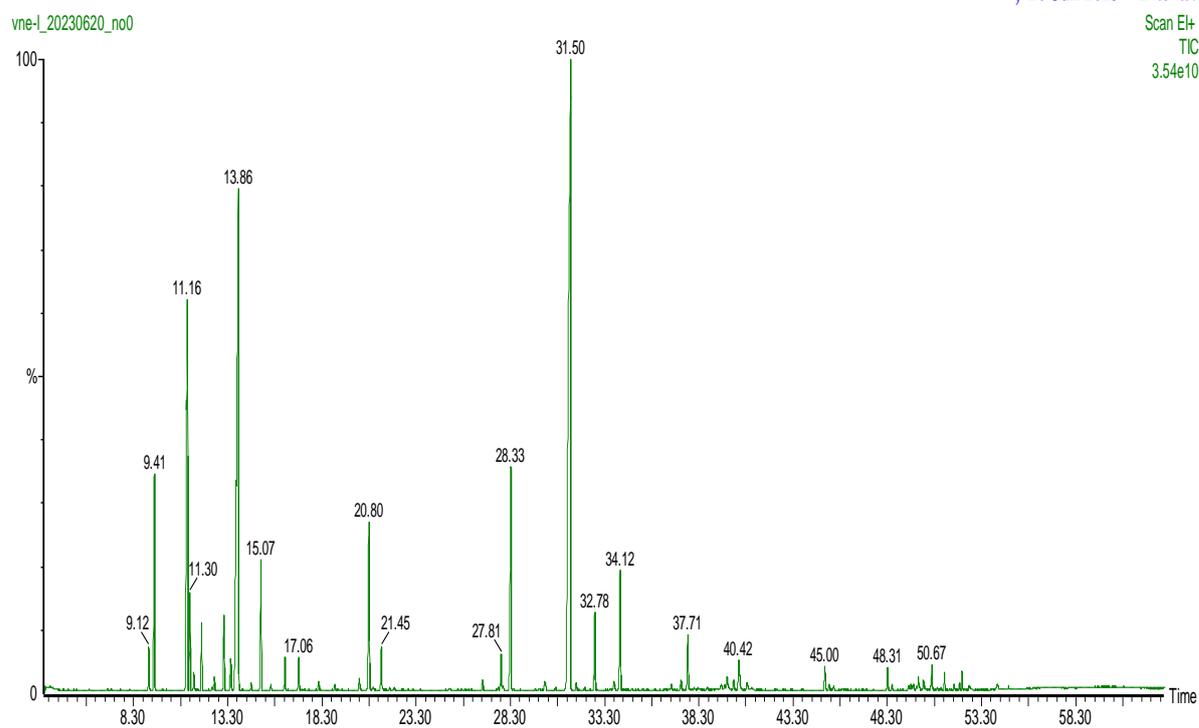


圖 14. 花蓮瑞穗黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 5. 花蓮瑞穗黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.41	$\alpha$ -Pinene	4.25%	935
2	11.16	Sabinen	11.33%	974
3	11.91	$\beta$ -Myrcene	1.13%	989
4	13.11	$\alpha$ -Terpinene	1.40%	1015
5	13.45	p-Cymene	0.74%	1023
6	13.86	Eucalyptol	20.76%	1032
7	15.07	$\gamma$ -Terpinene	2.53%	1058
8	16.33	$\alpha$ -Terpinolene	0.61%	1083
9	17.07	Linalool	0.65%	1097
10	20.80	Terpinen-4-ol	4.03%	1177
11	21.45	$\alpha$ -Terpineol	0.91%	1190
12	27.81	$\delta$ -Eiemene	0.72%	1331
13	28.33	$\alpha$ -Terpinyl acetate	5.50%	1343
14	30.13	$\beta$ -Elemene	0.28%	1384
15	31.50	$\beta$ -Caryophyllene	31.35%	1416
16	31.79	$\gamma$ -Elemene	0.16%	1423
17	32.78	Humulene	1.67%	1448
18	33.81	Germacrene D	0.23%	1472
19	34.12	Eremophilene	2.77%	1480

3. 中部

(6) 採集地點：苗栗通宵

樣品編號：vne-l\_20231005\_d203

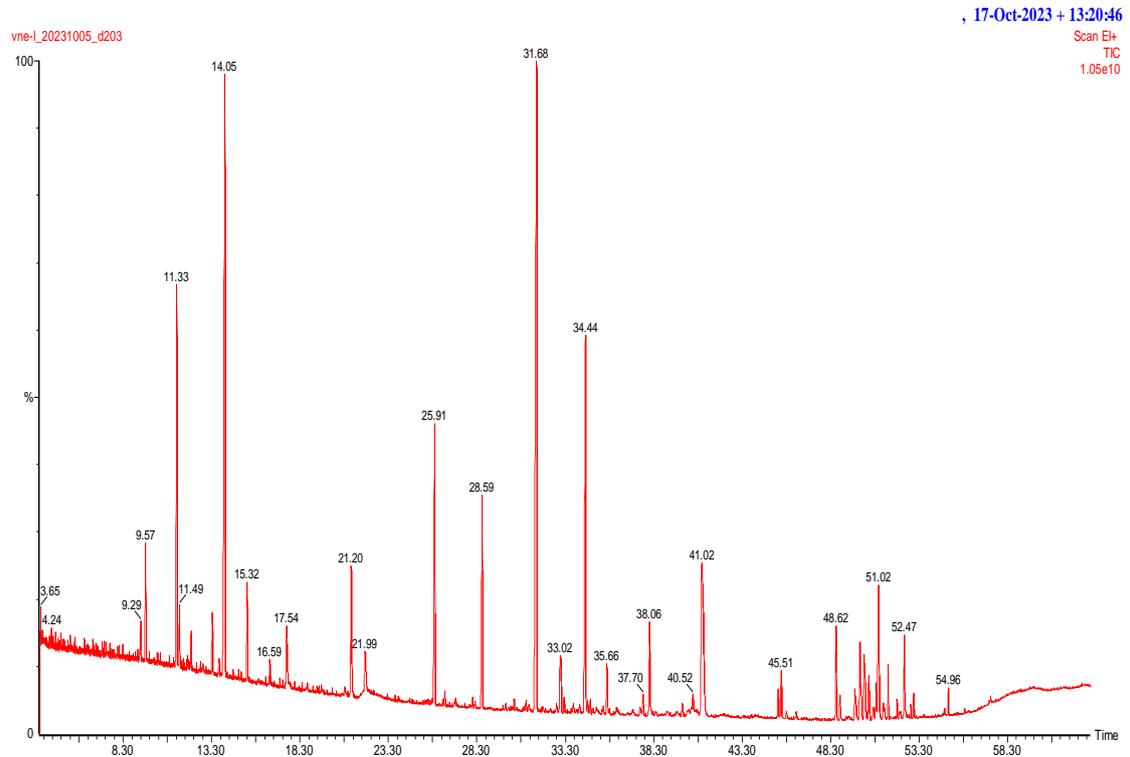


圖 15. 苗栗通宵黃荊葉子精油 GC-MS 層析圖

表 6. 苗栗通宵黃荊葉子精油 GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO	RT	NAME	Area%	KI 值
1	9.29	3-Thujene	0.64%	932
2	9.57	$\alpha$ -Pinene	1.89%	939
3	11.33	Sabinen	6.80%	978
4	11.49	$\beta$ -Pinene	0.98%	981
5	12.14	$\beta$ -Myrcene	0.57%	993
6	13.34	p-Cymene	1.08%	1020
7	14.05	Eucalyptol	14.85%	1036
8	15.32	$\gamma$ -Terpinene	1.76%	1063
9	17.55	Linalool	1.87%	1107
10	21.20	Terpinen-4-ol	3.10%	1185
11	21.99	$\alpha$ -Terpineol	2.00%	1200
12	25.91	Lavandulyl acetate	5.30%	1287
13	28.60	$\alpha$ -Terpinyl acetate	4.38%	1349
14	31.68	$\beta$ -Caryophyllene	19.20%	1420
15	33.02	Humulene	1.94%	1454
16	34.44	Eremophilene	8.64%	1487
17	35.66	$\delta$ -Cadinene	0.96%	1518
18	38.06	Caryophyllene oxide	2.06%	1580
19	41.02	$\beta$ -Eudesmol	7.69%	1660

#### 4. 黃荊葉子精油成分在不同地區差異性

分析高雄六龜、屏東潮州、屏東恆春、台東鯉魚山、花蓮瑞穗、苗栗通宵等 6 處採集地點之黃荊葉子精油成分，由結果可知，黃荊葉子精油中的主要成分為 sabinen、eucalyptol、 $\beta$ -caryophyllene、eremophilene、 $\beta$ -eudesmol、terpinen-4-ol 等，從不同採集地區來看，黃荊採集自高雄六龜、屏東潮州、屏東恆春、苗栗通宵等四個地區的葉子，精油成分含量最高皆為  $\beta$ -caryophyllene、其次為 eremophilene，含量第三高則為 sabinen 或 eucalyptol，而花蓮瑞穗之葉子精油成分含量最高同樣為  $\beta$ -caryophyllene，但以 eucalyptol 次之，含量第三高則為 sabinen，苗栗通宵黃荊葉子精油組成份相似於花蓮瑞穗，含量最高同樣為  $\beta$ -caryophyllene、eucalyptol 次之，含量第三高則為 eremophilene，台東鯉魚山精油成分比例較不同於其他地區，葉子精油成分含量最高為 eucalyptol，第二高為  $\beta$ -caryophyllene，含量第三高則為 eremophilene。

由成分分析結果得知， $\beta$ -caryophyllene、eremophilene、eucalyptol、sabinen 此四種成分為黃荊葉子精油主要代表成分。以屏東分署所在地區之高雄六龜、屏東潮州、屏東恆春三個地方之黃荊精油，主要成分含量最高皆為  $\beta$ -caryophyllene，品質優良適合作為原料供加工應用，產業化生產商品則須考慮尋求大面積的林地或人工種植生產，以便利並充足黃荊精油原料的取得。

## 5. 黃荊純露以 SPME 進行 GC-MSS 分析

將黃荊純露利用固相微萃取法，分析純露揮發性成分，所得結果如下：

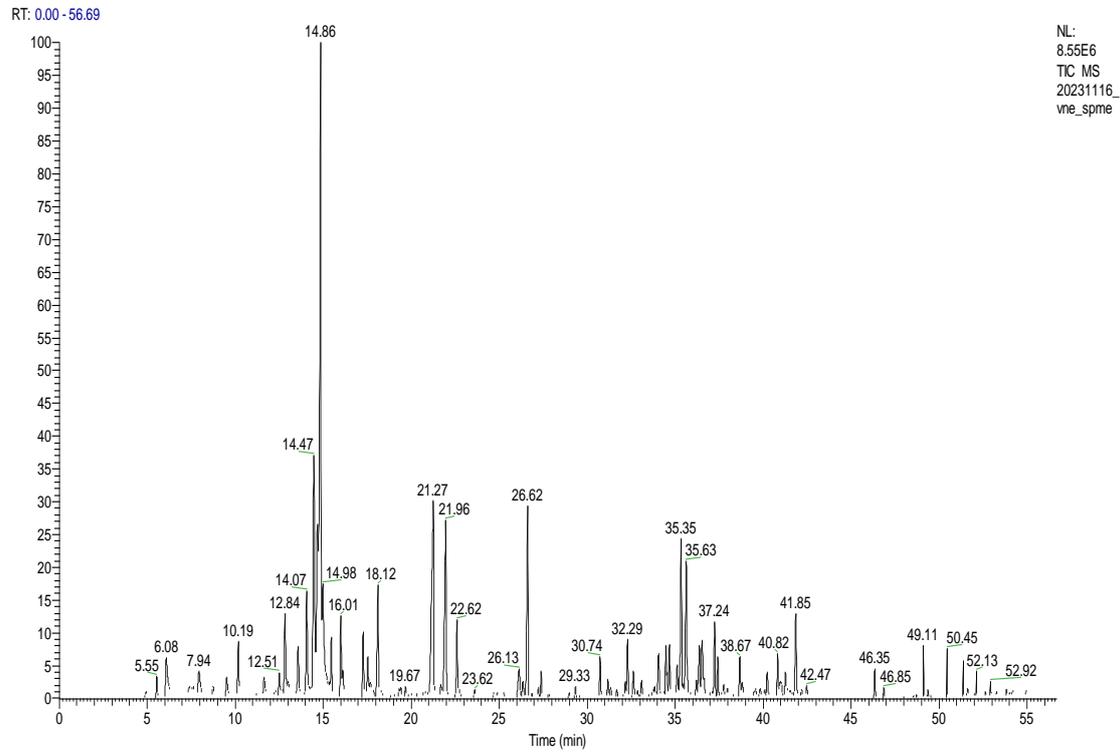


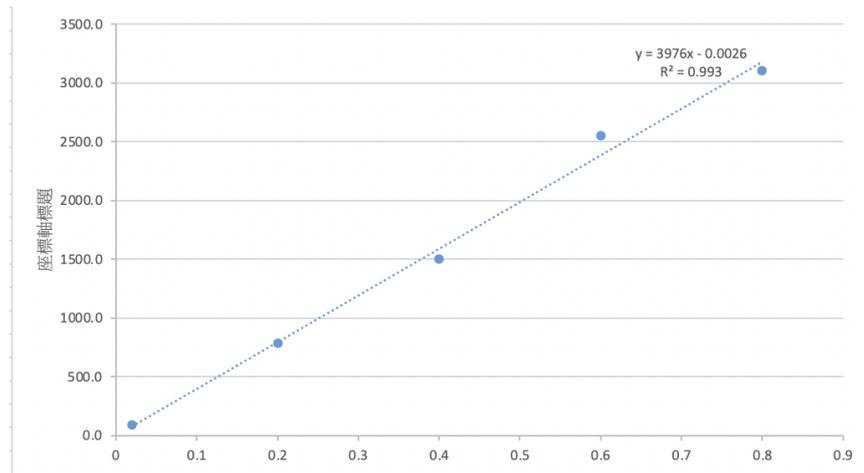
圖 16. 黃荊純露 SPME GC-MSS 層析圖

表 7. 黃荊純露 SPME GC-MS 主成分定性與含量百分比分析

NO.	RT	NAME	Area%	KI 值
1	10.19	$\alpha$ -Pinene	1.3%	928
2	12.84	Sabinen	1.7%	988
3	13.58	$\alpha$ -Phellanderene	1.1%	1003
4	14.07	$\alpha$ -Terpinene	2.4%	1015
5	14.47	p-Cymene	6.2%	1025
6	14.69	m-Cymene	4.4%	1030
7	14.86	Eucalyptol	14.5%	1034
8	14.98	$\beta$ -Ocimene	2.9%	1037
9	16.01	$\delta$ -Terpinene	1.6%	1059
10	17.28	$\gamma$ -Terpinene	1.5%	1085
11	18.12	Linalool	2.8%	1101
12	21.27	4-Terpinenol	7.2%	1169
13	21.96	(-)-Terpinen-4-ol	4.8%	1183
14	22.62	$\alpha$ -Terpineol	1.9%	1195
15	26.62	Lavandulyl acetate	4.3%	1282
16	32.17	$\beta$ -Cedrene	0.3%	1405
17	32.29	$\beta$ -Caryophyllene	1.1%	1408
18	34.47	Humulene	1.2%	1459
19	35.35	Eremophilene	3.8%	1478
20	38.67	Caryophyllene oxide	0.8%	1564
21	41.85	$\beta$ -Eudesmol	1.9%	1648

## 6. 定量黃荊乙醇萃取物中牡荊素含量

黃荊乙醇萃取物中含有牡荊素(Vitexin)，以標準品製作檢量線進行黃荊各部位乙醇萃取物之 Vitexin 含量分析，所得結果如下。



部位	濃度
1. 黃荊葉片乙醇萃取物	0.031 $\mu\text{g}/\text{mg}$
2. 黃荊花朵乙醇萃取物	0.027 $\mu\text{g}/\text{mg}$
3. 黃荊果實乙醇萃取物	0.055 $\mu\text{g}/\text{mg}$

#### (四) 開發黃荊衍生產品

本計畫開發 2 款黃荊衍生產品，分述如下：

##### 1. 黃荊溫熱眼罩

文字「綻」在筆畫的勾勒與形態上，承襲「曜產品」先前之設計，輔以簡約俐落線條感的插圖，表現出國際感風格。以黃荊紫色花瓣、白色花苞作為形象顏色主軸，手繪簡約風繪製黃荊植株本體，直白表達產品主體。

極細纖維材質  
親膚棉柔接觸層

最適溫 41°C 熱敷  
快速時間 約20分鐘

舒適耳掛  
MIT微彈力耳掛

天然植萃 豐沛蒸氣  
天然精油植萃芳療 最高量穩定蒸氣

快速升溫  
10秒立即舒適有感

品名：綻\_黃荊精油溫熱眼罩  
產品成分：食品級活性碳、鐵粉、薄片發熱芯；親膚棉柔不織布；薰衣草精油、黃荊精油、雪松精油、玫瑰草精油、佛手柑精油、天竺葵精油、小花茉莉精油

製造日期：標示於外包裝  
保存期限：18個月  
產地：中國  
委製/進口商：寶登國際有限公司  
製造商址：桃園市蘆竹區安中街12巷6號3樓  
電話：03-3655081

使用方法

1. 從包裝袋內取出眼罩，從切口線撕開掛上雙耳掛。
2. 使用時閉上雙眼，讓眼睛享受這20分鐘的蒸氣SPA。

注意事項

- 有眼疾或眼睛發炎者請勿使用。
- 使用中如有發紅、癢、痛、熱或刺激等現象時請停止使用並諮詢醫師。
- 若眼部近期進行過手術，請諮詢醫師後使用。
- 請置於嬰幼兒無法取得處，並避免陽光直射。
- 如感到過熱時，請立即停止使用。
- 此眼罩為一次性產品，請勿重複使用。
- 配戴隱形眼鏡用戶，請取下隱形眼鏡再使用本產品。
- 若眼罩不慎損毀，請勿使用。

4 712896 300602

農業部林業及自然保育署屏東分署 出品  
Pingtung Branch, Forestry and Nature Conservation Agency, Ministry of Agriculture



圖 17. 黃荊溫熱眼罩小包裝



圖 18. 黃荊溫熱眼罩外盒(10 小包/一盒)

## 2. 黃荊舒緩按摩油

外觀設計延續屏東分署原有「曜」系列產品的圓點設計，以圓點的型態表現出「煦」之視覺，將圓點的型態勾勒成線性的煦煦日升，在構圖上以高屏南北大武山為背景做設計，凸顯難保大地的溫情，讓畫面呈現的感覺更為穩重大氣。和曜產品做為搭配，以白底 PANTONE 特殊銀色做調和，使產品具有系列感。



圖 19. 黃荊舒緩按摩油外盒與內容物



圖 20. 黃荊產品手提紙袋

#### 四、結論

黃荊葉子精油活性試驗結果顯示，精油的抗氧化、抗發炎、腸道屏障活性、抑制脂質累積等活性試驗無顯著效果，但黃荊葉子精油抑制黑色素沉澱表現結果極佳，低濃度 10 µg/mL 即顯現優於對照組麩酸的黑色素沉澱抑制效果。而黃荊葉子乙醇萃取物與黃荊花乙醇萃取物也表現良好的抑制黑色素活性，黃荊葉子乙醇萃取物在 50 µg/mL 濃度可抑制黑色素含量至 67.54%。證實黃荊葉子無論在精油或是乙醇萃取物，均有良好的抑制黑色素活性效果。不同地區的黃荊葉子精油成分，主要主成分為  $\beta$ -caryophyllene、eremophilene、eucalyptol、sabinen 等四種，但相對的含量百分比則顯現不同地區各別相異的組成比例。黃荊純露的揮發性成分，經由 SPME 分析可知主成分為 Eucalyptol、4-Terpinenol、*p*-Cymene、Lavandulyl acetate。研究顯示  $\beta$ -caryophyllene 具多樣化活性，除了已被廣泛運用的抗發炎活性，它被證明對大麻素受體 2 有顯著的結合活性，換句話說， $\beta$ -石竹烯是一種膳食植物大麻素（因為其可與大麻素受體結合），並可透過降低氧化壓力和穩定粒腺體具有神經保護能力。除了大麻素受體 2 之拮抗劑外， $\beta$ -caryophyllene 還被發現可以正向調節 PPAR- $\gamma$ 、TLR 和神經免疫通路，這些可能是與保護神經元損失有關的靶點。黃荊衍生產品開發，擇定  $\beta$ -caryophyllene 成分具有舒緩放鬆之效果，因而使用黃荊精油開發黃荊溫熱眼罩和黃荊舒緩按摩油共兩款商品。商品建議售價與成本整理如下：

	產品名稱	成本(不包含黃荊精油費用)	建議售價	最低生產量
1	黃荊溫熱眼罩	220 元/每盒(10 片)	400 元/每盒(10 片)	2000 盒
2	黃荊舒緩按摩油	360 元/每盒(1 組)	890 元/每盒(1 組)	1000 盒

## 五、 重要工作甘特圖與預定工作進度表

112 年度 (計畫決標日起開始執行至 112.12.31 止)								
月 次	第 6 月	第 7 月	第 8 月	第 9 月	第 10 月	第 11 月	第 12 月	備 註
工作項目								
精油之製備、訂定黃荊精油及純露之萃取 SOP								
建立黃荊精油指標成分之指紋圖譜及主成分定量								
黃荊精油之生物活性分析								
黃荊衍生產品開發								
分析黃荊精油成分在不同地區或品系的差異性								

圖 10. 計畫工作甘特圖

表 6. 預定工作進度表

重要工作項目	工作比重% 及 查核項目	預 定 進 度		
		112 年度		
		6-7 月	7-8 月	8-11 月
黃荊精油指標成分之指紋圖譜及主成分定量	20%	5%	10%	20%
	查核項目	樣品採集規劃	1. 建立精油指紋圖譜 2. 訂定黃荊精油及純露之萃取 SOP	1. 主成分定量 2. 分析黃荊精油成分在不同地區(品系)的差異性
測試 6 種黃荊精油	35%	5%	15%	35%

之生物活性。	查核項目	活性試驗進度 規劃	完成 3 種活性試 驗	完成 6 種活性試 驗
黃荊精油衍生產品 研發 2 項。	35%	-	5%	35%
	查核項目	-	產品研發測試	完成產品開發
成果匯整分析	10%	-	5%	10%
	查核項目	期初報告撰寫	期中報告撰寫	期末報告撰寫
合 計	累計 百分比	10%	50%	100%

## 六、引用文獻

丁國鈺、胡萍。2020。荊條的化學成分及其活性進展。瀋陽醫學院學報。22(2): 162-165。

謝建春、孫寶國、鄭福平、余敏。2016。固相微萃取/氣-質聯機分析荊條葉、枝的頭香香氣。食品科技。(10): 260-263。

Chen C. -J., Y. -H. Tseng, F. -H. Chu, T. -Y. Wen, W. -W. Cheng, Y. -T. Chen, N. -W. Tsao, Sheng-Yang Wang. 2012. Neuropharmacological activities of fruit essential oil from *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon. J. Wood Sci. 58: 538-543.

- Cheng W. -W., C. -T. Lin, F. -H. Chu, S. -T. Chang, S. -Y. Wang. 2009. Neuropharmacological activities of phytoncide releasing form *Cryptomeria japonica*. J. Wood Sci. 55(1): 27-31.
- Francomano, F., A. Caruso, A. Barbarossa, A. Fazio, C. La Torre, J. Ceramella, R. Mallamaci, C. Saturnino, D. Iacopetta, M. S. Sinicropi. 2019.  $\beta$ -Caryophyllene: a sesquiterpene with countless biological properties. Appl. Sci., 9, 5420.
- Hsiao, W. -W., K. J. Senthil Kumar, H. -J. Lee, N. -W. Tsao, S. -Y. Wang. 2022. Anti-melanogenic activity of *Calocedrus formosana* wood essential oil and its chemical composition analysis. Plants 2022, 1, 62.
- Hu, P., D. -H. Li, C. -C. Jia, Q. Liu, X. -F. Wang, Z. -L. Li, H. -M. Hua. 2017. Bioactive constituents from *Vitex negundo* var. *heterophylla* and their antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. J. Functional Food 35: 236-244.
- Hu, P., D. Li, K. Wang, H. Wang, Z. Wang, Z. Li, H. Hua. 2015. New phenolic compounds from *Vitex negundo* var. *heterophylla* and their antioxidant and NO inhibitory activities. J. Functional Food 19: 174-181.
- Kuo, P. -M., F. -H. Chu, S. -T. Chang, W. -F. Hsiao, S. -Y. Wang. 2007. Insecticidal activity of essential oil from *Chamaecyparis formosensis*. Holzforschung 61: 595-599.
- Lin, C. -T, C. -J. Chen, T. -Y. Lin, J. -C. Tung, S. -Y. Wang. 2008. Anti-inflammation activity of fruit essential Oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata. Biores. Tech. 99: 8783-8787.
- Meena, A. K., U. S. Niranjana, M. M. Rao, M. M. Padhi, Ramesh Babu. 2011. A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus. Asian J Tradit. Med. 6 (2): 54-60.
- Senthil Kumar, K.J., M. Gokila Vani, C. -S. Wang, C. -C. Chang, Y. -C. Changm; L. -P. Lu, C.-H. Huang, C. -S. Lai, S. -Y. Wang. 2020. Geranium and lemon essential oils and their active compounds downregulate angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), a SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain, in

epithelial cells. *Plants* 2020, 9, 770.

Senthil Kumar, K.J., M. Gokila Vani, P. -C. Wu, H. -J. Lee, Y. -H. Tseng, S. -Y. Wang. 2020. Essential oils of *Alpinia nantoensis* retard forskolin-induced melanogenesis via ERK1/2-mediated proteasomal degradation of MITF. *Plants* 2020, 9, 1672.

Senthil Kumar, K.J., M. Gokila Vani, S. -Y. Wang. 2022. Limonene protects human skin keratinocytes against UVB- induced photodamage and photoaging by activating the Nrf2-dependent antioxidant defense system. *Environmental Toxicology*. Accepted and ahead of print, DOI: 10.1002/tox.23646.

Wang, S. -Y., C. -W. Yang, J. -W. Liao, W. -W. Zhen, F. -H. Chu, S. -T. Chang. 2008. Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomed.* 15: 940-945.

農業部林業及自然保育署屏東分署  
「黃荊成分研究及其保健活性開發計畫」  
期初報告書面審查意見回覆表

敬覆審查意見：謝謝委員寶貴意見與建議，回覆意見分述於下表。

	審查意見	意見回覆
<b>李委員佳穎</b>		
1.	本委託案期初預期完成黃荊樣品之採集規劃及活性試驗進度規劃，已完成精油初步萃取並建立 GC 分析方法，亦規劃於三處地區採集，進行差異分析，另活性亦預期 8 月底前完成 3 種分析，期末前完成所有活動。目前進度符合預期。	謝謝委員意見。
<b>馮委員嘉嫻</b>		
1.	由期初報告可知執行單位已收集 2.5 公斤黃荊葉，並初步獲得 GC 層析圖。亦於報告中明確寫出至少五處的黃荊樣品採集之規劃。	謝謝委員意見。
2.	精油及純露不同，成分及濃度有很大差異，於期初報告中活性分析的描述大部份是以純露測試活性，與工作項目有出入。建議活性分析應以精油稀釋進行，以符合工作說明書。	謝謝委員建議，活性分析會以黃荊精油進行試驗。
3.	預定工作進度表規劃合理，應可按照進度完成計畫。	謝謝委員意見。
<b>朱委員木生</b>		

1.	請增加工作期程之甘特圖；內文圖表也請編號表示。	謝謝委員指正，已依照說明修正。
2.	四、實施方法與步驟之項次請更正(1、2、3、4、5、6、7)。	謝謝委員指正，已依照說明修正。
3.	分析黃荊精油成分在不同地區(品系)的差異性，報告中有提到南部及東部之採集樣區，中北部是否也有採集樣區。	中部跟北部有在規畫尋找，若能採集會一併進行分析。
4.	目前成果只規劃部分重要工作項目之預定進度，其他未規劃的項目進度如何執行？	謝謝委員指正，已補充說明重要工作甘特圖與預定工作進度表。

**林委員湘玲**

1.	有關產品開發的構想，請再提出2種以上的方案供選擇。	目前規劃「溫熱眼罩」及「舒緩按摩油」兩種產品。
----	---------------------------	-------------------------

**洪委員國棟**

1.	不同部位、季節或物候對黃荊成分是否會有影響？	根據實驗結果，不同產地之精油成分有影響。
2.	建議說明各活性分析之目的及其可運用之產品種類。	目前已知黃荊葉子精油有顯著的抑制黑色素沉澱活性，預期朝貼布之產品進行開發。

農業部林業及自然保育署屏東分署  
「黃荊成分研究及其保健活性開發計畫」  
期中報告書面審查意見回覆表

敬覆審查意見：謝謝委員寶貴意見與建議，回覆意見分述於下表。

	審查意見	意見回覆
<b>楊委員智凱</b>		
<b>1</b>	研究團隊符合本計畫重要工作，成果相當豐碩，值得讚許。	謝謝委員意見。
<b>2</b>	內文中的圖、表未在內文中列出，請將其補上。	會將其補上。
<b>3</b>	黃荊在臺灣的化學品系看起來非常多樣，而高屏地區的黃荊相較於其他地區是否有其他特色？	在生長勢皆良好的情形下，不同品系所產的黃荊精油應該是會有所差異，為此部分若要比較出明確的差異，需再進行大樣本的研究分析。
<b>4</b>	針對六龜、潮州、恆春進行精油成分分析，結果顯示不同地區在部分組成分上是有差異，目前執行團隊是將高屏地區不同族群定調為相同發展潛力，或是有區隔出不同族群在未來發展的優先順序？建議可提供以上資訊以利屏東分署進行育種之參考。	高屏地區黃荊成分分析結果顯示，石竹烯的含量有較豐富的情形，期末報告會針對這一項成分再進行完整的報告及建議，並提出高屏地區產的黃荊精油之特殊性及發展潛力。
<b>5</b>	純露在未來的發展，請團隊協助建議。	純露無標準品，經加熱後的產物多為加熱過後才形成的成分，非天然物，故需額外重新進行結構鑑定的程序，分析難度較高，本團隊會在期末時報告純露的氣味分析，但其他較為特殊的成分就需要再另案進行研究。

<b>李委員佳穎</b>		
<b>1</b>	自不同地點採集之黃荊精油成分含量有差異，請評估其活性與成分差異，建議出較佳的來源以利後續產品定案，或針對不同地區的來源開發不同用途之產品。	可選用高石竹烯之黃荊開發後續產品。
<b>2</b>	若在最後的研究結果得出哪一品系的黃荊精油有比較好的表現或應用性，是否會導致在不同縣市會產生競爭心態，可再做進一步考量。	謝謝委員建議，將予以考量。
<b>3</b>	報告內研究方法中，活性測試以純露為主，結果討論部分為精油，請釐清。	謝謝委員指正，本次計畫相關活性試驗與產品開發皆以精油原料進行，撰寫錯誤已修正於成果報告書中。
<b>4</b>	進度符合預期，SOP 應更明確呈現。	謝謝委員建議，將予以修正。
<b>郭委員賓崇</b>		
<b>1</b>	文件內容有部分錯字與格式需修改。	謝謝委員建議，將予以修正。
<b>2</b>	簡報 P. 13 及 P.15 的屏東恆春及潮州分析結果與其他地區略有不同，是否可針對分析圖時間軸的 48-54min 區間再進行相關的分析?請執行團隊於期末時再補上。	有關屏東恆春及潮州的黃荊精油成分分析後半段部分，會再進行分析，並在期末報告中呈現。
<b>3</b>	執行團隊進行的含量百分比分析，是採用半定量方式進行，即以面積比或內標比，還是採用增量方式?建議於報告中說明清楚。	有關定量問題，是採 FID 進行定量，沒有用內標，後續亦會找 1-2 支重要成分去進行絕對定量。

4	<p>牡荊屬(Vitex)的相關研究其實做得不少，且相較於精油研究，花、果實及種子之相關研究反而較多，建議應該根據不同的研究部位擇定分析方法，例如以精油進行分析，是否有必要進行到葡萄糖吸收分析或腸道屏障分析，可再行評估。</p>	<p>目前報告中所提的研究方法為本研究室熟悉的方法，可針對未來各種萃取物進行分析，確實精油是不需進行葡萄糖吸收分析或腸道屏障分析，而有關過敏反應的測試目前也有在進行中。</p>
5	<p>在抑制黑色素沉澱分析結果中，KA 濃度使用到 1.4Mm 似乎有點太高，如 kojic acid 其實只需要加一點 KA 即可達到 80%效果，也許執行團隊是想凸顯出研究結果的效果，但建議還是要稍微貼近實際。</p>	<p>KA 部分為誤繕，應為 <math>\mu</math> M，而非 mM。</p>
6	<p>報告中所提供的圖表應附完整說明，例如統計意義(例如*、**、*** 之說明)。</p>	<p>顯著差異的部分，並非對 DMSO，而是與Forskolin 相比</p>
7	<p>衍生產品開發須注意毒理與過敏性測試。</p>	<p>謝謝委員建議，關過敏反應的測試目前也有在進行中。</p>
8	<p>執行單位已完成台灣 5 處黃荊葉之 GC/MS 分析，並找到四種代表成分以建立指紋圖譜。精油活性試驗顯示有抑制黑色素沉澱效果，可納入未來開發產品之參考。</p>	<p>謝謝委員建議，將納入未來開發產品參考。</p>
9	<p>目前期中報告尚未看到產品研發測試進度，以目前活性測試結果，似乎和計畫所預期製作之防蚊、痠痛貼布等衍生產品無關。</p>	<p>考量產品要有不同於其他特色之商品，故開發較少見之眼罩與按摩油等應用方向。</p>
<p><b>林委員湘玲</b></p>		
1	<p>報告書第 7 頁的標準作業流程，建議增加設備之照片、黃荊鮮度</p>	<p>科長所提標準作業流程及相關照片會在期末報告中完整</p>

	(保存 方式)及每次萃取建議之容量(以使用設備規格為例),以達最適功率。	補充。
2	是否需鼓勵農民自行種植(野採或人為栽培)?因黃荊多生長於全光環境下,較難作為林下經濟栽培使用,目前本分署在黃荊的使用上是作為生態造林樹種,但因黃荊不會長很高,多為灌叢型態,本分署會再進行討論,評估是否直接納入造林樹種之考量,而非作為林下經濟的品項。	謝謝委員建議。
3	產品開發為商品,未來可否符合市場販售規定?請協助確認相關法規。	產品確保可以符合市場販售規定。
4	產品具皮膚接觸性,建議至少應進行過敏反應及毒性測試。	謝謝委員建議,關過敏反應的測試目前也有在進行中。
<b>洪委員國棟</b>		
1	不同產地之精油成分會有所差異,是受品系影響還是生育環境影響?	應該是兩者皆會影響。
2	不同地區的精油萃取率差異?萃取率乘含量百分比後,同單位鮮葉的含量差異?	高屏各地區精油萃取率差異不大,但在期末亦會分別再標示出各地區的萃取率。
3	未來商品化後,農民取得材料後,需預處理或先處理到何種程度,才能交給廠商做後續產品製作。	精油含量主要以葉子跟花,建議整理好不帶枝條的葉子或帶有部分軟枝條的葉子為收購的標準,精油的產率較有一致性。
<b>楊委員瑞芬</b>		
1	恆春地區的農牧用地在移除銀合歡之後,若黃荊在未來應用上具有經濟價值,可建議及鼓勵農民	移除銀合歡後要種植黃荊是可行的,但要種植哪一種品系則待研究成果出來後再

	以此作為栽植樹種，在國有林地的部分，則可以透過作為造林樹種之一，提高森林生物多樣性。	提供相關建議。
2	黃荊蒸煮後可做為農害防制的用途，此功能對於從事農作的社區居民 即有立即性的效用，此部分再麻煩執行團隊協助提供此法可防治或抑制田間的危害種類。	台灣有嚴格的農藥法規規範，若要開發相關商品，屆時會須通過 防檢局的各種把關才能販賣，若只是推廣或農業用是沒問題，本團隊可以先針對黃荊熱水可防治的大致危害進行試驗，至於較詳細可防制 哪些病或蟲類，則需下一階段再進行研究。
3	眼罩部分目前委由中國製造，未來建議可媒合國內生技廠商。	眼罩產品的對口廠商為台灣廠商，產品材料如不織布、發熱鐵片 其實都是台灣或日本寄送去中國工廠，最後由中國工廠製成商品，目前是因為台灣沒有類似的工廠，若未來台灣有適合的工廠，就會優先與該工廠配合。按摩油是由經認證的台灣化妝品公司代工，精油的調配是由本執行團隊提供給該代工廠商。未來還是也會以媒合國內廠商為主。
4	六龜、潮州及恆春各地區的黃荊精油特色為何?是否有相對應的用途? 請執行團隊提供相關建議。	謝謝委員建議，會再進行相關探討。

**農業部林業及自然保育署屏東分署**  
**「黃荊成分研究及其保健活性開發計畫」**

**期末報告書面審查回覆表**

敬覆審查意見：謝謝委員寶貴意見與建議，回覆意見分述於下表。

	審查意見	意見回覆
<b>馮委員嘉嫻</b>		
1	執行單位除完成工作說明說之工作項目外，還制定黃荊精油及純露之萃取法及不同地區黃荊精油成分差異比較。	謝謝委員。
2	於期初及期中書面審查意見回覆中，計畫團隊皆有回覆會以精油進行活性測試，但於期末報告中6種活性試驗方法仍是敘述以純露進行實驗，不知是否為誤植？	謝謝委員指正，精油誤植為純露，已更正於成果報告書中。
3	精油衍生產品開發方法敘述產品為防蚊及精油貼布，但產出成品為眼罩及舒緩按摩油，建議加以說明。	產品的開發方向經與屏東分署討論後調整進行，故與原訂產品有差異，將修正於成果報告中。
4	有關黃荊乙醇萃取物對 NO 抑制之結果圖與討論不符。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
5	GC/MS 主成分定性只分析到 RT40.5 分鐘左右，在 40.5 分鐘之後有些地區的精油有更大的波峰成分出現，但卻未進行定性及相對定量。	有關在p.20 GC-MS分析圖中，40分鐘以後呈現的明顯波峰目前尚未釐清是何種成分，因時間關係無法在本次報告中呈現，後續待分析確認後會提供報告向委員進行說明。

<b>郭委員賓崇</b>		
<b>1</b>	精油的分析成果豐碩，活性數據也顯示相當具有發展的潛力。但產品是否具有致過敏的現象，可能需要先行評估，以免造成產品有不良效應產生而影響商譽。	謝謝委員建議，精油與過敏反應確實有關聯性，會再針對一系列精油進行皮膚過敏反應之檢測，並確認不同化學成分間是否會因產生反應而有負面影響。
<b>2</b>	乙醇萃取物的研究不再本計畫預計的範圍，但也顯示具有潛力的化學成分與生理活性。不過如前所述，欲進行深入研究前可能要先測試其毒理反應，如果是安全無慮，方可考慮進一步的應用，也才不會產生安全性的疑慮。若後續有興趣做第 2 期或水萃物的話，建議先行進行毒理檢測。	謝謝委員建議，將納入評估。
<b>3</b>	報告中有一些文字誤植的部分，請於定稿中作完整的修改。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
<b>4</b>	紙本內 KA 濃度應修正為 $\mu\text{M}$	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
<b>洪委員國棟</b>		
<b>1</b>	打樣品-「綻」-產品敘述項應換行。	謝謝委員指正，有關委員提到產品之問題，會在之後產品製作上加以改正。
<b>2</b>	產品原料是否產自台灣，可否於包裝上標示。	只有黃荊原料產自台灣
<b>楊委員瑞芬</b>		

1	請補充本案計畫摘要及本案研究結果是否有需檢討改善事項及提供後續應用之建議。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
2	<p>本計畫眼罩產品詢問度高，請問該產品扣除試驗費用後之成本為多少，請提供以利本分署作為訂價參考？</p> <p>1. 明年若想再做相同產品，請問是否有合適的合作方法。</p> <p>2. 因目前製造商位於中國，請問是否可提供國內適合的製造商。</p>	<p>產品成本補充於成果報告書中，除了自行萃取之黃荊精油成本因無市售價格無法估算，故無列入成本中。</p> <p>1. 產品製作前先製備足量黃荊精油即可再生產</p> <p>2. 目前無找到國內替代廠商</p>
3	<p>結論提及精油或乙醇萃取物皆具有良好的抑制黑色素活性效果，請問乙醇萃取物是純露的意思？</p> <p>另外現在開發的產品皆是主打「舒緩」功效，報告書內建議再加強黃荊「舒緩」功效之資料。而報告書內提及抑制黑色素之功效，建議再補充可應用該功效之產品建議(以非常見產品為宜)。</p>	<p>1. 純露是花水，即是精油下層物質，與乙醇萃取物不同。</p> <p>2. 黃荊「舒緩」功效已補充於成果報告書中，黃荊舒緩功效可與黑色素抑制功效結合成研發產品，具美白及舒緩身心效果，未來就看機關後續有什麼產品需求。。</p>
<b>林委員湘玲</b>		
1	黃荊衍生商品開發，已有委製商，請補充2款商品「再製作」之預估成本，及須提供廠商之原料，以利評估是否可能輔導在地社區推動黃荊產業。商品定價亦請協助提供建議。	謝謝委員指正，已補充於成果報告書中。
2	有關產品設計版權是否授權屏東分署應用，請確認。	設計部分，本即規定為分署所有，因此若其他機關或甚至中興大學要使用設計圖或設計名稱，都需要根據規定

		繳交權利金，目前林業署長希望權利金以6%為原則。
<b>李委員佳穎</b>		
<b>1</b>	p.3-4活性測試仍呈現「純露」並未修正為精油。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
<b>2</b>	p.6萃取SOP仍不甚清楚，應明確指出採集葉子鮮重、陰乾或曬乾後重量(或萃取前可堆置之時間)，若使用300公升規模之設備，用料多紹、加水多少、收取多少或蒸餾時長皆應呈現出。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
<b>3</b>	p.7自由基應為「清除率」，非「抑制率」。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
<b>4</b>	CG分析部分，似乎40分鐘後的成分及Area%未呈現，尤其在p.20潮州及p.22的樣本中，49.8分鐘之含量極高，不應忽視。	有關在p.20 GC-MS分析圖中，40分鐘以後呈現的明顯波峰目前尚未釐清是何種成分，因時間關係無法在本次報告中呈現，後續待分析確認後會提供報告向委員進行說明。
<b>5</b>	P.33按摩油之產品包裝上有無呈現品名、成分、使用方法、製造保存期限及廠商資訊?若無應補上貼紙使用。	謝謝委員指正，有關委員提到產品之問題，會在之後產品製作上加以改正。
<b>楊委員智凱</b>		

1	團隊相關工作成果相當豐碩，符合本計畫的目標，值得讚許。	謝謝委員。
2	圖的文字及表文字的字型差異，請團隊再調整(p.8、9、10、11、12、13、15、16)	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。
3	黃荊葉子精油在不同地區差異，分署範圍內的高雄六龜、屏東潮州、屏東恆春請團隊再多補充相關論述給分署進行參考。	謝謝委員建議，已更正於成果報告書中。
4	產品的圖說缺，請團隊再補上。	謝謝委員指正，已更正於成果報告書中。