

# 不同品種及產地薏苡籽實之化學指紋圖譜建立<sup>1</sup>

陳裕星<sup>2</sup>、張嘉倫<sup>3</sup>、廖宜倫<sup>2</sup>、林雲康<sup>2</sup>

## 摘 要

薏苡具有豐富的營養價值與機能性成分，是我國傳統藥食同源食材之一，具有調節血脂及血糖、輔助抑制腫瘤、增強免疫和抗發炎及調節內分泌等功能，爲了瞭解不同品種及產地來源的薏苡其萃取成分差異，進而了解國產薏苡和進口產品之間是否有所差異，本研究以超音波輔助甲醇萃取方式，比較不同產地來源、不同品種薏苡籽實在280 nm之HPLC化學指紋圖譜，作爲成分特徵與含量比較之依據，共篩選5個高穩定性及再現性之吸收峰，作爲成分特徵。薏苡精白後各個主要吸收峰面積損失85~97%，顯示糙薏苡麩皮含有主要UV 280 nm吸收成分。臺中三號和臺中選育四號的指紋圖譜接近，不同產地包括大村、大雅與二林之間的指紋圖譜和以吸收峰面積所推估的成分含量也相當接近，其中3個吸收峰具有高穩定性，可作爲未來品管依據。薏苡素的含量在種殼最高，其次爲麩皮，而在精白薏苡中無法檢出薏苡素。此外，本試驗所建立之薏苡籽實化學指紋圖譜，可作爲未來比較不同品種與產地薏苡萃取成分比較的依據。

**關鍵字：**麩皮、種殼、薏苡素、薏苡內醯胺、薏仁酯

## 前 言

薏苡是中部地區重要之雜糧作物，具有豐富的機能性成分，本場已育成品種臺中1、2、3號<sup>(1,2)</sup>，主要栽培地區包括大雅、二林、草屯、嘉義朴子等地，另外在育種過程中的優良選系臺中育四號也在大雅地區廣泛栽培。在本場所育成之品種中，薏苡臺中3號具有強桿、抗倒伏與高產特性<sup>(2)</sup>，且可適應於水稻田栽培，是活化休耕田政策可用之轉作作物。

薏苡籽實含有豐富的蛋白質，具有滋養保健功效，爲我國傳統藥食同源作物，有效成分包括膳食纖維、薏仁多醣、薏仁蛋白質、植物固醇、薏仁油脂、酚類化合物等<sup>(3,4)</sup>。薏苡不同部位包括種子、麩皮、種殼、薏苡根的萃取物質，顯示出相當多元的用途，包括抗致突變性<sup>(5)</sup>、抗氧化及清除自由基、調節血糖與血脂<sup>(6,7,12-15)</sup>、抗發炎<sup>(16)</sup>、免疫調節<sup>(8)</sup>、輔助抑制腫瘤作用<sup>(9,10,19-21)</sup>、調節激素作用<sup>(17,18)</sup>等，國內學者認爲，薏苡降血脂與改善代謝症候群的保健功效是來自於諸多成份總合作用之結果<sup>(11)</sup>。

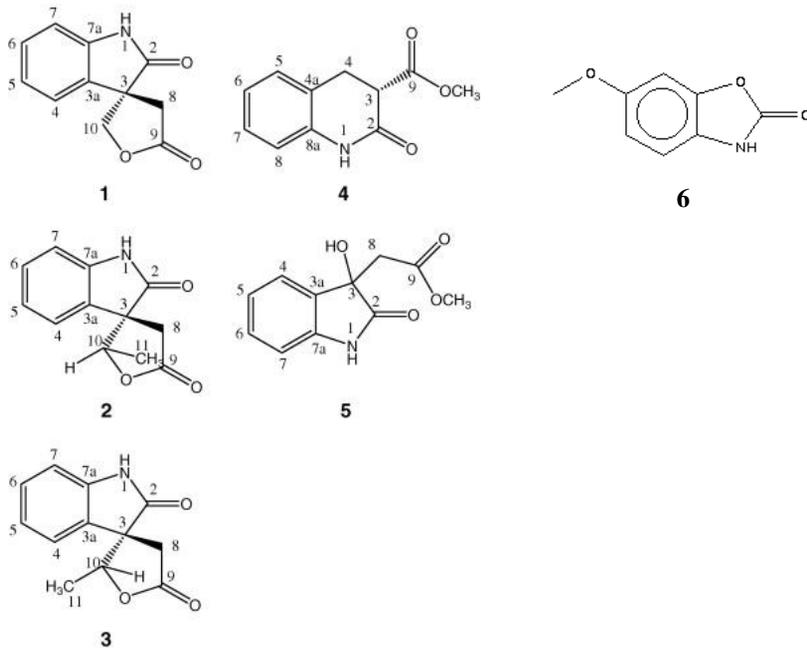
<sup>1</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第0838號。

<sup>2</sup> 行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員。

<sup>3</sup> 弘光科技大學生物科技系學生。

在醫學研究方面，自從1960年代東京大學藥學院從薏苡中發現抗癌成分薏仁酯<sup>(20,21)</sup>之後，薏苡籽實各部位的萃取物也被廣泛研究，發現具有抑制動物大腸癌、肺癌、纖維肉瘤等功效<sup>(9,10)</sup>。在許多研究中，薏苡麩皮萃取物被證實具有鎮靜、止痛、促進排卵<sup>(17,18)</sup>、使癌症細胞凋亡等效果<sup>(19-21)</sup>。在這些研究中，薏苡麩皮的超臨界萃取物具有良好的減輕乳癌患者放療副作用，且無明顯基因毒性與亞急性毒性，因此已有國內學者申請具有抑制大腸癌及肺癌細胞生長之薏苡內醯胺化合物專利<sup>(10)</sup>，並由生技業者向美國FDA申請植物新藥研發許可。

雖然已有相當多的薏苡成分被發表出來，包括酚類的p-coumaric acid, ferulic acid, vanillin等，多元酚類的naringenin, tricin，植物固醇如菜油甾醇(campesterol)、穀甾醇(sitosterol)等<sup>(4,5)</sup>，上述二次代謝物質廣泛存在於植物界中。學術界目前所推測薏苡的獨特機能性成分包括薏苡內醯胺(lactam)化合物及傳統所認為的薏苡素<sup>(22)</sup> (6-Methoxy-2-benzoxazolinone, coixol) (圖一)。



圖一、五種薏苡內醯胺化合物與薏苡素之結構。依序為 1. Coixspirolactam A (薏苡螺環經內醯胺 A)；2. Coixspirolactam B (薏苡螺環經內醯胺 B)；3. Coixspirolactam (薏苡螺環經內醯胺 C)；4. Coixlactam (薏苡內醯胺)；5. Methyl dioxindole-3-acetate (二氧吡啶-3-醋酸甲酯)；6. 6-Methoxy-2-benzoxazolinone, coixol (薏苡素)。分子結構式引自江文章等(2012)發表之專利文件<sup>(10)</sup>。

Fig. 1. Structures of 5 Coix lactams and coixol. 1. Coixspirolactam A; 2. Coixspirolactam B; 3. Coixspirolactam; 4. Coixlactam; 5. Methyl dioxindole-3-acetate; 6. 6-Methoxy-2-benzoxazolinone, (6-MBOA, or coixol). The molecular structures are cited from patent documents<sup>(10)</sup> published by Chang et al. (2012).

上述5種薏苡內醯胺化合物經試驗證實對A549、HT-29及COLO 205等癌細胞系統所進行之生長抑制測試，均有抑制癌細胞增生效果<sup>(9,10,19)</sup>，可利用於預防及/或治療癌症的醫藥品，其中coixlactam (薏苡內醯胺)為新發現之化合物，此5種化合物及薏苡素的物化性鑑定資料<sup>(10)</sup>依文獻摘錄整理於表一。

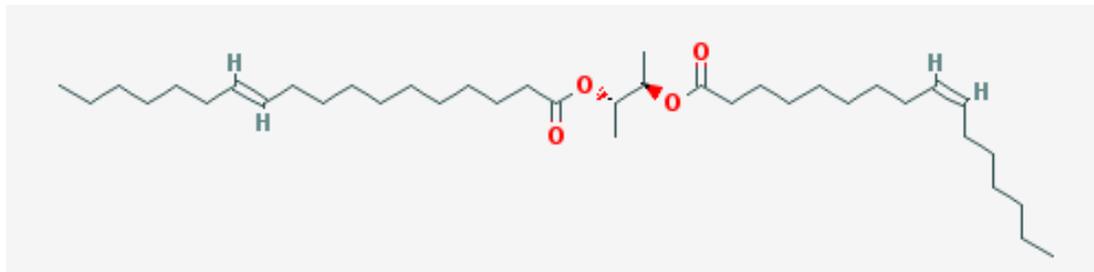
表一、具有抑制癌細胞增生之5種薏苡內醯胺化合物以及薏苡素之基礎物化性鑑定資料<sup>(10,29)</sup>

Table 1. The chemi-physical properties of 5 lactams and coixol which show inhibitory effects on cancer cells<sup>(10,29)</sup>

Compounds	Chemi-physical properties
Coixspirolactam A (薏苡螺環經內醯胺 A)	淡黃色油狀物，分子式 C 11 H 9 NO 3; UV(MeOH) $\lambda$ max nm (log $\epsilon$ ): 250(3.72). EIMS m/z (%): 203 (M+, 8), 167(5), 146(2), 145(22), 137(100), 117(8), 107(7), 84(14). HREIMS m/z :203.0580 計算值 203.0582.
Coixspirolactam B (薏苡螺環經內醯胺 B)	淡黃色油狀物，分子式 C 12 H 11 NO 3; UV(MeOH) $\lambda$ max nm(log $\epsilon$ ): 251(3.78). EIMS m/z (%): 217(M+, 9), 174(3), 173(26), 146(8), 145(100), 144(5), 117(34), 107(5), 90(9). HREIMS m/z :217.0738 計算值 217.0739,
Coixspirolactam C (薏苡螺環經內醯胺 C)	淡黃色油狀物，分子式 C 12 H 11 NO 3; UV(MeOH) $\lambda$ max nm(log $\epsilon$ ):252(3.61). EIMS m/z (%):217(M+, 9), 174(3), 173(30), 146(11), 145(100), 144(6), 117(62), 90(19), 89(14). HREIMS m/z :217.0738 計算值 217.0739,
Coixlactam (薏苡內醯胺)	淡黃色油狀物，分子式 C 11 H 11 NO 3; UV(MeOH) $\lambda$ max nm(log $\epsilon$ ):248(3.81). EIMS: m/z (%) 205(M+, 46), 173(18), 146(33), 145(100), 128(10), 117(28). HREIMS m/z :205.0736 計算值 205.0739,
Methyl dioxindole-3- acetate (二氧吲哚-3-醋酸甲酯)	淡黃色油狀物，分子式 C 11 H 11 NO 4; UV(MeOH) $\lambda$ max nm(log $\epsilon$ ): 252(3.25). EIMS m/z (%):221(M+, 46), 162(18), 161(86), 148(100), 146(21), 133(23), 120(39), 119(26), 92(22). HREIMS m/z :221.0686 計算值 221.0688,
6-Methoxy-2-benzoxazolinone (薏苡素或 MBOA, coixol)	淡黃色油狀物，分子式 C8H7NO3; EIMS m/z (%):164 (M+, 100), 150(70), 105(42), 52(28), 51(27), 80(25), 109(22), 39(19), 122(17). MW 165.1461

上述薏苡成分中，薏苡素是最早被發現的重要機能性成份，可作用在中樞神經上，效果與肌肉鬆弛劑Chlorzoxazone (氯若沙宗)的效果相當，在止痛功效上則為標準用藥效果的1.5倍以上<sup>(16)</sup>。

薏仁酯為薏苡另一個特殊代謝物，在丁二醇上與2個脂肪酸 vaccenic acid 及 palmitolenic acid (棕櫚油烯酸)行酯化反應，在1960年代由日本學者所研究分離，在小鼠呈現對艾氏腹水腫瘤(Ehrlich ascites sarcoma)具有抗腫瘤活性<sup>(20,21)</sup>，但此後文獻中較少提及薏仁酯在醫藥方面的功能。薏仁酯水解產物為棕櫚油烯酸 palmitoleic acid (C16:1)、vaccenic acid (C18:1)及丁二醇，其定量檢測方式為間接方式將化合物水解之後測產物丁二醇的濃度<sup>(23)</sup>。棕櫚油烯酸是動物油脂中常見的營養成分，可透過食物攝取，人體亦可以自行合成，雖然帶有一個不飽和脂肪酸，但是其在膽固醇代謝及代謝症候群疾病卻有不良影響，會增加低密度膽固醇、減少高密度膽固醇<sup>(24)</sup>。Vaccenic acid (C18:1 (n-9))則是牛乳中不飽和脂肪酸的成分，也是人類乳汁中主要的反式脂肪酸<sup>(25,26)</sup>，對於健康有促進的作用，研究顯示膳食中連續補充 vaccenic acid 18週後可以降低大鼠血液中三酸甘油酯、降低總膽固醇及低密度膽固醇<sup>(26)</sup>，在哺乳動物中可將 vaccenic acid 進一步轉化為 rumenic acid (一種共軛亞麻油酸)，此時具有抗腫瘤效果<sup>(25,27)</sup>。薏仁酯是否具有特殊機能性功效因為醫學文獻資料並不豐富，此處難以評論，但是其代謝產物不論是棕櫚油烯酸或是 Vaccenic acid，均可由一般飲食獲得。



圖二、薏仁酯的結構為丁二醇骨架上鍵結 vaccenic acid 與 palmitolenic acid。

Fig. 2. The structure of coixenolide, a molecule of vaccenic acid and palmitolenic acid are bonded to the butane-diol backbone.

本試驗目的為分析本場所育成之薏苡品種其萃取成分的指紋圖譜，在不同產地栽培之後是否有所變化，並和進口薏苡產品比較分析，以期了解薏苡可萃取成分的含量變化，作為未來產品開發的參考。此外也利用本場之GCMS儀器分析薏苡殼萃取物，檢視其中是否有薏苡內醯胺化合物存在，作為未來探討薏苡作為植物新藥時，化學指紋圖譜建立與指標成份分析的基礎。

## 材料與方法

### (一) 植物材料

薏苡材料為2013年2月定植於本場之臺中3號及臺中選育4號，於7月採收成熟籽實進行分析，並分別自大雅農會及二林農會購入2013年生產之臺中選育4號及臺中3號，收穫後之薏苡種子脫殼後可得薏苡殼及薏苡種皮(testa)和糙薏仁，糙薏仁再進一步精白除去麩皮成為精白薏仁(polished grains)，精白程度約30%，餘70%為精白薏仁，不論是糙薏仁或是精白薏仁，皆磨粉至70 mesh存放於-20°C備用。

### (二) 萃取

薏苡粉末1 g以20 mL甲醇於45°C下超音波輔助萃取1小時，復於室溫下震盪(100 rpm)萃取16小時後過濾，保存在樣品瓶中待測。

### (三) HPLC分析與標準品

薏苡中含有豐富的酚類化合物，依據文獻建議以280 nm偵測可以偵測到最多的成分，萃取液先以甲醇作適度的稀釋，視所偵測之吸光值決定稀釋倍數，最後以原萃取液稀釋10倍進行分析，三重複。

分析所用之標準品薏苡素(6-Methoxy-2-benzoxazolinone，或稱Coixol)、香草醛、咖啡酸及沒食子酸購自Sigma Co.，以70%甲醇溶解之並製作不同濃度的標準液，以高效液相層析儀分析之，方法如下：

1. 使用儀器Hitachi L-7100幫浦搭載L-7400 UV偵測器。分離管柱Mightysil RP-18 GP250 x 4.6 mm (粒子直徑5 µm) (Kanto Chemical Co.).
2. 前置管柱ICsep ICE-GC-801 Guard kit (Transgenomic Co.)
3. 管柱溫度(Column thermostat): 35 °C
4. 流速：1.0 mL/min
5. 流動相為 A: 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; B: 甲醇. 沖提程式如下：

時間 (min)	A (百分比)	B (百分比)
0	100	0
10	70	30
28	30	70
40	0	100
50	0	100

6. 波長：以 UV 280 nm 偵測。

### (四) GC-MS分析與標準品

GC/MS為瓦理安公司出產之Varian 3900 GC搭配Saturn 2100質譜儀，裝置之層析管柱為RESTEK RTX® -1管柱，30 m, 0.25 mm I.D., 0.5 µm df.分離條件以氦氣1 mL/min，注射口溫度，250°C，注射 1µL (splitless mode)，管柱初溫度50°C維持2分鐘，隨後以每分鐘上升10°C至

180°C，再以每分鐘5°C上升至230°C並維持20分鐘後結束。由於薏仁酯難以從萃取之薏苡油脂中分離，目前並無純物質販售，標準品為喬本生醫公司所提供，棕櫚油烯酸(palmitolenic acid)為購自Sigma公司之標準品，另外喬本生醫公司亦提供薏苡麩皮超臨界萃取油脂樣品供測試。本試驗另外以50%乙醇萃取薏苡種殼，以文獻所發表之薏苡內醯胺化合物質體圖譜，在分析時以選擇性離子監控模式(Selected-ion monitoring, SIM)比對萃取物中是否有符合的成分。

#### (五)系統再現性的測試

將標準品與臺中3號糙薏仁樣品分別連續注射四次，以吸收峰面積與滯留時間，計算其相對標準偏差(Relative Standard Deviation, RSD)，具以判斷系統的穩定性與適用性。

#### (六)雷達圖之建立

將不同品種、來源之薏苡樣品，以HPLC檢測分析所得的吸收峰圖譜標記並且編號，計算各個樣品吸收峰相對面積比值和其平均值，並求其標準差值(S.D.)與相對應的化合物編號。以HPLC各吸收峰編號為外圍圓圈之座標，相對應於各吸收峰編號之相對面積比值作為該座標的數值，製作成藥材化學指紋雷達圖譜，可以了解各個樣品所含成分的多寡與類型，了解品種或產地對於藥材成分的影響性。

## 結果與討論

#### (一)標準品之HPLC分析與系統再現性

文獻中關於薏苡曾被報導的重要成分為薏苡素<sup>(12-14)</sup>，其他之酚類化合物包括沒食子酸、香草醛、咖啡酸等<sup>(4)</sup>，這些酚酸類成分以280 nm可以偵測到最豐富的含量。其他多元酚類則因共振架構的變化，偵測之波長從UVB到可見光區都有可能，視種類而定，如花青素類可在530~550 nm偵測，蕎麥之芸香苷、異槲皮素(isoquercetin)、楊梅素、槲皮素等則皆多以355~360 nm偵測。

本試驗以5, 10, 25, 50, 100 ppm等不同濃度製作標準品包括沒食子酸、香草素、咖啡酸以及薏苡素，以四個獨立配置的50 ppm標準品樣品分別注入本HPLC系統，其平均滯留時間分別為3.55, 7.68, 8.96, 11.98 min (圖三)，相對的標準偏差皆落在0.014之內(表二、絕對滯留時間)，顯示本HPLC分離系統條件相當穩定，再現性亦高。各個標準品的吸收峰積分面積的相對標準差(RSD)除了咖啡酸變化較大為0.070之外，其餘介於0.028~0.041之間，顯示標準品的配製和系統分析總合的變異也落在合理的範圍之內。

#### (二)糙薏苡化學指紋分析圖譜的建立

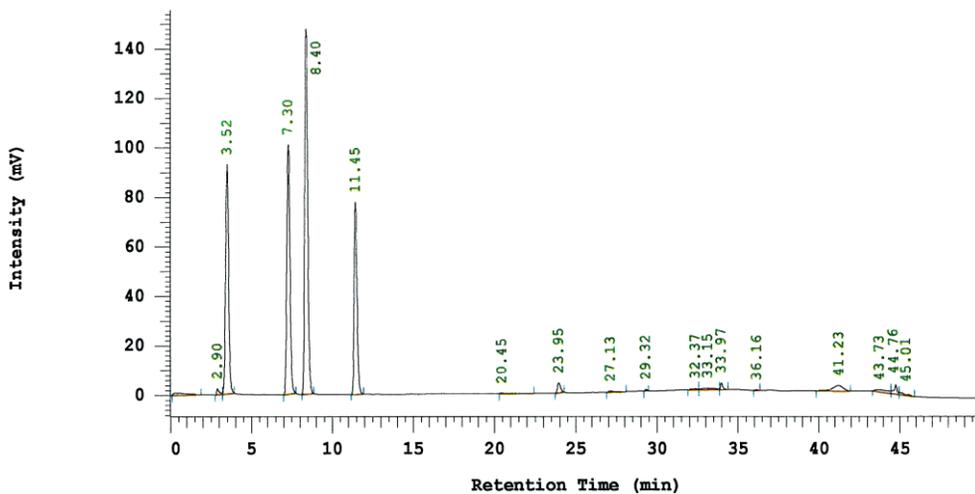
為了要建立不同品種、產地所生產糙薏苡的化學指紋分析圖譜，本試驗先以臺中場所栽培生產的薏苡臺中3號為材料，將糙薏仁磨粉至70 mesh後以超音波及震盪輔助萃取。萃取液過濾之後以HPLC分析之，首先測試磷酸水溶液與甲醇不同梯度混合的效果(資料未顯示)，以

較佳之梯度(如材料與方法)重複分析3次，以了解本分析方法的穩定性。又因文獻中提及薏苡含有多種的酚酸類成分，在以醇類為提取溶劑的情形下，酚酸與具有抗癌作用的薏苡內醯胺化合物也有相當高的溶解度，因此選定具有代表性的UV 280 nm為偵測波長。從薏苡分析圖譜中可以發現，在滯留時間 27.66, 30.82, 34.31 min 時有三個明顯的吸收峰(圖四)，其餘成分相對較微量。從層析圖譜中，也可以看到在 30.08與44.77時有吸收峰，因此將這五個波峰一併考慮作為糙薏仁的特徵成分(表三)。

表二、四個薏苡成分標準品之絕對滯留時間與吸收峰面積再現性分析

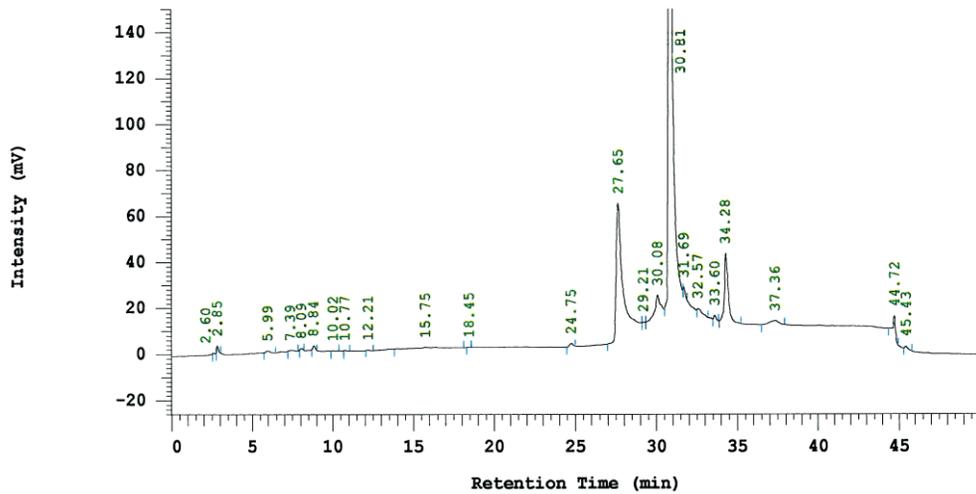
Table 2. The reproducibility of absolute retention time and absorption peak area of 4 standards employed in this analysis.

Standards	1 <sup>st</sup> injection	2 <sup>nd</sup> injection	3 <sup>rd</sup> injection	4 <sup>th</sup> injection	average	± RSD.
Retention time (min)						
Caffeic acid	3.61	3.52	3.53	3.53	3.548	0.012
Gallic acid	7.78	7.61	7.64	7.67	7.675	0.010
Vanillin	9.05	8.91	8.92	8.95	8.958	0.007
coixol	11.86	11.91	11.93	12.22	11.980	0.014
Absorption peak area						
Caffeic acid	709920	752865	654252	651123	692040	0.070
Gallic acid	1191910	1158275	1245795	1242692	1209668	0.035
Vanillin	1424730	1367945	1329746	1375215	1374409	0.028
coixol	1877190	1839535	1743011	1724586	1796081	0.041



圖三、咖啡酸、香草醛、沒食子酸及薏苡素之 HPLC 分析，平均滯留時間依序為為 3.55, 7.68, 8.96, 11.98 分鐘，濃度為 50 ppm 以 UV 280 nm 偵測。

Fig. 3. HPLC analysis of standards caffeic acid, vanillin, gallic acid and coixol (50 ppm each, UV 280 nm), the average retention time is 3.55, 7.68, 8.96, 11.98 min, respectively.



圖四、本場臺中 3 號糙薏仁萃取成分之 HPLC 層析圖譜。

Fig. 4. The HPLC chromatogram of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi* var. Taichung No. 3.

表三、薏苡臺中 3 號糙薏仁進樣三次之絕對滯留時間(分)比較

Table 3. Comparison of absolute retention time of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi* var. Taichung No. 3

Sample component	1 <sup>st</sup> injection	2 <sup>nd</sup> injection	3 <sup>rd</sup> injection	average	± RSD.
Peak 1	27.67	27.65	27.65	27.66	0.0004
Peak 2	30.08	30.08	30.09	30.08	0.0002
Peak 3	30.81	30.81	30.85	30.82	0.0007
Peak 4	34.29	34.28	34.35	34.31	0.0011
Peak 5	44.76	44.72	44.84	44.77	0.0014

由HPLC圖譜及分析資料可知(未顯示)，在滯留時間25~35分鐘之間，累積的吸收峰面積達總面積的90%左右，為主要成分被洗出的區域，除了上述五個相對明顯的波峰之外，其他成分在本試驗條件下相對並不明顯(圖四)，這是因為在滯留時間27.67, 30.81, 34.29等3個吸收峰含量豐富或同時具有高吸光度，在圖譜上相對突出，其他成分需要以相對細微尺度來檢視。

在系統穩定性試驗分析方面，以本場收穫的臺中3號糙薏仁3個獨立樣品系列進樣之滯留時間相當穩定，相對標準偏差都低於0.0014(表三)，甚至低於標準品的相對標準差，顯示本分析分離條件具有高度穩定性。絕對滯留面積的變化則較大，吸收峰1-4的相對標準偏差介於0.0108~0.0533之間，吸收峰5則變異較大，達0.1915，較不適合作為指標特徵成份(表四)。吸收峰1~4的相對滯留面積占總積分面積高於95%，顯示此4個成分具有高度的代表性可作為指標成分(表五)。

表四、薏苡臺中 3 號糙薏仁進樣三次之絕對滯留積分面積之比較

Table 4. Comparison of absolute absorption peak area of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi* var. Taichung No. 3

Sample component	1 <sup>st</sup> injection	2 <sup>nd</sup> injection	3 <sup>rd</sup> injection	average	± RSD.
Peak 1	1919406	1890700	1964606	1924904	0.0194
Peak 2	795790	775954	858664	810136	0.0533
Peak 3	8225349	8166940	8924242	8438844	0.0499
Peak 4	461272	470599	462729	464867	0.0108
Peak 5	82007	112079	81284	91790	0.1915
Cumulative peak area	11483824	11416272	12291525	11730540	0.0415

表五、薏苡臺中 3 號糙薏仁進樣三次之相對滯留積分面積百分比之比較

Table 5. Comparison of relative absorption peak area of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi* var. Taichung No. 3

Sample component	1 <sup>st</sup> injection	2 <sup>nd</sup> injection	3 <sup>rd</sup> injection	average	± R.S.D
Peak 1	16.255	16.035	15.389	15.89	0.028322
Peak 2	6.739	6.581	6.726	6.68	0.013126
Peak 3	69.659	69.262	69.906	69.61	0.004667
Peak 4	3.906	3.991	3.625	3.84	0.049873
Peak 5	0.695	0.951	0.637	0.76	0.219554
Cumulative peak area (%)	97.25	96.82	96.28	96.79	0.32

### (三)不同品種及栽培區域糙薏苡化學指紋分析圖譜的建立

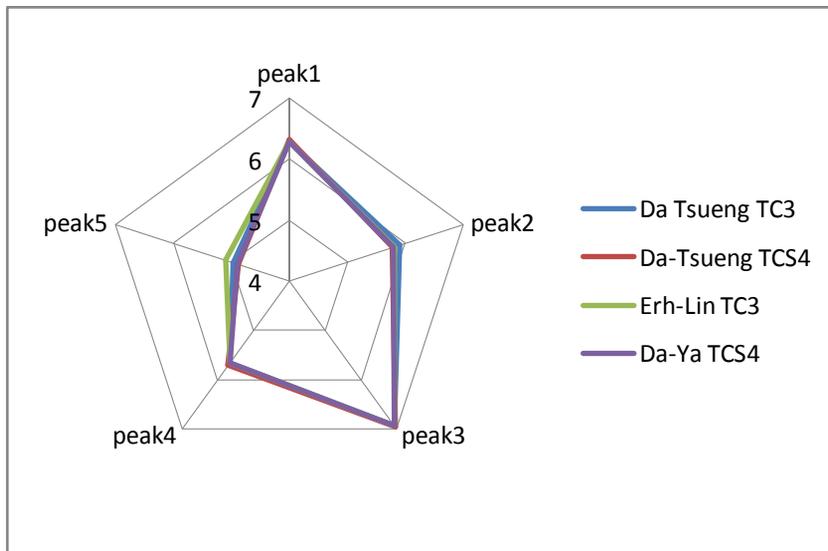
爲了瞭解本場所育成薏苡品種的指標成分是否有差異，以及在不同地區栽培後是否會受到影響，本試驗採用 2013 年於大村本場所自行栽培的 2 個薏苡品種，與二林、大雅所生產的薏苡臺中 3 號與臺中選育 4 號糙薏仁互相比較，由分析結果可知，不論是品種或栽培地區之間，糙薏苡的萃取成分都有相當接近的圖譜，不同吸收峰絕對滯留面積的模式接近(表六)，將吸收峰面積轉化爲雷達圖可發現互相重疊，品種與栽培地區對於主要指標成分模式影響有限(圖五)。

### (四)精白薏苡化學指紋分析圖譜的建立

由於薏苡麩皮含有高含量的脂肪酸而容易氧化劣變，精白薏苡爲目前國內進口薏苡商品主要的銷售型式，以避免因麩皮氧化而產生油耗味。爲了瞭解精白薏苡的二次代謝物成份，本試驗將糙薏苡磨去約 30% 重量成爲精白薏苡後以相同條件進行萃取分析，從薏苡分析圖譜中可以發現，在滯留時間 2.86, 24.79, 27.67, 30.86, 34.33, 44.76, 45.08 min 時有 7 個相對明顯穩定的吸收峰(圖六)，但是整體成分在 UV 280 nm 的吸光度大幅下降，由三個獨立樣本進樣後 7 個吸收峰的絕對滯留時間分析(資料未呈現)，其相對偏差均低於 0.0023，可知本分析條件也有相當高的穩定性。

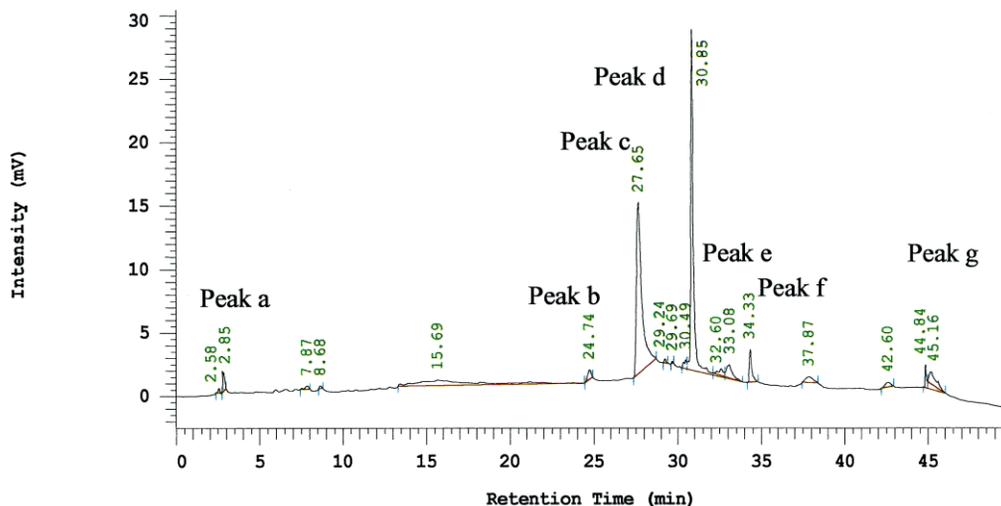
表六、於不同地區栽培之臺中 3 號及臺中選育 4 號糙薏仁萃取物指標成份絕對滯留面積之比較。  
Table 4. The absolute absorption peak area of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi*. The varieties Taichung No. 3 (TC 3) and Taichung Selection No.4 (TCS 4) were grown at different locations for comparison.

Cultivation Area variety	Da-Tsueng	Da-Tsueng	Erh-Lin	Da-Ya
	TC 3	TCS 4	TC 3	TCS 4
peak 1	1924904	2059742	1879471	1909913
± R.S.D.	0.019	0.100	0.007	0.005
peak 2	810136	598482	653606	618248
± R.S.D.	0.053	0.431	0.041	0.039
peak 3	8438843	8871109	8511473	8420275
± R.S.D.	0.050	0.070	0.041	0.036
peak 4	464867	508458	458637	463994
± R.S.D.	0.011	0.143	0.002	0.025
peak 5	91790	75986	128030	79954
± R.S.D.	0.191	0.147	0.689	0.233
Total	11730540	12113779	11631217	11492383
± R.S.D.	0.042	0.058	0.034	0.024



圖五、栽培於大村、大雅及二林之薏苡臺中 3 號與臺中選育 4 號，其糙薏仁主要特徵成分在 280 nm 絕對滯留面積(對數值，參閱表四)的比較。

Fig. 5. Comparison of 5 major peak area (log scale, refer to Table 4) of extracts of unpolished seeds of *Coix lacryma-jobi*. The varieties Taichung No. 3 (TC 3) and Taichung Selection No. 4 (TCS 4) were grown at different locations.



圖六、二林臺中 3 號精白薏仁萃取成分之 HPLC 層析圖譜。

Fig. 6. HPLC chromatogram of polished seeds of *Coix lacryma-jobi* Taichung No. 3 grown at Erh-Lin.

如果將精白薏苡和糙薏苡的層析圖譜互相比對，可以發現精白薏苡的吸收峰 c-f (RT 27.67, 30.86, 34.33, 44.76 等 4 個) 可和糙薏苡相對應，換言之，這 4 個成分是精白薏苡和糙薏苡共通的成份，而其滯留時間非常接近，比較精白薏苡和糙薏苡重疊吸收峰的面積資料可以發現，原本在糙薏苡中出現的許多吸收峰，在精白之後便完全消失，雖然研磨掉的麩皮重量約佔種子 30%，然而整體吸收峰的面積減少到原本的 7.46% (資料未顯示)，其中損失最主要的成份為吸收峰 d，僅餘原本的 3.5%，吸收峰 c 在糙薏苡中原本僅佔吸收峰 d 的 23%，但是精白之後其成份與吸收峰 4 相當(圖六)。

由於薏苡的機能性成份相當豐富，不同貯存條件也可能造成指標成分的變化，很難由單一指標來判定不同批次產品的優劣<sup>(4)</sup>，薏苡成分如蛋白質、脂肪酸、酚酸、植物固醇、薏苡素等物質在國產與進口產品中互有高低變化，在 4°C 及 25°C 下貯放半年之後，相同材料的成分也會變化，並且無明顯規律可循。

#### (五) 國產薏苡中薏苡素含量的分析

薏苡素的分析依照本研究之 HPLC 分析條件，其平均滯留時間為 11.98 min (表二)，以不同濃度標準液所建立之標準曲線其相關係數為 0.99，薏苡精白種子、麩皮和種殼中薏苡素的含量，即依此公式計算。前人研究顯示，薏苡素成分在種殼中最高<sup>(4)</sup>，其次為麩皮，最低為精白薏仁，本次試驗所得趨勢大致相同，但本試驗樣品含量較其報告為低，同時在精白薏苡中偵測不到薏苡素的存在，可能為萃取方式不同之故。本試驗中臺中 3 號的成分比臺中選育 4 號為高，未來有必要再作多年期的比較分析，以了解品種和栽培地區的影響，同時考慮各年度種子中二次代謝物成分穩定性。

表七、臺中3號及臺中選育4號薏苡之薏苡素含量分析

Table 7. Coixol content of TC No. 3 and TCS No. 4

Coixol content (ppm)	TC No. 3	TCS No.4	*Reference 4
Polished seed	n.d.	n.d.	82-159
Bran	107	75	191-245
Hull	524	229	520-2197

文獻資料：萃取條件為室溫下以正己烷萃取 24 hr，萃取 2 次。

Ref 4: The protocol used hexane to extract twice for 24h at room temperature.

### (六)臺中3號薏苡種殼中內醯胺化合物之GC/MS分析

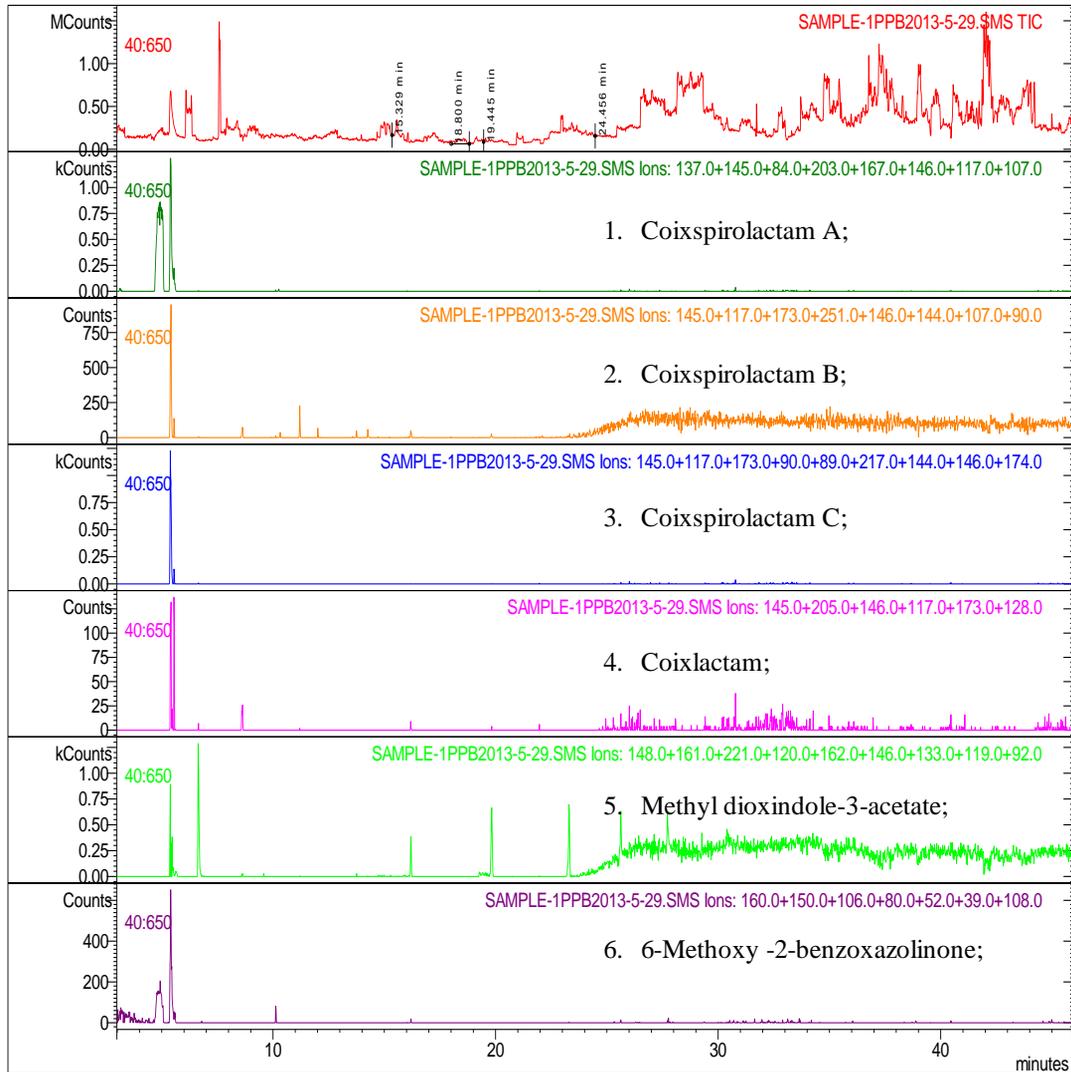
由於目前無法購得內醯胺化合物標準品，故以文獻所發表之各個化合物數據(表一、 $m/z$ 值)來搜尋所本分析樣品中是否含有相對應的化合物存在。在樣品的GC圖譜分析主要波峰出現在4~10分鐘之間，在25分鐘後所出現的訊號為干擾物雜訊。參考表一依序輸入薏苡內醯胺化合物的質體片段圖譜數據，即可篩選出含有相對應片段的波峰。雖然文獻指出，不同的儀器設備分析相同物質，可能產生不同片段模式，但是從本分析結果觀察，縱使片段模式數量有差異，仍可篩選出低雜訊背景訊號的單一波峰(圖七)。從各個成分的波峰面積與峰值來推估這6種成分的相對豐富度，以Coixspirolactam A含量最為豐富，最低為Coixlactam，而後者也是江等所發現之薏苡新成分<sup>(10)</sup>。另外化合物Methyl dioxindole-3-acetate，在0~30分鐘之間出現7個明顯峰值，推測為同分子量的成份，這些成分的確定有待進一步分析。

## 結論與建議

本試驗以HPLC建立糙薏苡和精白薏苡在280 nm之化學指紋分析圖譜，其中三個吸收峰在糙薏苡和精白薏苡樣品具有高再現性與穩定性，未來可作為品管的指標成分。從化學指紋分析圖譜顯示，臺中選育4號和臺中3號的成分類型及含量相當接近，栽培地區大雅、大村或二林對成份之影響有限。糙薏苡磨去籽實30%重量之後，前述吸收峰之絕對滯留面積損失85~96%的吸光值，顯示薏苡主要機能性成分存在於麩皮。由於薏苡的機能性成份含量可能受到品種與栽培地區、栽培技術之影響，在本試驗中以主要吸收峰的絕對面積總合作為評估機能性成分比較之依據，發現所測試的2個品種在3個區域所栽培的組成份相當接近，但未來仍須增加取樣數並盡可能比較不同年份所生產薏苡成分的差異。

在機能性成分研究方面，薏仁酯雖為薏苡之特殊代謝物，在1960年代由日本學者所研究分離之後，幾乎無醫學文獻發表其功效，薏仁酯的酯解代謝產物palmitoleic acid和vaccenic acid也普遍存在於食品中，應不是主要機能性成分，反觀薏苡素和同系列的薏苡內醯胺化合物等利用醇提取，或是以二氧化碳超臨界萃取的油溶性成分則為關注之焦點，主要存在於薏苡殼和薏苡麩皮。薏苡麩皮的醇提取物質在許多研究中發現可以作用在中樞神經與調節荷爾蒙，其中的內醯胺化合物同時具有毒殺癌細胞之效果，可開發為醫藥品。由於攝取精白薏苡也具

有調節血糖、降血清中三酸甘油酯、總膽固醇、低密度膽固醇的功效，因此磨去麩皮之後的精白薏苡仍然具有開發為穀類健康食品的潛力。



圖七、以 SIM 模式於 GC/MS 偵測薏苡種殼中內醯胺化合物。

Fig. 7. Detection of Coix lactam compounds using SIM mode in GC/MS.

### 參考文獻

1. 曾勝雄、陳裕星 2007 薏苡臺中2號之育成 臺中區農業改良場研究彙報 97: 1-11。
2. 曾勝雄、陳裕星 2009 薏苡臺中3號之育成 臺中區農業改良場研究彙報 102: 59-69。

3. 黃士禮、陳瑤峰、江文章 1994 省產薏苡籽實中氨基酸、脂肪酸和一般組成份分析 食品科學 21: 67-74。
4. 王思涓 2002 薏苡籽實中特殊生理機能性成分的定量分析與比較 國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文 臺北。
5. 黃士禮、江文章 1999 薏苡籽實各部分之化學組成份及其丙酮萃取液之抗致突變效應 食品科學 26: 121-130。
6. 楊莉君、陳美櫻、許文音、白永河、喻小珠、蔡敬民 1998 薏仁對高血脂病患者脂質與血糖之影響 食品科學 25: 727-736。
7. 楊莉君、蔡敬民 1998 薏苡對倉鼠血漿脂質的影響 食品科學 25: 638-650。
8. 徐明麗、林璧鳳、江文章 1998 糙薏仁對致敏鼠過敏反應之影響 中華營養會誌 23: 161-170。
9. 江文章、徐明麗、蘇瑞斌、龐飛 2000 薏仁加工食品輔助抑制腫瘤功效之評估 醫護科技學刊 1(2): 113-121。
10. 江文章、郭悅雄、李明怡 2012 薏苡籽實麩皮之內醯胺化合物之分離及抗癌細胞增生用途 中華民國專利公報發明專利第I362939號。
11. 江文章 2009 薏仁保健功效研究和產業發展現況 「薏仁和蕎麥的育種栽培、加工利用和保健機能性研究」研討會 1 Jul 2009 國立臺灣大學食品科技研究所。
12. Akoi, M. and N. Tuzihara. 1984. Effects of the hatomugi (*Coix lachryma-jobi* L. var. ma-yuen) on the blood pressure, cholesterol absorption and serum lipids level. *Kaseigaku Zasshi*. 35: 89-96.
13. Park, Y. H. Suzuki, Y. S. Lee, S. Hayakawa and S. Wada. 1988. Effect of coix on plasma, liver, and fecal lipid components in the rat fed on lard or soybean oil cholesterol diet. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 39: 11-17.
14. Hung, B. W., M. T. Chiang, H. T. Yao and W. Chiang. 2005. The effect of adlay oil on plasma lipids, insulin and leptin in rat. *Phytomedicine*. (12): 433-439
15. Takahashi, M., C. Konno and H. Hikino. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. ma-yuen seeds. *Planta Med* 52: 64-65, 1986.
16. Otsuka, H. M. Takeuchi, S. Inoshiri, T. Sato and L. Yamaski. 1988. Anti-inflammatory activity of benzoxaninoids from roots of *Coix lachrymal-jobi* L. var. ma-yuen. *J. Natu. Prod.* 51: 74-79.
17. Kondo, Y. K. Nakajima, S. Nozoe and S. Suzuki. 1988. Isolation of ovulatory-active substances from crops of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L. var. ma-yuen Stapf ). *Chem. Pharm. Bull.* 36: 3147-3152.
18. Hsia, S. M., C. L. Yeh, Y. H. Kuo, P. S. Wang and W. Chiang. 2011. In vivo and in vitro effects of adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. ma-yuen Stapf.) hull extracts on the secretion of progesterone and estradiol. *Exp. Biol. and Med.*, 232: 1181-1194.

19. Chang, H. C., Y. C. Huang and W. C. Hung. 2003. Antiproliferative and chemopreventive effects of adlay seed on lung cancer in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem* 51: 3656-3660.
20. Ukita, T. and A. Tanimura. 1961. Studies on the anti-tumor component in the seeds of *Coix lachryma-Jobi* L. var. Ma-yuen (Roman) Stapf. I. Isolation and anti-tumor activity of Coixenolide. *Chem. Pharm. Bull.* 9. 43-46.
21. Tanimura, A. 1961. Studies on anti-tumor component in the seeds of *Coix lachryma-Jobi* L. var. Ma-yuen (Roman) Stapf. II. The structure of coixenolide. *Chem. Pharm.* 9, 47-53, 1961.
22. Nagao, T. H. Otsuka, H. Kohda, T. Sato and K. Yamaski. 1985. Benzoxazinones from *Coix lachrymal-jobi* L. var. ma-yuen. *Phytochemistry* 24: 2959-2962.
23. Yang, J. H., Y. H. Tseng., H. L. Chang. Y. L. Lee and J. L. Mau. 2004. Storage stability of monascal adlay. *Food Chem.*, 90: 303-309.
24. De Fabiani. E. 2011. The true story of palmitoleic acid: Between myth and reality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 809-811.
25. Destailats, F., E. Buyukpamukcu, P. A. Golay, F. Dionisi and F. Giuffrida. 2005. Letter to the Editor: Vaccenic and rumenic acids, a distinct feature of ruminant fats. *J. Dairy Sci.* 88(2): 449.
26. Wang, Y., J. Lu, M. R. Ruth, S. D. Goruk, M. J. Reaney, D. R. Glimm, D. F. Vine, C. J. Field and S. D. Proctor. 2008. Trans-11 vaccenic acid dietary supplementation induces hypolipidemic effects in JCR:LA-cp rats. *J Nutr.* 138(11): 2117-22.
27. Lock, A. L., B. A. Corl, D. M. Barbano, D. E. Bauman and C. Ip. 2004. The anticarcinogenic effect of trans-11 18:1 is dependent on its conversion to cis-9, trans-11 CLA by delta9-desaturase in rats. *J. Nutr.* 134 (10): 2698-704.
28. Mass Data Bank. 2012. Palmitoleic acid (MassBank Record: MT000064). Retrieved on 2013-09-01. [<http://www.massbank.jp/jsp/Dispatcher.jsp?type=disp&id=MT000064&site=12>]
29. National Institutes of Science and Technology. 2011. 6-Methoxy-2-benzoxazolinone. Retrieved on 2013-09-01. [<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C532912&Mask=200>].

# The Chemical Fingerprints of Seed Extracts of *Coix lacryma-jobi* of Two Varieties Grown at Different Locations<sup>1</sup>

Yuhsin Chen<sup>2</sup>, Jia-Lun Chang<sup>3</sup>, Yi-Lun Liao<sup>2</sup> and Yun-Kang Lin<sup>2</sup>

## ABSTRACT

Job's tears (*Coix lacryma-jobi*) is traditional Chinese medicinal foods that is nutritious and contains rich functional metabolites. It has been proved to improve hyperlipidemia and hyperglycemia, inhibit tumor growth, enhance functions of immune system, anti-inflammation and regulate endocrine hormones. In order to understand the variation of seed extracts in different varieties and cultivation area. Ultrasonic process assisted methanol extraction was applied for all samples included in this study. The extracts were analyzed by HPLC/UV at 280 nm to compare with its chemical fingerprints. Using present chromatographic condition, 5 major peaks stably representing more than 90% of the total absorption area are identified. After seeds polishing, the absorption peaks decreased by 85-97%, indicating that most of the UV absorption metabolites exist in bran. The chemical fingerprints and amounts of each metabolite are very similar between varieties Taichung No. 3 and Taichung Selection No. 4 grown at Da-Tsueng, Da-Ya and Erh-Lin. In the LC chromatogram, 3 peaks showed stable and reproducibile which can be applied for quality control in the future. The content of coixol can be detected by HPLC. With GC/MS, 5 reported coix lactams and coixol can be detected and relatively quantified. The chemical fingerprints of seed extracts can be employed as basis for the identification of different origin.

**Keywords:** Bran, Hull, Coixol, Coix Lactam, Coixenolide

---

<sup>1</sup> Contribution No. 0838 from Taichung DARES, COA.

<sup>2</sup> Assistant Researcher of Taichung DARES, COA. \* Corresponding author.

<sup>3</sup> BSc of Department of Biotechnology, Hung-Kwang University.