

# 台農66號與紫葉種甘藷葉萃取物之抗氧化活性分析

劉彥廷、

E-mail: 387187@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

在植物性化學物質中，多酚類化合物廣泛存在於蔬菜、水果中，其具強烈的抗氧化能力，研究發現，此類化合物具有清除體內自由基的能力，有助於保護體內組織對抗氧化壓力。本研究是針對TNG 66與紫葉種兩品種之新鮮甘藷葉及乾燥處理過之甘藷葉，經水、40%乙醇、95%乙醇以熱迴流的方式萃取，得其粗萃液，再以減壓濃縮、冷凍乾燥等方式製備萃取物粉末。並進行總酚類化合物、總類黃酮化合物含量、抗氧化活性測定及抑菌能力試驗，其中，抗氧化活性試驗包括：清除 $\cdot$ -diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH)自由基能力、亞鐵離子螯合能力、清除ABTS陽離子自由基能力、三價鐵還原力試驗等。實驗結果顯示，就TNG 66甘藷葉而言，新鮮組萃取率以水萃取時為最高，達2.55%；乾燥組亦以水萃取時為最高，達5.80%。就紫葉種甘藷葉而言，新鮮組萃取率以水萃取時為最高，達3.23%；乾燥組亦以水萃取時為最高，達8.41%。就總酚化合物含量測定，TNG 66甘藷葉萃取物之總酚化合物含量，新鮮組以40%乙醇萃取時為最高，達0.97 mg/g；乾燥組亦以40%乙醇萃取時為最高，達3.52 mg/g。紫葉種甘藷葉萃取物之總酚化合物含量，新鮮組以水萃取時為最高，達2.59 mg/g；乾燥組以40%乙醇萃取時為最高，達5.26 mg/g。就總類黃酮含量測定，TNG 66甘藷葉萃取物之總類黃酮含量，新鮮組以水萃取時為最高，達0.63 mg/g；乾燥組以95%乙醇萃取時為最高，達1.91 mg/g；紫葉種甘藷葉萃取物之總類黃酮含量，新鮮組以水萃取時為最高，達6.11 mg/g；乾燥組以40%乙醇萃取時為最高，達5.66 mg/g。於抗氧化活性方面，以紫葉種甘藷葉乾燥組之95%乙醇萃取物表現最佳，當萃取物濃度為0.8 mg/mL時，清除DPPH自由基能力達到99.7%；當萃取物濃度為4.0 mg/mL時，亞鐵離子螯合能力，達到最高99.3%；當濃度為0.8 mg/mL時，清除ABTS陽離子自由基能力達到最高99.9%；當濃度為0.8 mg/mL時，還原能力達61.3%之相對還原能力。在抑菌試驗中則以紫葉種甘藷葉新鮮組40%乙醇萃取物表現最佳，在低濃度0.05 mg/mL下仍有良好的抑菌效果，抑菌圈為11.0 mm。

關鍵詞：紫葉種甘藷、甘藷葉、總酚類化合物、總類黃酮化合物、抗氧化活性試驗

## 目錄

封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 v 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 xi 表目錄 xiii 1. 緒論 1 2. 文獻回顧 2 2.1 甘藷 2 2.1.1 台灣甘藷生長情形 2 2.1.2 甘藷葉簡介 3 2.1.3 甘藷葉之研究 6 2.2 抗氧化力之研究 7 2.2.1 自由基定義 7 2.2.2 氧化壓力與疾病 8 2.3 抗氧化劑 8 2.4 多酚類化學結構之介紹 9 2.5 多酚類的食物來源 13 2.6 多酚類的抗氧化能力 14 2.7 微生物 16 2.8 甘藷葉之成分 16 3. 材料與方法 17 3.1 實驗材料 17 3.2 萃取物製備 17 3.3 試驗藥品 18 3.4 實驗設備 19 3.5 實驗架構 20 3.6 抗氧化成分含量分析 20 3.6.1 總酚含量測定 20 3.6.2 總類黃酮含量測定 22 3.7 抗氧化活性測定 23 3.7.1 清除DPPH自由基能力試驗 23 3.7.2 亞鐵離子螯合能力試驗 23 3.7.3 清除ABTS自由基能力試驗 24 3.7.4 還原能力 24 3.8 HPLC成分分析 25 3.9 抑菌試驗 25 4. 結果與討論 26 4.1 甘藷葉之萃取率 26 4.2 總酚化合物與總類黃酮含量測定 26 4.3 抗氧化活性試驗 31 4.3.1 清除DPPH自由基能力 31 4.3.2 亞鐵離子螯合能力 36 4.3.3 清除ABTS陽離子自由基能力 38 4.3.4 還原力 43 4.3.5 甘藷葉萃取物抗氧化試驗之半抑制濃度 48 4.4 HPLC成分分析 53 4.5 甘藷葉萃取物對微生物的抑菌圈試驗 53 4.5.1 甘藷葉萃取物對金黃葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)的抗菌作用 55 4.5.2 甘藷葉萃取物對大腸桿菌(*Escherichia coli*)的抗菌作用 55 5. 結論 64 參考文獻 65 附錄 71 圖目錄 xi 圖2.1 台農66號 4 圖2.2 主要多酚類之化學結構 10 圖2.3 類黃酮之化學結構 11 圖3.1 實驗架構 21 圖4.1 新鮮TNG 66甘藷葉萃取物清除DPPH自由基之能力 32 圖4.2 TNG 66甘藷葉乾燥組萃取物清除DPPH自由基之能力 33 圖4.3 新鮮紫葉種甘藷葉萃取物清除DPPH自由基之能力 34 圖4.4 紫葉種甘藷葉乾燥組萃取物清除DPPH自由基之能力 35 圖4.5 新鮮TNG 66甘藷葉萃取物亞鐵離子螯合能力 37 圖4.6 TNG 66甘藷葉萃取物乾燥組亞鐵離子螯合能力 39 圖4.7 新鮮紫葉種甘藷葉萃取物亞鐵離子螯合能力 40 圖4.8 紫葉種甘藷葉萃取物乾燥組亞鐵離子螯合能力 41 圖4.9 新鮮TNG 66甘藷葉萃取物清除ABTS陽離子自由基能力 42 圖4.10 TNG 66甘藷葉萃取物乾燥組清除ABTS陽離子自由基能力 44 圖4.11 新鮮紫葉種甘藷葉萃取物清除ABTS陽離子自由基能力 45 圖4.12 紫葉種甘藷葉萃取物乾燥組清除ABTS陽離子自由基能力 46 圖4.13 新鮮TNG 66甘藷葉萃取物之相對還原力 47 圖4.14 TNG 66甘藷葉萃取物乾燥組之相對還原力 49 圖4.15 新鮮紫葉種甘藷葉萃取物之相對還原力 50 圖4.16 紫葉種甘藷葉萃取物乾燥組之相對還原力 51 圖4.17 TNG 66甘藷葉萃取物對金黃葡萄球菌的抑菌圈試驗結果 58 圖4.18 TNG 66甘藷葉萃取物原液對金黃葡萄球菌的抑菌圈試驗結果放大圖 59 圖4.19 紫葉種甘藷葉萃取物對金黃葡萄球菌的抑菌圈試驗結果 60 圖4.20 紫葉種甘藷葉萃取物原液對金黃葡萄球菌的抑菌圈試驗結果放大圖 61 圖4.21 TNG 66甘藷葉萃取物對大腸桿菌的抑菌圈試驗結果 62 圖4.22 紫葉種甘藷葉萃取物對大腸桿菌的抑菌圈試驗結果 63 表目錄 xiii 表2.1 數種蔬菜水解液中黃酮醇及黃酮HPLC分析結果 5 表4.1 甘藷葉不同品種之不同溶劑萃取率 28 表4.2 不同溶劑萃取甘藷葉之總酚化合物含量 29 表4.3 不同溶劑萃取甘藷葉之總類黃酮含量 30 表4.4 不同溶劑萃取甘藷葉之半抑制濃度( IC<sub>50</sub> ) 52 表4.5 HPLC分

## 參考文獻

- 1.于立芹、劉捷、盧奎。2008。紅藷葉多醣提取工藝的優化。河南工業大學學報 29(1):37-41。
- 2.江蘇新醫學院。1997。中藥大辭典(下冊):2410,上海人民出版社。上海,中國。
- 3.向仁德、丁鍵辛、韓英。1994。引種的巴西甘藷葉化學成分研究。中草藥 25(4):179—181
- 4.林雅玲、陳巧明、胡雪萍、張文心、劉珍芳。2007。不同烹調方法對台灣鄉土蔬菜-紅甘藷葉中多酚類含量及生體可利用率之影響。台灣營養學會雜誌 32: 37-45。
- 5.周樹南。2001。食品添加劑的危險評估與發展。江蘇衛生保健 3(3):6-7
- 6.高玉清。1998。自由基。第25-39頁。活泉出版。台北,台灣。
- 7.許夏芬、張肇麟、朱燕華。2000。數種蔬菜中類黃酮含量及抗氧化分析。台灣農業化學與食品科學 38:377-387。
- 8.張彧、吳?。2006。紅薯莖葉化學組成的研究進展。食品科學 27(03):252-255。
- 9.湯淑貞。2000。台灣紅色鄉土蔬菜萃取物之抗氧化效力研究。中國文化大學生活應用科學研究所碩士論文。台北,台灣。
- 10.黃美子。2006。紅色鄉土蔬菜-紅甘藷葉粗萃物對人類結直腸癌細胞之影響。臺北醫學大學保健營養學系碩士論文。台北,台灣。
- 11.黃忠村。2001。應用微生物。復文書局。台南。
- 12.黃為瑜。2003。紅色鄉土蔬菜中類黃酮抗氧化力及其對淋巴球 DNA 氧化損傷的保護作用。私立中國文化大學生活應用科學研究所碩士論文。台北,台灣。
- 13.黃昭穎。2009。不同乾燥條件對紫色肉甘藷中機能性分析及其抗氧化活性的影響。大葉大學生物產業科技學系研究所,碩士論文。彰化,台灣。
- 14.鄒耀洪。1996。國產甘藷葉黃酮類成分研究。分析測試學報 15(1):71-74。
- 15.鄭雅分。2005。探討紅甘藷葉對餵食炸油老鼠結直腸癌化生成之效應。臺北醫學大學保健營養學系碩士論文。台北,台灣。
- 16.臺灣省農業試驗所,嘉義農業試驗分所。1993。食用甘藷品種。嘉義農業試驗分所。嘉義,台灣。
- 17.劉法錦、金幼蘭、彭源青。1991。蕃薯藤化學成分的研究。中國中藥雜誌 (9):551
- 18.賴志河、張芸潔。2002。醫學微生物及免疫學。新文京開發出版。台北。
- 19.譚桂山、徐平聲、戴智勇。1995。引種巴西甘藷葉化學成分研究。天然產物研究與開發 7(4):44-46
- 20.蘇正德、陳正雄。2001。新編食品化學。華格企業。台中。
- 21.Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews. 56(11): 317-33.
- 22.Chu, Y. H., Chang, C. L., Hsu, H. F. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80:561-566
- 23.Clifford, M. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates: nature, occurrence and dietary burden. Journal of the Science of Food and Agriculture. 79: 362-372.
- 24.Crozier, A. L. M., McDonald, M. S. and Black, C. 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomato, onion, lettuce, and celery. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 45 : 590-595.
- 25.Frankel, E. N., W. A., Teissedre, P. L. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 43 : 890-894.
- 26.Gould, D. G. W. 1996. Natural antimicrobials from plants. New Method of Food Preservation. 40:57
- 27.Hakim, I. A., Harris, R. B., Brown, S., Chow, H. H., Wiseman, S., Agarwal S. and Talbot, W. 2003. Effect of increased tea consumption on oxidative DNA damage among smokers: a randomized controlled study. The Journal of Nutrition. 133(10): 3303S-3309S.
- 28.Halliwell, B. and Kaur, H. 1994. Detection of hydroxyl radical by aromatic hydroxylation. Method Enzyme. 233:67-82
- 29.Halliwell, B. 1994. Free radical and antioxidant: A personal view. Nutrition Reviews. 52:253-265
- 30.Hertog, M. G., Feskens, E. J., Hollman, P. C., Katan, M. B. and Kromhout, D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease : the Zutphen Elderly Study. Lancet. 342(8878): 1007-11.
- 31.Hollman, P. C., Van Trijp, J. M., Buysman, M. N., Van Der Gaag, M. S., Mengelers, M. J., De Vries, J. H. and Katan, M. B. 1997. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. Federation of European Biochemical Societies Letters. 418(1-2): 152-6.
- 32.Hou, D. X., Ose, T., S. Lin, Harazoro, K., Imamura, I., Kubo M., Uto, T., Terahara, N., Yoshimoto, M. and Fujii, M. 2003. Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: structure-activity relationship and mechanisms involved. International journal of oncology. 23(3): 705-12.
- 33.Iijima, K., Yoshizumi, M., Hashimoto, M., Akishita, M., Kozaki, K., Ako, J., Watanabe, T., Ohike, Y., Son, B., Yu, J., Nakahara K. and Ouchi, Y. 2002. Red wine polyphenols inhibit vascular smooth muscle cell migration through two distinct signaling pathways. Circulation. 105(20) : 2404-10.
- 34.Iijima, K., Yoshizumi, M., Hashimoto, M., Kim, S., Eto, M., Ako, J., Liang, Y. Q., Sudoh, N., Hosoda, K., Nakahara, K., Toba, K. and Ouchi, Y. 2000. Red wine polyphenols inhibit proliferation of vascular smooth muscle cells and downregulate expression of cyclin A gene. Circulation. 101(7) : 805-11.
- 35.Knekt, P., Jarvinen, R., Reunanen, A. and Maatela, J. 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. British Medical Journal. 312(7029) : 478-81.
- 36.Laranjinha, J., Vierira, O., Almeida, L. and Madeira, V. 1996. Inhibition of metmyoglobin/H2O2-dependent low density lipoprotein lipid peroxidation by naturally occurring phenolic acids. Biochemical Pharmacology. 51(4): 395-402.
- 37.Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. 79(5):727-47.
- 38.Mouly, A. C., Gaydou, E. M. and Estienne, J. M. 1994. Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. Journal of the Science of Food and Agriculture. 42: 70-79.
- 39.Ness, A. R. and Powles, J. W. 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. International Journal of Epidemiology. 26(1): 1-13.
- 40.Nielsen, S. E., Young, J. F., Daneshvar, B., Lauridsen, S. T., Knuthsen, P., Sandstrom, B. and Dragsted, L. O. 1999. Effect of parsley (Petroselinum crispum) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. British Journal of Nutrition. 81(6) : 447-55.
- 41.Nigdikar, S. V., Williams, N. R., Griffin, B. A. and Howard, A. N. 1998). Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. American Journal of Clinical Nutrition. 68(2):258-65.
- 42.Oki T., M. M., Furuta S, Nishiba Y., Terahara N. and Suda I. 2002. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. Journal of Food Science 67: 1752-1756.
- 43.Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products. 63(7): 1035-42.
- 44.Reinli K., B. G. 1996. Phytoestrogen content of

foods: a compendium of literature values. *Nutrition and Cancer*. 26: 123-148. 45. Rice-Evans, C. 2001. Flavonoid antioxidants. *Current Medicinal Chemistry's*. 8(7):797-807 46. Scalbert, A., Morand, C., Manach, C. and Remesy, C. 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother*. 56(6): 276-82. 47. Schneider, Y., Vincent, F., Duranton, B., Badolo, L., Gosse, F., Bergmann, C., Seiler, N. and Rau, I. F. 2000. Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Letters*. 158(1): 85-91. 48. Simic, M. G. 1988. Mechanisms of inhibition of free radical processes in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*. 202:377-386 49. Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*. 7(6): 581-91. 50. Yochum, L., L. H. Kushi, K. Meyer and Folsom, A. R. 1999. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology*. 149(10): 943-9. 51. Yoshimoto, M., Okuno, S., Yoshinaga, M., Yamakawa, O., Yamaguchi M. and Yamada, J. 1999. Antimutagenicity of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) roots. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 63(3) : 537-41. 52. Vendemiale, G., Grattagliano, I. and Altomare, E. 1999. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *International Journal of Clinical & Laboratory Research*. 29(2): 49-55.