

Antioxidative Activities of *Amaranthus viridis* L.

謝衣盈、

E-mail: 387189@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

In this study, common folk of *A. viridis* (*Amaranthus viridis* L., 1763) as the research object. Currently *A. viridis* in antioxidant research, still lack a complete understanding of rigorous scientific experiments. In this study, the use of distilled water, 20% ethanol and 40% ethanol, respectively, three solvents ethanol extraction *A. viridis* flowers, stems and roots of three parts, and conduct analysis of antioxidant activity. The study includes analysis and antioxidant activity of antioxidant content determination, component analysis, anti-microorganism. The results showed that extraction with distilled *A. viridis* flower parts can be measured much more contents of total phenols (TPC) was 96.1 ± 0.06 mg/g; solution was extracted with 40% ethanol in *A. viridis* flower parts measured more contents of total flavonoids (TFC) was 7.68 ± 0.09 mg/g. Comprehensive analysis of the antioxidant activity, including DPPH scavenging ability test, ferrous ion chelating ability test, reducing power test, superoxide anion scavenging ability test, ABTS + scavenging ability test. Found that 40% ethanol solvent extraction *A. viridis* flower parts can be extracted into higher antioxidant effect. For *Escherichia coli* (BCRC number: 13089), *Staphylococcus aureus* (BCRC number: 14958) and *Bacillus subtilis* (BCRC number: 10447) of anti-microorganism tests. Comprehensive inhibit microbial photos found that 40% ethanol extract can be more significant to the inhibitory effect. Objective focuses on plant antioxidant ingredients to look forward to the future as a result helps to regulate physiology, strengthen the immune system, disease prevention, health promotion and other inhibiting aging and functional foods in the development.

Keywords : *Amaranthus viridis* L., antioxidative activity, functional foods, HPLC analysis, anti-microorganism tests

Table of Contents

目錄 封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 v 誌謝 vi 圖目錄 xi 表目錄 xiii
1. 緒論 1
2. 文獻回顧 2
2.1 莧屬植物之介紹 2
2.1.1 野莧菜簡介 5
2.1.2 野莧菜的性狀 7
2.1.3 野莧菜之研究 9
2.2 自由基 12
2.2.1 自由基的介紹 13
2.2.2 抗自由基 16
2.3 槲皮素之介紹 19
2.4 成分分析簡介 21
2.4.1 層析法 21
2.4.2 HPLC的儀器裝置 22
2.4.3 HPLC的應用範圍 24
2.5 抑制微生物試驗 25
2.5.1 抗微生物活性的評估方法 25
2.5.2 微生物計數 27
3. 材料與方法 34
3.1 植物材料 34
3.2 藥品 34
3.3 儀器 36
3.4 實驗用微生物 38
3.5 實驗方法 40
3.5.1 實驗架構 40
3.5.2 植物萃取物之製備 43
3.6 抗氧化成分含量分析 45
3.6.1 總酚含量試驗 45
3.6.2 類黃酮化合物含量 46
3.7 抗氧化能力分析 47
3.7.1 清除DPPH自由基能力 47
3.7.2 還原力 48
3.7.3 螯合亞鐵離子能力試驗 49
3.7.4 超氧陰離子清除能力 50
3.7.5 清除ABTS+ 自由基能力 51
3.7.5 抗氧化效力評估方法 52
3.8 成分分析 53
3.8.1 分光光度計測定之全波長掃描 53
3.8.2 HPLC成分分析 53
3.9 抑制微生物試驗 54
3.10 試驗統計 55
4. 結果與討論 56
4.1 萃取率 56
4.2 抗氧化成分含量分析 56
4.2.1 總多酚類化合物含量 56
4.2.2 類黃酮化合物含量 59
4.3 抗氧化活性分析 62
4.3.1 清除DPPH自由基能力 62
4.3.2 螯合亞鐵離子能力 62
4.3.3 超氧陰離子清除能力 65
4.3.4 清除ABTS+自由基能力 67
4.3.5 還原力試驗 67
4.3.6 抗氧化效力評估 70
4.4 成分分析 72
4.4.1 全波長掃描 74
4.4.2 HPLC分析 74
4.5 抗微生物試驗 76
4.5.1 抗大腸桿菌試驗 76
4.5.2 抗金黃色葡萄球菌試驗 81
4.5.3 抗枯草桿菌試驗 81
5. 結論 86
參考文獻 88
附錄 94
圖目錄 圖 2.1 在臺灣的莧屬植物 4
圖 2.2 在臺灣的野莧菜之分布 6
圖 2.3 野莧菜的性狀 8
圖 2.4 野莧菜與刺莧之比較 10
圖 2.5 活性氧對生活體的傷害及其防禦系統 15
圖 2.6 人體內保護細胞免於受自由基傷害的機制圖 18
圖 2.7 槲皮素的結構 20
圖 2.8 標準平板計數之操作 29
圖 2.9 膜過濾法的裝置與操作方法 31
圖 2.10 混濁度測定法原理 33
圖 3.1 實驗流程圖 41
圖 3.2 抗氧化活性分析及其含量分析 42
圖 3.3 萃取流程 44
圖 4.1 不同溶劑萃取野莧菜之總多酚類含量長條圖 60
圖 4.2 不同溶劑萃取野莧菜之總多酚類含量長條圖 61
圖 4.3 不同溶劑萃取野莧菜對清除DPPH自由基能力之影響 63
圖 4.4 不同溶劑萃取野莧菜對亞鐵離子螯合力之影響 64
圖 4.5 不同溶劑萃取野莧菜對超氧陰離子清除能力之影響 66
圖 4.6 不同溶劑萃取野莧菜對清除ABTS+自由基能力之影響 68
圖 4.7 不同溶劑萃取野莧菜對還原力試驗之影響 69
圖 4.8 不同溶劑萃取野莧菜對相對還原力試驗之影響 71
圖 4.9 以全波長掃描分析野莧菜萃取液 75
圖 4.10 以HPLC分析野莧菜萃取液 77
圖 4.11 抑菌圈示意圖 79
圖 4.12 不同溶劑萃取野莧菜之抑制大腸桿菌 80
圖 4.13 不同溶劑萃取野莧菜之抑制金黃色葡萄球菌 82
圖 4.14 不同溶劑萃取野莧菜之抑制枯草桿菌 83
表目錄 表2.1 在臺灣的莧科植物之整理 3
表2.2 野莧的不同部位之營養成分 11
表2.3 臺灣地區民國101 (2012) 年所有死亡原因 17
表3.1 實驗採用微生物 39
表4.1 不同溶劑萃取野莧菜之萃取率 57
表4.2 不同溶劑萃取野莧菜之總酚類和類黃酮類化合物含量 58
表4.3 不同溶劑萃取野莧菜之半數清除濃度 73
表4.4 以HPLC分析野莧菜萃取物之槲皮素含量 78
表4.5 野莧菜萃取物抑菌圈之比較 85

REFERENCES

- 1.中國國家標準 CNS。1988。經濟部中央標準局。臺北。2.行政院農業委員會林務局 (Forestry Bureau)、中央研究院植物標本館 (Herbarium, Biodiversity Research Center, Academia Sinica, Taipei; HAST)、國立自然科學博物館 (National Museum of Natural Science; NMNS)、臺灣林業試驗所植物標本館 (Herbarium of Taiwan Forestry Research Institute; TAIIF) 及行政院農業委員會特有生物研究保育中心植物組 (Taiwan Endemic Species Research Institute; TESRI) 等資料庫。2011。野苋菜的觀測資料與地理參照資料。參考時間2011, 05。3.行政院衛生署中醫藥委員會 編著。2003, 10。臺灣藥用植物資源名錄 - 野苋菜。第188頁。臺灣。4.吳家駒。2008, 12。抗氧化 / 抗發炎與延緩衰老作用。食品工業40(12):51-61。5.吳晶?。2003。野苋菜及刺苋種子生理生態之研究。國立嘉義大學農學研究所碩士論文。嘉義。6.李文馨、古喬云、張惠婷及張上鎮。2007。林木天然物之抗細菌活性。中華林學季刊 (Quarterly Journal of Chinese Forestry) 40(4):577-587。7.李惠林、劉崇瑞、黃增泉、小山鐵夫及棣慕華。1996。Amaranthus viridis L., 1763. Flora of Taiwan, 1st edition Vol. 2. p. 376. Taiwan. 8.林浩潭。2005。重金屬污染土壤以本土植物復育之探討。重金屬污染土壤以本土植物復育之探討植保會刊47:241-250。9.邱思魁和陳翠卿。2009, 10。數種藥用植物甲醇及熱水萃取物的抗氧化性。臺灣農業化學與食品科學47(5):260-267。10.胡家碩和蕭千祐。2006。多酚年代:引爆抗老、防癌、美膚、纖體保健。星盒子出版事業群。臺北。11.拱玉郎。1997。天然抗氧化劑發展近況。食品工業月刊29(3): 29-37。12.徐玲明。2000, 12。野苋菜和刺苋。農業世界草坪雜草(12):105-107。13.徐維柔。2002。不同乾燥程度處理省產金針之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化。14.國立臺灣大學原住民族研究中心。Center for Indigenous Peoples, Copyright. http://aborigines.biodiv.tw/index.php?option=com_content&view=article&id=44&Itemid=57&genus=Amaranthus&species=viridis 2005。野苋菜的族語拼音。參考時間2011。15.張溢明。2012。應用物種分布模式探討野苋空間分布之研究。逢甲大學土地管理系碩士論文。臺中。16.陳名倫。2012, 09。食品微生物學 - 食品微生物的檢測。第7.4-7.22頁。華格那企業。臺中。17.陳幸臣。1996。水產微生物學實驗法。華香園出版社出版。63-64頁。18.陳虹如。2011。以液相層析質譜法分析及管柱層析法製備臺灣蒲公英之酚酸與類黃酮素。天主教輔仁大學食品學系研究所碩士論文。臺北。19.陳美惠。2009, 09。中草藥材或其發酵產物的抑菌功效。食品工業41(9):42-51。20.陳美璇。2008。臺灣產之不同筋骨草屬脫皮甙酮、總黃酮及抗氧化能力的分析比較。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化。21.陳嘉琪。2006。中藥材及方劑之 HPLC 檢測方法之研究。屏東科技大學農園生產系碩士論文。屏東。22.黃宸瑜。2005。臺灣大百科全書。<http://taiwanpedia.culture.tw/web/content?ID=6543>。文建會。參考時間2010, 11。23.黃慶三。2007。苋菜。<http://taiwanus.net/news/press/2007/200809071835201358>。參考時間2010, 11。24.臺灣生物多樣性訊資網TaiBNET。2003。Amaranthus viridis L., 1763. <http://taibnet.sinica.edu.tw/home.php>。中央研究院生物多樣性研究中心。參考時間2012, 01。25.潘奕廷和劉珍芳。2010。槲黃素的成分與功效。大專體育(107): 101-106。26.蔡文城。1993。實用臨床微生物診斷學。第1023-1110頁。九州圖書文化有限公司。臺北。27.蔣慕琰和蔣永正。2007。臺灣農地雜草概況。農業世界(284):10-18。28.鄭武燦。2000。臺灣植物圖鑑(下冊) - 野苋菜。第1102頁。國立編譯館主編。臺北。29.賴滋漢, 柯文慶及金安兒。1992, 08。食品衛生學實驗。第20~54頁。精華出版社。臺中。30.謝志鴻。2008, 03。食用紅色六號。食品工業40(3):6-8。31.簡錦慈。2004。刺苋之抗氧化性及安全性探討。靜宜大學食品營養學系碩士論文。臺中。32.蘇明德。1998。單重態的氧。科學月刊0347:11-12。33.蘇鵬翰。2011。何首烏之抗微生物與抗氧化活性研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化。34.Agra, M.F., G.S. Baracho, K. Nurit, I.J.L.D. Basilio, V.P.M. Coelho. 2007. Medicinal and poisonous diversity of the flora of " Cariri Paraibano " Brazil. J Ethnopharmacol 111(2):283 – 395. 35.Amin, I., Y. Norazaidah, K.I. Emmy Hainida 2006. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species. Food Chemistry 94: 47 – 52. 36.Arnau, M. B., A. Cano and M. Acosta, 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry 73: 239-244. 37.Ashok Kumar, B.S., Lakshman, K., Jayaveera, K.N., Nandeesh, R., Mani Tripathi, S.N., Vamshi Krishna, N., Manjunath, M and Suresh, M.V. 2009. Estimation of Rutin and Quercetin in Amaranthus viridis L. by High Performance Layer Chromatography HPLC. Ethnobotanical Leaflets 13: 437-42. 38.Bagepalli, S. A. K., K. Lakshman, K. K. N. Jayaveera, D. S. Shekar, C. S. V. Muragan and B. Manoj. 2009. Antinociceptive and Antipyretic Activities of Amaranthus Viridis L. in Different Experimental Models. Avicenna J Med Biotechnol 1(3): 167 – 171. 39.Balinova, A. 1995. Extension of bioautograph technique for multiresidue determination of fungicide residues in plant and water. Analytica Chimica Acta 311: 423-427. 40.Bonoli, M., V. Verardo, E. Marconi, and M. F. Caboni. 2004. Anti-oxidant phenols in barley Hordeum vulgare L. flour: comparative spectro-photometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 5195-5200. 41.Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques, V., Thierry, D., Claude, B., Michel, L., Micheline, C., Jean-Cluade, C., Francois, B., and Francis, T. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat Fagopyrum esculentum Moench. hulls and flour. Journal of Ethnopharmacology 72: 35-42. 42.Garbutt, J. 2006. Essentials of Food Microbiology, Yi-Hsien, Taipei. 43.Hilou, A., O.G. Nacoulmaa, and T.R. Guiguemdeb. 2006. In vivo antimalarial activities of extracts from Amaranthus spinosus L. and Boerhaavia erecta L. in mice. Journal of Ethno pharmacology 103:236-240. 44.Kaur, N., V. Dhuna, S.S. Kamboja, J.N. Agrewala, and Singh J. 2006. A novel antiproliferative and antifungal lactin from Amaranthus viridis Linn seeds. Protein Pept Lett 13(9): 897 – 905. 45.Lai, L. S., S. T. Chou, and W. W. Chao. 2001. Studies on the anti-oxidative activities of Hsian-tiao Mesona procumbens Hemsl. leaf gum, Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 2: 963-968. 46.Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pealler, and R. H. Tenen. 2003. Manual of Clinical Microbiology 8th edition:1037-1148. ASM PRESS. Washington, D.C. 47.Musharaf, K., S. Musharaf, M. Ibrar and F. Hussain. January 2011. Pharmacognostic evaluation of the Amaranthus viridis L. Research In Pharmaceutical Biotechnology Vol. 3(1): 11-16. 48.Nageswara, R. R. and V. Nagaraju, 2003. An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis

33(3):335-77 49. Nsimba, R. Y., H. Kikuzaki, and Y. Konishi. 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. *Food Chemistry* 106: 760-766. 50. Orjala, J., A. D. Wright, H. Behrends, G. Folker, and O. Sticher. 1994. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. *Journal of Natural Products* 57 1: 18-26. 51. Ritva, R. C.V., J. K. Hellstrom, J. M. Pihlava, and P. H. Mattila. 2010. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry* 120:128 – 133. 52. Yildirim, A., A. Mavi and A. A. Kara, 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4083-4089.