

松葉之抗氧化性研究

林文、顏裕鴻

E-mail: 9318502@mail.dyu.edu.tw

摘要

近代機能性保健食品多注重於抗氧化與防突變抗腫瘤之研究。松樹皮萃取物已知含有各種多元酚類，並有研究顯示確具抗氧化與防止突變之效果。本研究以二葉松與五葉松之松葉為材料，經由冷凍乾燥、熱風乾燥處理，分別以甲醇溶劑萃取其不同乾燥處理之抗氧化活性成分。本研究使用之抗氧化活性測定法，包含還原力、亞鐵離子螯合能力、DPPH自由基清除能力等三種，並與BHA及 α -生育醇之抗氧化性做比較。研究結果顯示，還原力方面，冷凍乾燥與熱風乾燥的二葉松及五葉松皆有強的還原力，以凍乾的五葉松效果最佳，在濃度(20mg/mL)時，約為BHA的1.07與 α -生育醇3.2倍。在DPPH自由基清除能力方面，不同乾燥處理之松葉甲醇萃取物及BHA與 α -生育醇皆具有相當的清除能力。在樣品重對溶劑體積比值為2mg/mL時，以熱風乾燥五葉松的93.4%為最高，其清除能力大小依序為熱風乾燥五葉松 > 冷凍乾燥五葉松 > 熱風乾燥二葉松 > 冷凍乾燥二葉松 > BHA > α -生育醇。而亞鐵離子螯合能力方面則以冷凍乾燥二葉松在低濃度時(2 mg/mL)達最佳的26.0%。BHA與 α -生育醇則不具有亞鐵離子螯合的能力。松葉甲醇萃取物經不同乾燥處理後分析其抗氧化活性成分，結果顯示冷凍乾燥處理之五葉松的多酚類化合物含量為52.77 mg/g，冷凍乾燥處理之二葉松73.05 mg/g，為熱風乾燥五葉松與二葉松的2.5?2.8倍；熱風乾燥處理之五葉松與二葉松的類黃酮含量分別為21.26 mg/g及20.37mg/g，冷凍乾燥二葉松及五葉松也分別為16.10 mg/g與15.16 mg/g；在抗壞血酸中，則是以五葉松的甲醇溶劑萃取物含量較二葉松高。研究結果將有助於機能性食品之開發，與後續更深入研究之基礎。

關鍵詞：松樹葉；抗氧化；還原力；亞鐵離子螯合能力；DPPH自由基清除能力

目錄

授權書	iii 中文摘要	v
英文摘要	vii 誌謝	ix
目錄	x 圖目錄	
xiii 表目錄	xv 第一章 前言 1.1 前言	
1 第二章 文獻回顧 2.1 松葉簡介	3 2.2 自由基、活性氧、氧化壓力對人體的影響	
7 2.2.3 種類	5 2.2.1 自由基與活性氧	6 2.2.2 定義及反應形式
基的八大來源	8 2.2.4 環境中的活性氧與自由基	8 2.2.5 活性氧與自由
子之傷害	9 2.2.6 人類疾病與自由基	9 2.2.7 自由基、活性氧和其氧化產物對生物分
用原理與機制	10 2.3 抗氧化物的種類與作用機制	16 2.3.1 抗氧化作
20 2.3.1.3 金屬螯合劑	17 2.3.1.1 自由基終止劑	18 2.3.1.2 還原劑或清除基
研究架構	24 2.3.2 天然抗氧化物質	25 第三章 研究架構 3.1
料製備	32 第四章 材料與方法 4.1 實驗材料	34 4.2 材
37 4.5統計分析	36 4.3 抗氧化測定	36 4.4 抗氧化活性成分之含量
40 5.1.1 時間對松葉甲醇萃取液之還原力	37 第五章 結果與討論 5.1 時間對抗氧化活性功能之分析	
41 5.1.3 時間對松葉甲醇萃取液之DPPH自由基清除力	40 5.1.2 時間對松葉甲醇萃取液之亞鐵離子螯合能力	
44 5.1.4 時間對抗氧化活性功能之總分析	45 5.1.5 時間對抗氧化活性功能之定量分析	46 5.2 抗氧化活性
功能之分析	50 5.2.1 松葉甲醇萃取液之還原力	50 5.2.2 松葉甲醇萃取液之亞鐵離子螯合能力
松葉甲醇萃取液之DPPH自由基清除力	57 5.3 抗氧化活性功能的定量分析	53 5.2.3
63 6.2 抗氧化含量分析	60 第六章 結論 6.1 抗氧化功能分析	
65 圖目錄 圖2.1 松葉	63 參考文獻 參考文獻	
.....12 圖2.3自由基對細胞與生物具分子之傷害	4 圖2.2 氧分子的還原途徑
.....19 圖2.5 維生素E之化學結構13 圖2.4 BHA、BHT、PG、TBHQ之化學結構
.....31 圖3.1冷凍乾燥和熱風乾燥松葉中抗氧化性之探討的實驗流程圖21 圖2.6自由基來源與反應
.....32 圖3.2冷凍乾燥和熱風乾燥之松葉溶劑萃取物的抗氧化機制及成份分析之探討
.....33 圖5.1 松葉甲醇萃取時間與還原力之比較42 圖5.2松葉甲醇萃取時間與Fe ²⁺ 螯
.....43 圖5.3松葉甲醇萃取時間與Fe ²⁺ 螯合能力之比較47 圖5.4不同乾燥處理二葉松

之甲醇萃取液與BHA及 - 生育醇之還原力比較.....	51	圖5.5不同乾燥處理五葉松之
甲醇萃取液與BHA及 - 生育醇之還原力比較.....	52	圖5.6不同乾燥處理二葉松
與BHA及 - 生育醇之螯合Fe ²⁺ 能力比較.....	55	圖5.7不同乾燥處理五葉松
與BHA及 - 生育醇之螯合Fe ²⁺ 能力比較.....	56	圖5.8不同乾燥處理二葉松
與BHA及 - 生育醇之DPPH清除能力比較.....	58	圖5.9不同乾燥處理五葉松
與BHA及 - 生育醇之DPPH清除能力比較.....	59	表目錄 表2.1衍生之自由基
對人體所可能造成的傷害.....	14	表2.2天然抗氧化劑之來源.....
與多酚類化合物的膳食來源.....	27	表2.3抗壞血酸
.....	28	表2.4 植物與種子中的脂肪氧化抑制劑及其作用模式與化學本質
.....	48	表5.1不同時間萃取松葉對抗氧化活性能力.....
時間萃取松葉對抗氧化活性成分含量.....	49	表5.2不同
.....	62	表5.3松葉樣品中抗壞血酸、類黃酮素及多酚類含量.....

參考文獻

- 參考文獻 1. 王子慶、曾仁傑、駱秉明、徐德瑞、楊季清(2002) 黑后葡萄皮抗氧化性之研究。屏東科技大學學報, 11(2):93-102。 2. 王子慶、楊季清、李文立(2001) 國產黑后與巨峰葡萄皮甲醇萃取物抗氧化性與安全性之評估。台灣農業化學與食品科學, 39(1):8-15。 3. 顏國欽(2001), 天然抗氧化物及抗癌物與食品、健康及疾病關係國際會議。科學發展月刊 29(11):843-845。 4. 晏文潔、李家璞、杜平?(2000), 類黃酮抗氧化與其結構之關係。台灣農業化學與食品科學 38(1):80-88。 5. 許夏芬、張肇麟、朱燕華(2000), 數種蔬菜中類黃酮含量及抗氧化性分析。台灣農業化學與食品科學 38(5):377-387。 6. 王子慶(1999)葡萄子與皮抗氧化性之研究。國立屏東科技大學食品科學研究所碩士論文。 7. 張明照(1999)檸檬葉萃取物之抗氧化性。國立屏東科技大學食品科學研究所碩士論文。 8. 劉新欲、張同吳、林義恭、陳淑芬、王昭月、朱良、王順成(1999) 山藥的品種特性、生產潛力、物化性質與抗氧化研究。48:1-22。 9. 陳思廷(1999), 認識抗氧化產品。常春月刊88年1月號 186-189。 10. 賴永沛(1999), 本世紀末最後的營養素-多元酚。食品資訊 167:48-53。 11. 郁凱衡(1999) 天然酚類抗氧化劑。食品工業 31(12): 43-51。 12. 郁凱衡(1999) 酚類抗氧化劑 合成類(上)。食品資訊 157:34-38。 13. 郁凱衡(1999) 酚類抗氧化劑 天然類(下)。食品資訊 158:8-27。 14. 吳思敬、顏國欽(1998)桑葉甲醇萃取物抗氧化機制之探討。食品科學 25:128-137。 15. 錢明寶(1998) 蔬果中之抗氧化物質。食品工業, 30(8):21-34。 16. 陳玉峰(1998)台灣植被誌(第三卷)(上、下) 亞高山冷杉林帶與高地草原。前衛。 17. 朱燕華(1998), 類黃酮之介紹。食品工業月刊 30(9):1-5。 18. 陳惠英、顏國欽(1998) 自由基、抗氧化防禦與人體健康。中華名國營養學會會誌。23:105-121。 19. 顏國欽、劉美麟(1997) 木糖-離胺酸梅納反應產物及其區分物抗氧化特性之研究。中國農業化學會誌, 35:273-287。 20. 翁瑞光、顏國欽(1997) 綠豆芽黃豆芽及蘿蔔嬰抗氧化之研究。中國農業化學會誌, 25:268-280。 21. 金澤和樹(1997) 蔬菜、水果中所含的類黃酮及其機能性。新食品工業 39:10-16。 22. 陳玉峰(1997)台灣植被誌(第二卷)(上、下) 高山植被帶與高山植物。晨星出版社。 23. 拱玉郎(1997)天然抗氧化劑發展近況。食品工業29:29-37。 24. 吳思敬、顏國欽(1996)成熟階段對桑葉抗氧化性之影響。食品科學 23:412-421。 25. 吳思敬(1994) 桑葉抗氧化性之研究。國立中興大學食品科學研究所碩士論文。 26. 賴滋漢、賴業超(1994) 食品科技辭典。富林出版社。台中, 台灣。 27. 林仁混(1991) 抗氧化作用與抗癌化作用。台灣醫界, 34:137-138。 28. 施益民、呂峰洲(1989) 自由基與各種疾病。當代醫學。16:399-407。 29. Dae-OK Kim, Swung Weon Jeong, Chang Y. Lee. (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chem.81: 321-326。 30. Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Parajo, J. C. (2001) Natural antioxidants from residual sources. Food Chem.72:145-171。 31. Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., Liu, R. H. (2000) Antioxidant activity of fresh apples. Nature, 405:903-904。 32. Kim, M.-Y., Choi, S.-W., Chung, S.-K. (2000) Antioxidative flavonoids from the garlic (*Allium sativum* L.) shoot. Food Sci. Biotechnol. 9: 199-203。 33. Christel, Q. D., Bernard, G., Jacques, V., Thierry, D., Claude, B., Michel, L., Micheline, C., Jean-Cluade. C., Francois, B., Francis, T. (2000) Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. J. Ethnopharmacol. 72 : 35-42。 34. Cao, Y., Cao, R. (1999) Angiogenesis inhibited by drinking tea. Nature, 398, 381。 35. Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Yano, M. (1999) Antiproliferative effect of the readily extractable fractions prepared from various Citrus juices on several cancer cell lines. J. Agric. Food Chem.47:2509-2512。 36. Aruoma, O. I. (1998) Free radicals, oxidative stress, and Antioxidants in Human Health and disease. J. Am Oil. Chem. Soc. 75: 119-213。 37. Ito, A., Shamon, L. A., Yu, B., Mata-Greenwood, E., Lee, S. K., van Breemen, R. B., Mehta, R. G., Farnsworth, N. R., Fong, H. H. S., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D. (1998) Antimutagenic constituents of *Casimiroa edulis* with potential cancer chemopreventive activity. J. Agric. Food Chem.46:3509-3516。 38. Wang, H., Cao, G. Prior, R.L. (1997) Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. J. Food Chem.45:304-309。 39. Wanasundara, P. K. J. P. D., Shahidi, F. Shukla, V. K. S. S. (1997) Endogenous antioxidants from oilseeds and edible oils. Food Rev. Int. 13: 225-292。 40. Lander, H. M. (1997) An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. FASEB J. 11: 118-124。 41. Schechter, S. R. (1996) Fighting free radicals with antioxidant. Health Foods Business. 6: 28-29。 42. Angelo, A. J. S. (1996) Lipid oxidation in foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 36: 175-224。 43. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. Paganga, G. (1996) Structure antioxidant activity relationships of flavonoid and phenolic acids. Free Radical Biol. Med. 20: 933-956。 44. Sakanka, S., Aizawa, M., Kin, M., Yamaoto, T. (1996) Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *porphyromonas gingivalis*. Biosci. Biotich. Biochem. 60:745-749。 45. Cavalueri, E. L. and Rogan, E. G. (1995) Central role of radical cations in metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Xenobiotica. 25: 677-688。 46. Favier, A. E. (1995) How to demonstrate the occurrence of an oxidative stress in human? In " Analysis of free radicals in biological systems ". Edited by Favier. A. E., Cadet J., verlag Basel., Switzerland. pp: 99-117。 47. Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. Aruoma, O. I. (1995) Free radicals and

antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35: 7-20. 48. Stadler, R. H. Fay, L. B. (1995) Antioxidative reactions of caffeine : Formation of 8-oxocaffeine (1,3,7-trimethyluric acid) in coffee subjected to oxidative stress. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1332-1338. 49. Hartwing, A. schlepegrell, R. (1995) Induction of oxidative DNA damage by ferric iron in mammalian cells. *Carcinogenesis.* 16: 3009-3013. 50. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. Philosoph-Hadas, S. (1995) Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Food Chem.* 43 : 1813-1819. 51. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Aruoma, O. I. (1995) The Characterization of antioxidants. *Food Chem.* 33: 601-617. 52. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. U. Technol.* 28:25-30. 53. Mattivi, F., F. Reniero, S. Korhammer. (1995) Isolation, characterization, and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers. *J. Agric. Food Chem.* 43:1820-1823. 54. Ranarthnam, N. Osawa, T. Ochi, H. Kawakishi, S. (1995) The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Sci Technol.* 6: 75-82. 55. Osawa, T., Sugiyama, Y., Inayoshi, M. Kawakishi, S. (1995) Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 1609-1612. 56. Halliwell, B. (1994) Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr. Rev.* 52: 253-265. 57. Jacob, R. A. (1994) Nutrition, health and antioxidants: INFORM . 5: 1271-1275. 58. Arouma, O. I. (1994) Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem. Toxic.* 32:671-683. 59. McCord, C. J. (1994) Free radicals and prooxidants in health and nutrition. *Food Technol.* 48: 106-111. 60. Six, P. (1994) Current research in natural food antioxidants. *INFORM.* 5 : 679. 61. Burton, G.W. (1994) Vitamin E: molecular and biological function. *Proc Nutr. Soc.* 53: 251-262. 62. Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM.(1994) Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch Biochem Biophys.* 315:161-169. 63. Kehrer, J. P. (1993) Mechanisms and effect of lipid peroxidation. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 21-48. 64. Reid, T. M. and Loeb, L. A.(1993) Effect of DNA repair enzymes on mutagenesis by oxygen free radicals. *Mutat. Res.* 289: 181-186. 65. Marnett, L. J. Burcham, P. C. (1993) Endogenous DNA adduct: potential and paradox. *Chem. Resear. In Toxicol.* 6: 771-785. 66. Liebler, D. C. (1993) Antioxidant reactions of carotenoids. *Ann. New York. Acad. Sci.* 691: 20-31. 67. Shahidi, F. Wanasundara, P. K. J. P. D. (1992) Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 32: 67-103. 68. Cuvelier, M. E., H. Richard, C. Berset. (1992) Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure-activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 324-325. 69. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. Nakamura, T.(1992) Antioxidative properties of xanthane on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Food Chem.* 40:945. 70. Wada, S. Fang, X. (1992) The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and alpha-tocopherol in sardine oil model system and crushed fish meat. *J. Food Proc. Preserv.* 16: 263-274. 71. Ricardo da Silva, J. M., N. Darmon, y. Fernandez, S. Mitjavila. (1991) Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *J. Agric. Food Chem.* 39:1549-1552. 72. Stadtman, E. R. Oliver, C. N. (1991) Metal-Catalyzed Oxidation of proteins, physiological consequences. *J. Biol. Chem.* 266: 2005-2008. 73. Isao.T. (1990) Preventive effect of tea on cancer. *Fragrance J.* 11:51-54. 74. Namiki, M. (1990) Antioxidants/Antimutagens in Foods. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 29: 281-300. 75. Larson, R. A. (1988) The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 27: 969-978. 76. Sudhir, S.D., Cheryan, M. Stlnkhe, D.K. (1987) Tannin analysis of food products. *CRC Critical Review in Food Sci. Nutr.* 24:401-444. 77. Von Sonntag, C. (1987) The chemical basis of radiation biology. Talyor and Francis. London. pp:1-12 78. Selway, J. W. T. Cody, V., Middleton, E. Jr. Harbone, J. B. Ed., (1986) Antiviral activity of flavones and flavans. In *plant flavonoids and medicine*, Alan Liss, New York. pp. 521-536. 79. Sandy, M. S., Moldeus, P., Ross, D. Smith, M. T. (1986) Role of redox cycling and lipid peroxidation in bipyridyl herbicide cytotoxicity. Studies with a compromised isolated hepatocyte model system. *Biochem. Pharmacol.* 35: 3095-3101. 80. Oyaizu M. (1986) Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. *Jpn J Nutr.* 44:307-314. 81. Dziezak, J. D. (1986) Preservative: Antioxidants, *Food Technol.* 40: 94-102. 82. Torel, J., Cillard, J. Cillard, P. (1986) Antioxidant activity of flavonoides and reactivity with peroxy radicals. *Phytochem.* 25: 383-385. 83. Church, D. F. Pryor, W. A. (1985) Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect.* 64:111. 84. Ito N., Fukushima, S. Tsuda, H. (1985) Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA. BHT, and other antioxidants, *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 15: 109-150. 85. Sagai, M., Ichinose, T. Kubota, K. (1984) Studies on the biochemical effects of nitrogen dioxide. IV. Relation between the change of lipid peroxidation and the antioxidative protective system in rat lungs upon life span exposure to low level of NO₂. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73: 444-456. 86. Imaida, K., Fukushima, S., Shivai, T., Ohtani, M., Nakanishi, K. Ito, N. (1983) Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-Stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of r-glutamyl trans peptidase- positive foci development in the liver of rat. *Carcinogenesis.* 4: 885-889. 87. Klein, B. P. Perry, A.K. (1982) Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the united states. *J.Food Sci.* 47 : 941-945. 88. Pryor, W. A., Lightsey, J. W. Church, D. F. (1982) Reaction of nitrogen dioxide with alkenes and polyunsaturated fatty acids: addition and hydrogen abstraction mechanisms. *J. Amer. Chem. Soc.* 104: 66-85. 89. Kurechi, T., Kikugawa, K. Kato, T. (1980) Studies on the antioxidant. XIII. Hydrogen donating capability of antioxidants to 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Chem. Pharm. Bull.* 28: 2089- 2093. 90. Poyer, J. L. McCay, P. B., Lai, E. K., Ganzen, E. G. Davis, E. R., (1980) Confirmation of assignment of the trichloromethyl radical spin adduct detected by spin trapping during BC-carbon tetrachloride metabolism in vitro and in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 94: 1154-1160. 91. Branen, A. L. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 52: 59-63. 92. Freed, M. (1966) L-Ascorbic acid. In " *Methods of Vitamin Assay,* " 3rd. Edited by the Association of Vitamin Chemists, Interscience Publishers, New York. pp.287-344. 93. Singketon, V. L., Rossi, J. A. J. R. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *A.J.Enol. Vitic* 16 : 144-153. 94. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 26 : 1199-1200.