

大花咸豐草不同部位之抗氧化性

江淑華¹ 陳志瑋² 王秀育² 賴潔賢² 張基郁²

¹馬偕醫護管理專科學校食品科學科

台北市 112 北投區聖景路 92 號

²大葉大學生物產業科技學系

51591 彰化縣大村鄉山腳路 112 號

摘要

本研究以大花咸豐草 (*B. pilosa* var. *radiata*) 為材料，經烘箱乾燥後，將各部位分別研磨成粉狀，經由甲醇萃取並以減壓濃縮處理後，取其濃縮物分別進行花、莖及葉三部分之抗氧化性測定。抗氧化性測定項目，包括還原力、亞鐵離子螯合能力及 DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 自由基清除能力等三種，並與 EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid)、BHA (butylated hydroxyanisole) 及 α -生育醇之抗氧化性做比較。結果發現，還原力方面，大花咸豐草各部位的甲醇萃取物都有強的還原力，其順序依序為花 > 葉 > 莖。尤其花的萃取物在樣品重對溶劑體積比為 1.28 mg/mL 時，即與 α -生育醇及 BHA 相當。在亞鐵離子螯合能力方面，大花咸豐草各部位的甲醇萃取物其螯合能力並不顯著。在 DPPH 自由基清除能力方面，其三部分之自由基清除能力，以花與葉的萃取物效果最佳，分別在樣品重對溶劑體積比為 1.28 mg/mL 與 0.37 mg/mL 時，即與 BHA 及 α -生育醇相當；莖的萃取物在樣品重對溶劑體積比為 6.38 mg/mL 時亦有與 BHA 及 α -生育醇相當之自由基清除能力。

關鍵詞：大花咸豐草，抗氧化性，還原力，亞鐵離子螯合能力，DPPH 自由基清除能力

Antioxidant Properties of Different Portions of *B. pilosa* var. *radiata*

SHU-HUA CHIANG¹, CHIN-WEI CHEN², SHIU-YU WANG², CHIEH-HSIEN LAI² and CHI-YUE CHANG²

¹Department of Food Science, Mackay Medicine, Nursing and Management College

92, Shengjing Rd., Beitou, Taipei, Taiwan

²Department of BioIndustry Technology, Da-Yeh University,

No. 112, Shanjiao Rd., Dacun, Changhua, Taiwan 51591, R.O.C.

ABSTRACT

The flower, leaf, and stem of *B. pilosa* var. *radiata* were used as materials in this study. After oven-drying, these three portions were extracted with methanol, and then the solvent of the extracts was evaporated out under reduced pressure. The antioxidant properties of the extracts, including the reducing power, ferrous ion chelating power, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity were measured and compared with those of alpha-tocopherol and butylated



hydroxyanisole (BHA). Data showed that the methanol extracts from these three portions all had high reducing power, the sequence of these three portions was flower>leaf>stem, which were as high as those of alpha-tocopherol and BHA when the sample weight/solvent volume ratio was at 1.28 mg/mL. As for the results for the ferrous ion chelating power, the methanolic extracts showed low ferrous ion chelating power in all three portions. The DPPH radical scavenging activity results showed that the methanolic extracts from these three portions exhibited high values, especially flower and leaf, which were as high as those of alpha-tocopherol and BHA when the sample weight/solvent volume ratio of the flower portion was 1.28 mg/mL, and the sample weight/solvent volume ratio of leaf portion was 0.37 mg/mL. When the sample weight/solvent volume ratio of stem portion was 6.38 mg/mL, it also showed the DPPH radical scavenging activity which was as high as those of alpha-tocopherol and BHA.

Key Words: *B. pilosa var. radiata*, antioxidant properties, reducing power, ferrous ion chelating ability, DPPH radical scavenging activity

一、前言

抗衰老理論中的自由基學說，是最常被用來做為探討抗氧化研究的基礎。細胞在新陳代謝過程中，會產生少量的自由基，使細胞上的脂肪，產生過度氧化作用，進而破壞細胞的結構和功能，使基因突變，導致產生血管硬化、腦中風、高血壓、高膽固醇血症、發炎、心肌梗塞、癌症...等疾病。數種植物如車前草、咸豐草、枸杞葉、甘藷葉、台灣百合、雷公根、皺葉薄荷、野薄荷及仙草等都發現含有抗氧化成分 [19]，這些膳食成分在生物體中對於控制氧化反應及提供保護效應相當有助益，例如類黃酮化合物可以降低脂質和低密度脂蛋白的氧化及調整血漿和組織中過氧化物的濃度等，由於過氧化現象在致突變或致癌過程中相當重要，利用具有抗氧化特性的成分以達到抗氧化、抗衰老的目的，以及與人體健康和疾病預防間之關係研究，一直是學者研究的熱門課題 [4-6, 8, 17]。

含類黃酮的食藥材亦具有抗氧化的功能，如含類黃酮的山楂能幫助降低膽固醇，增加血管的通透性，防止動脈硬化、降血壓。含類黃酮的菊花能增強毛細血管的抵抗力，增加冠狀動脈血流量，治冠心病、降血壓 [12]。其他如黃耆、人參、靈芝、丹參、枸杞、川七、穀類胚芽，甚至如中藥方劑的補陽還五湯、血府逐瘀湯、柴胡加龍骨牡蠣湯、烏藥順氣散及小續命湯等均有提高 SOD (superoxide dismutase)，降低 LPO (lipid peroxidation) 的作用 [8]，推測與其含有抗氧化成分有關。因此，找尋價廉有效的天然抗氧化劑，並善用具有抗氧化的中草藥及食品幫忙清除自由基，顯得十分重要。

咸豐草，又名鬼釵草，其味苦平、無毒，具有清熱解毒、散瘀消腫之功效。可治瘡疾、腹瀉、痢疾、肝炎、急性腎炎、胃痛、噎膈、腸癰、咽喉腫痛、跌打損傷、蛇蟲咬傷。近年發現用於治感冒、甲狀腺腫、前列腺炎、慢性氣管炎、肺氣腫、冠心病、慢性胃潰瘍、慢性盆腔炎、附件炎、子宮脫垂、神經衰弱等，對原發性高血壓有較好療效 [2, 3]，而同為菊科之大花咸豐草是否也具有相同功效則需再深入探討。

大花咸豐草為菊科植物，而在草本植物中，同為菊科的植物相當多，例如：天人菊，孔雀草，鬼針草...等。使得菊科成為草本植物中的最大宗，而其中大花咸豐草與黃花咸豐草同為菊科 (compositae) 刺針草屬植物，而且兩種植物在外觀和習性均很類似，易使人產生誤認 [1, 7, 13]。大花咸豐草比鬼針草與咸豐草更普遍容易發現，隨處可觀察到，鬼針草與咸豐草是一年生草本植物，而大花咸豐草是多年生草本植物。為進一步開發利用咸豐草資源，本研究即以大花咸豐草為材料，探討其植株各部位之抗氧化能力，根據研究指出咸豐草含有抗氧化成分如類黃酮 [19]，因此，本研究將以還原力、亞鐵離子螯合能力、及 DPPH 自由基清除能力三種測定方法進行大花咸豐草不同部位之抗氧化性探討。

二、材料與方法

(一) 材料

1. 將取自於彰化縣大葉大學摘得之大花咸豐草，以水清洗，並依其植株部位之不同，將其細分為花、葉、莖三



部分，再分別經烘箱乾燥（60°C，隔夜）後，製成粉狀，分別裝於塑膠瓶中，置於4°C冷藏備用。

- 標準品： α -tocopherol（純度95%）、Butylated hydroxyanisole（BHA）（純度>90%）均購自Sigma Chemical Co.（St Louis, MO, U.S.A.）。
- 抗氧化性分析所使用之藥品均購自Sigma Chemical Co.（純度>99%）；甲醇溶劑購自三德藥品株式會社（純度>95%）。

（二）方法

1. 濃縮物的製備

本試驗以甲醇為萃取溶劑。分別秤取不同部位的大花咸豐草乾燥樣品（花30g+300 mL 甲醇、葉40g+400 mL 甲醇、莖40g+600 mL 甲醇），分別攪拌1小時，萃取完畢之後，抽氣過濾，將其殘渣去除，取其濾液，進行減壓濃縮，將濃縮液進行乾燥處理（50°C，隔夜），分別得到濃縮物乾重為花6.42 g、葉1.86 g、莖3.19 g，用甲醇將乾燥之濃縮物洗出並定量至50 mL，從中取0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL 再次用甲醇分別定量至50 mL（三重複），可得到花的濃縮物濃度分別為1.28, 2.57, 5.14, 7.70, 10.27, 12.84 mg/mL，葉的濃縮物濃度分別為0.37, 0.74, 1.49, 2.23, 2.98, 3.72 mg/mL，莖的濃縮物濃度分別為0.64, 1.28, 2.53, 3.83, 5.10, 6.38 mg/mL，分別測其抗氧化性。

2. 抗氧化性之分析

- 還原力的測定：參考Oyaizu [23] 的方法，取10 mL 不同濃度之大花咸豐草萃取液，以及 α -tocopherol、BHA之甲醇溶液（ α -tocopherol、BHA之配製濃度與欲測定之萃取液濃度相同），加入0.2 M、pH 6.6之磷酸鈉緩衝液2.5 mL及1% 赤血鹽2.5 mL，於50°C水浴反應20分鐘後急速冷卻，加入10% 三氯醋酸液2.5 mL，於離心機（Hermle Z200A, Labor Technik, Germany）以2,200 x g 離心10分鐘，取上澄液5 mL，再加入蒸餾水5 mL及0.1% 氯化鐵溶液1 mL，混合均勻，10分鐘後於700 nm 測其吸光值。吸光值愈高表示還原力愈強。
- 亞鐵離子螯合能力之測定：參考Decker和Welch [21] 的方法，取5 mL 不同濃度之大花咸豐草萃取液，以及EDTA溶液（EDTA之配製濃度與欲測定之萃取液濃度相同），加入2 mM FeCl_2 溶液0.1 mL及5 mM ferrozine 溶液0.2 mL，反應10分鐘，於562 nm 測其

吸光值。 Fe^{2+} 與 ferrozine 所形成之複合物於562 nm 有強的吸收，若吸光值越低，表示對鐵離子的螯合能力越強。以 $[1-(\text{樣品吸光值}/\text{未加樣品之控制組吸光值})] \times 100$ ，得到螯合能力百分率。

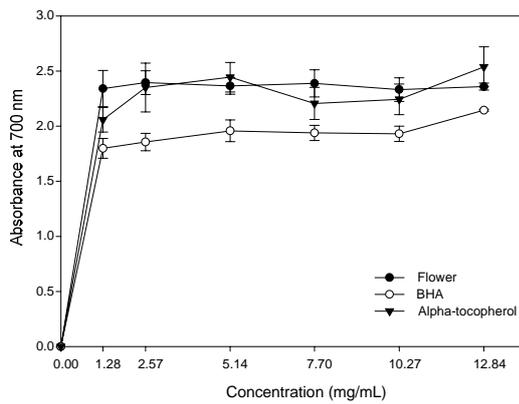
- DPPH 自由基清除能力測定：參考Shimada 等人 [26] 的方法，取5 mL 不同濃度之大花咸豐草萃取液，以及 α -tocopherol、BHA之甲醇溶液（ α -tocopherol、BHA之配製濃度與欲測定之萃取液濃度相同），加入新鮮配製1 mM α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 之甲醇溶液1 mL，均勻混合靜置30分鐘後，於517 nm 測其吸光值。吸光值愈低表示清除能力愈強。以 $[1-(\text{樣品吸光值}/\text{未加樣品之控制組吸光值})] \times 100$ ，得到DPPH 自由基清除百分率。

三、結果與討論

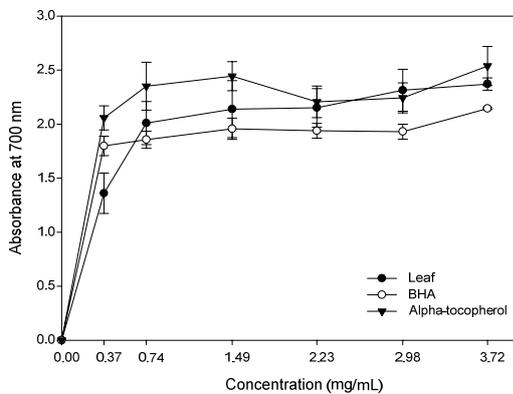
（一）不同部位之大花咸豐草萃取物之還原力

圖1為大花咸豐草不同部位之萃取液與BHA、 α -生育醇的還原力。圖1之結果顯示，大花咸豐草之萃取物因部位的不同，其還原力的大小也有所差異，隨著樣品重對溶劑體積比值的增加，其還原力也隨之上升。其中花的萃取物在1.28 mg/mL、葉的萃取物在2.23 mg/mL時，與BHA和 α -生育醇具有相當之效果，而莖的萃取物在5.10 mg/mL時才具有與BHA和 α -生育醇相當之效果；另外，當花的萃取物在濃度1.28 mg/mL、葉的萃取物在2.98 mg/mL、莖的萃取物在濃度6.38 mg/mL時，其還原力效果甚至有高過於BHA和 α -生育醇的情形。隨著樣品添加量的增加，樣品的還原力也隨之增強，但BHA與 α -生育醇的還原力卻並未隨著添加量的增加而增強，其可能因為BHA與 α -生育醇於樣品重對溶劑體積比值為2 mg/mL時，就已達到一平衡狀態，故呈持平狀，這顯示出BHA與 α -生育醇為一極佳的電子供應者，其可與自由基作用，使其成為較安定的物質，藉以中斷油脂自氧化之連鎖反應，此點與翁瑞光 [11]、姜淑繡等人 [9] 及Guo *et al.* [22] 有相同的結果，其中，姜淑繡等人 [9] 針對不同部位球莖甘藍所得之還原力與Guo *et al.* [22] 針對省產青花菜不同部位所得之還原力，兩者之標準品BHA與 α -生育醇結果均呈現於樣品重對溶劑體積比值為2 mg/mL時即達到持平的情況。綜合圖1之結果顯示，大花咸豐草不同部位之萃取液之還原力均隨著樣品濃度的增大而增加，此點與檸檬葉萃取物之抗氧化性有相似的結果。

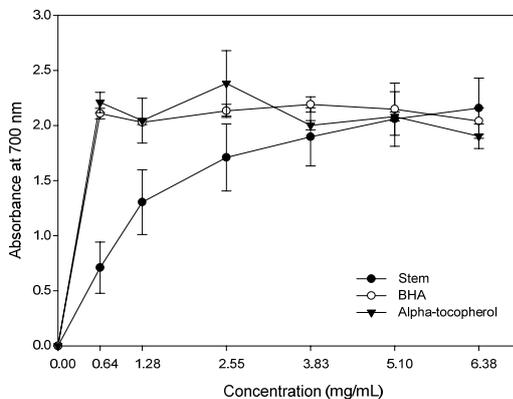




(a) 花



(b) 葉



(c) 莖

圖 1. 大花咸豐草各部位之甲醇萃取液及 BHA 和 α -生育醇的還原力

[15], 經冷凍乾燥後之檸檬葉甲醇萃取物其還原力有隨著樣品濃度的增大而增加的趨勢, 且於樣品重對溶劑體積比值為 0.2 mg/mL 即高於 α -生育醇。此外, 亦與木糖-離胺酸梅納反應產物及其區分物抗氧化性之研究 [20] 以及省產蘿蔔不同部位之抗氧化性有相似的結果 [10]。顏國欽和劉美麟 [20] 的研究報告指出梅納反應產物具有抗氧化性推測與還

原酮有關, 其中, 乙醇可溶區分物與乙醇不可溶區分物之還原力均有隨著樣品濃度的增大而增加的趨勢; 而省產蘿蔔之蘿蔔葉水萃取物其還原力於樣品重對溶劑體積比值為 4 mg/mL 即高於 BHA 與 α -生育醇, 且還原力有隨著樣品濃度的增大而增加的趨勢 [10]。

由以上結果可看出大花咸豐草萃取物之還原力以花和葉之效果較高於莖。

(二) 不同部位之大花咸豐草萃取物之亞鐵離子螯合能力

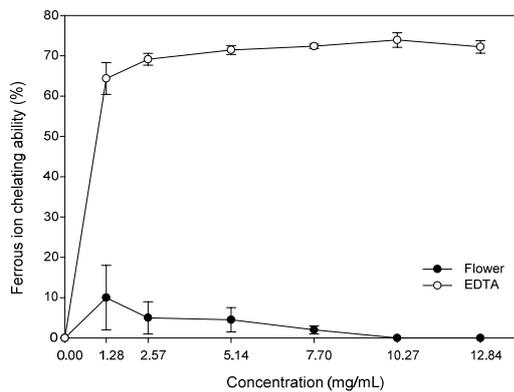
在多種金屬離子中, Fe^{2+} 和 Cu^{2+} 對於促進脂質氧化作用的進行, 是具有影響力的助氧化劑 (pro-oxidant)。因此, 大花咸豐草萃取液之甲醇萃取物若對金屬離子有螯合作用, 則其對抗氧化作用將有某種程度的貢獻。

圖 2 為大花咸豐草不同部位之萃取液與 EDTA 的亞鐵離子螯合能力。圖 2 之結果顯示, 花、葉、莖在樣品重對溶劑體積比值分別為 1.28 mg/mL、0.37 mg/mL、1.28 mg/mL 時, 除了 EDTA 尚具有相當高的亞鐵離子螯合能力之外, 大花咸豐草三個部位之亞鐵離子螯合能力均有隨著濃度的增加而下降的趨勢, 其中, 又以葉的效果最差, 幾乎無任何螯合能力; 而花之萃取物於 1.28 mg/mL 時尚約有 10% 的效果、葉之萃取物於 0.37 mg/mL 時幾乎無效果, 且其後均有隨著濃度的增加而下降的結果。主要因為大花咸豐草的結構不具有螯合金屬離子的官能基, 所以無螯合金屬離子的能力。

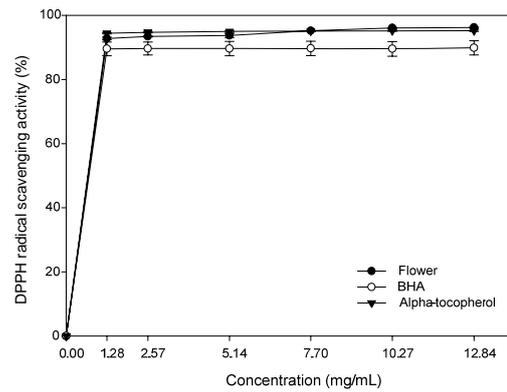
(三) 不同部位之大花咸豐草萃取物之 DPPH 自由基清除能力

圖 3 為大花咸豐草不同部位之萃取物與 BHA、 α -生育醇的 DPPH 自由基清除能力。圖 3 之結果顯示, 大花咸豐草之萃取物因部位的不同, 其 DPPH 自由基清除能力的大小也有所差異, 隨著樣品重對溶劑體積比值的增加, 其 DPPH 自由基清除能力也隨之上升。其中以花的萃取物在 1.28 mg/mL、葉的萃取物在 0.37 mg/mL、莖的萃取物在 5.10 mg/mL 時, 即有與 BHA 和 α -生育醇具有相當之效果, 而葉的萃取物在 0.74 mg/mL 以上時, 其 DPPH 自由基清除能力甚至有高過於 BHA 和 α -生育醇的情形, 且有隨著樣品重對溶劑體積比值的增加而增加的趨勢。BHA 與 α -生育醇於最低濃度時已具有相當高的清除能力, 其後呈持平狀態, 清除能力約在 95% 左右, 並未因樣品重對溶劑體積比值的增大而繼續增加, 推測已達飽和之故, BHA 與 α -生育醇等抗氧化劑可藉由提供氫原子給自由基, 進而阻斷脂質氧化的

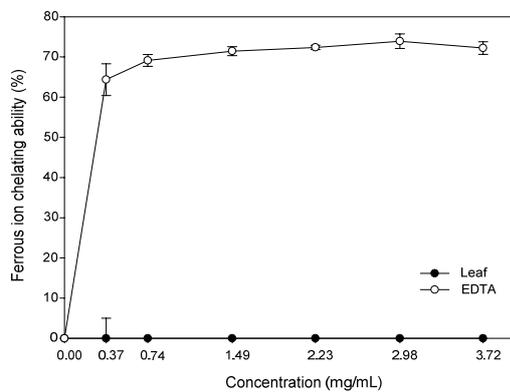




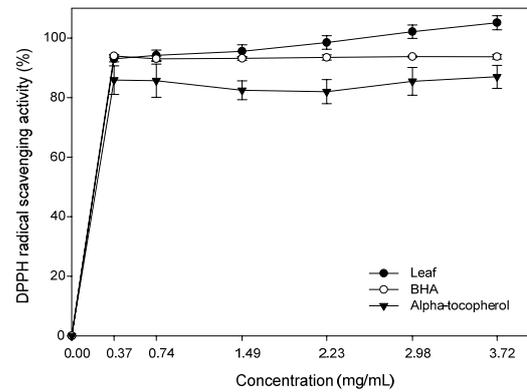
(a) 花



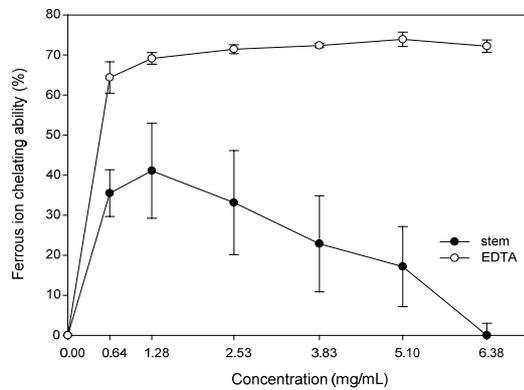
(a) 花



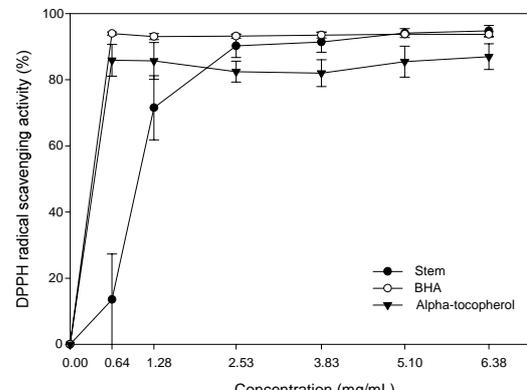
(b) 葉



(b) 葉



(c) 莖



(c) 莖

圖 2. 大花咸豐草各部位之甲醇萃取液與 EDTA 的亞鐵離子螯合能力

進行。在本研究結果發現，大花咸豐草不同部位之萃取物亦可藉由與自由基直接反應，將高能的自由基轉變為穩定的共振產物，而阻止自由基的連鎖反應，即其甲醇萃取物的自由基清除能力是隨樣品重對溶劑體積比值的增加而增強，此點與姜淑繡等人 [9] 及陳鴻文 [14] 的研究有相同的結果，其中，姜淑繡等人 [9] 的研究報告指出不同部位之球莖甘藍甲醇萃取物於樣品重對溶劑體積比值為 8 mg/mL 時可達最高自由基清除能力且高於 90%，而陳鴻文 [14] 的研究指出

圖 3. 大花咸豐草各部位之甲醇萃取液及 BHA 和 α -生育醇的 DPPH 自由基清除能力

當馬蹄決明子甲醇萃取物添加劑量為 2 mg (相當於 400 ppm) 時，對於 DPPH 自由基具有 90.89% 的清除能力。另外，張原鳴 [16] 的研究亦指出黃花咸豐草全草以甲醇萃取後可得到三十七個化合物，主要為長鏈醇、酸及酯類、芳香環類、類固醇、木酚素、葉綠素等。而芳香環類化合物含量 (如：總酚類化合物) 與抗氧化性有極大的關係，所含的芳香環愈多，其 DPPH 自由基清除能力效果愈佳 [24, 25]。鍾愛嵐 [19] 的研究中以不同青草植物做比較，結果顯示咸豐



草在抗氧化成分中以吡啶類及多酚類有較高的含量，於水相萃取時有較佳的 DPPH 自由基清除能力，此外，咸豐草亦具有清除 O₂^{·-} 自由基的能力，其 IC₅₀ 值為 3.22×10⁻¹ mg/mL，而不同青草植物之整體抗氧化性測定比較結果發現，咸豐草之水相萃取物與甲醇相萃取物皆排序第一，顯示咸豐草有其抗氧化活性存在 [18]，此部分結果顯示，以葉最具有 DPPH 自由基清除能力，花次之，而莖又次之。

四、結論

綜合三項抗氧化性之分析結果發現，大花咸豐草各個部位之萃取物除了不具有亞鐵離子螯合力之外，均有良好之還原力與 DPPH 自由基清除能力，其中又以花和葉之效果最好，少量萃取物即有與 α-生育醇及 BHA 相當之效果，莖次之。結果顯示，大花咸豐草的各部位皆具有一定的抗氧化性，尤其以花和葉具有高的抗氧化性，因此，若能經適當加工或其他處理，製成食品或其他產品，將可增加大花咸豐草之利用價值。

參考文獻

1. 王岸英、張玉茹(民 91)，菊科 8 種鬼針草屬(*Bidens L.*) 雜草種子的鑒別，吉林農業大學學報，24，57-64。
2. 王建平、張惠云、秦紅岩、高玉敏、周生海、王名州(民 86)，咸豐草抗炎新成分的藥理作用，中草藥，28，665-668。
3. 方博正(民 89)，台灣產生藥之抗氧化及抗胞疹病毒活性資源開發研究，私立高雄醫學大學天然藥物研究所碩士論文。
4. 呂峰洲(民 82)，抗氧化酵素之介紹，自由基生物學與醫學，創刊號，1-7。
5. 林仁混(民 80)，抗氧化作用與抗癌化作用，台灣醫界，34，137-138。
6. 林天送(民 87)，抗氧化物質的運作機制，健康世界，106-108。
7. 林榕、陳藝林(民 68)，中國植物志，74，頁 51-54，科學出版社，台灣。
8. 拱玉郎(民 86)，天然抗氧化劑發展近況，食品工業，29，29-37。
9. 姜淑繡、郭錦宗、陳姿岑、林芳儀、張基郁(民 89)，省產球莖甘藍不同部位之抗氧化性，中華生質能源學會會誌，19，79-86。
10. 姜淑繡、徐維柔、張基郁(民 92)，省產蘿蔔不同部位之抗氧化性，台灣農業化學與食品科學，41，189-196。
11. 翁瑞光(民 87)，蘿蔔葉萃取物於模式系統之抗氧化性，食品科學，25，268-280。
12. 許夏芬、張肇麟、朱燕華(民 89)，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，38，377-387。
13. 陳岳書(民 82)，中國農業百科全書(農藥卷)，134-135 頁，農業出版社，北京。
14. 陳鴻文(民 85)，決明子抗氧化特性之研究，國立中興大學食品科學研究所碩士論文。
15. 張明照(民 88)，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。
16. 張原鳴(民 89)，黃花咸豐草全草化學成份研究，國立台灣大學食品科學研究所碩士論文。
17. 劉柏康、陳惠英、顏國欽(民 88)，數種傳統食用植物甲醇萃取物抗氧化性之研究，中國農業化學會誌，37，105-116。
18. 賴永沛(民 88)，本世紀末最後的營養素—多酚類，食品資訊，167，48-53。
19. 鍾愛嵐(民 89)，青草植物抗氧化力及抗氧化功能性之研究，私立中國文化大學生活應用科學研究所碩士論文。
20. 顏國欽、劉美麟(民 86)，木糖-離胺酸梅納反應產物及其區分物抗氧化性之研究，中國農業化學會誌，35，273-287。
21. Decker, E. A. and B. Welch (1990) Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 674-677.
22. Guo, J. T., H. L. Lee, S. H. Chiang, F. I. Lin and C. Y. Chang (2001) Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 9(2), 96-101.
23. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
24. Rice-Evans, C. A., N. J. Miller and G. Paganga (1996) Structure antioxidant activity relationships of flavonoids



-
- and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956.
25. Rice-Evans, C. A., N. J. Miller and G. Paganga (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
26. Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura (1992) Antioxidative properties of xanthane on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
- 收件：96.11.05 修正：97.01.24 接受：97.03.18

