

MC-Transaction on Biotechnology, 2015, Vol. 7, No. 1, e2

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 乙醇萃取紫肉甘薯、紅肉甘薯及黃肉甘薯的抗氧化能力比較

鄭建瑋、陳威誠、劉育綺、陳冠銘、蔡曜鍵、梁致遠\*

銘傳大學 健康科技學院 生物科技學系 (中華民國 台灣 桃園)

### 中文摘要

以乙醇萃取紫肉甘薯、紅肉甘薯及黃肉甘薯，比較體外抗氧化能力。結果顯示，紫肉甘薯的總多酚、還原力、清除 DPPH 自由基及超氧歧化酶的活性都優於黃肉甘薯及紅肉甘薯，且黃肉甘薯的抗氧化能力為最低。紫肉甘薯含有高量多酚類，是造成紫肉甘薯的抗氧化活性高於黃肉甘薯及紅肉甘薯的主要原因。

關鍵字：甘薯、抗氧化

通訊作者：梁致遠 [liang121@mail.mcu.edu.tw]

收稿：2015-1-30 接受：2015-4-2 線上發表：2015-4-4

### 前 言

甘薯 (*Ipomoea batatas*)，又名番薯、地瓜、山芋，屬旋花科植物，早期主要為食用及飼料用，近年因注重養生保健的情形下，甘薯愈受消費者喜愛<sup>[1]</sup>。

多酚類化合物是植物二次代謝產物，是天然植物中萃取的多羥基酚類衍生物，近年廣受歡迎。傳統的藥用植物已有報導酚類化合物和抗氧化能力呈正相關<sup>[2]</sup>。抗氧化劑能捕獲自由基，終止自由基的連續反應。還原力表示其捐贈電子的能力，能和自由基反應，變成穩定的代謝物，終止自由基的反應鏈<sup>[3]</sup>。清除自由基的能力及還原力可測得抗氧化活性。

活性氧物種(reactive oxygen species, ROS)包括超氧陰離子(superoxide anions)、羥基自由基( $\bullet\text{OH}$ )、過氧化氫( $\text{H}_2\text{O}_2$ )和過氧化自由基( $\text{ROO}\cdot$ )，可使核酸、蛋白質、脂質或DNA氧化，可開啟退化性的疾病<sup>[4]</sup>。超氧陰離子是氧化與還原反應的中間產物，具毒性，能形成羥基自由基及過氧化氫化合物(hydroperoxide)，造成細胞受損、發炎、動脈粥狀硬化及老化<sup>[5, 6]</sup>。超氧歧化酶(superoxide dismutase, SOD)廣泛存於生物體中的金屬酶，能催化超氧陰離子轉為 $\text{H}_2\text{O}_2$ 及 $\text{O}_2$ ，進而清除細胞所產

生的超氧陰離子。超氧歧化酶可防止膜脂質的氧化，達到保護的效果[7]。

不同顏色的水果，常具不同的抗氧化意義，鄭等人[8]以白肉及紅肉火龍果比較其抗氧化活性，紅肉火龍果含有高量的甜菜紅色素，是造成紅肉火龍果的抗氧化活性高於白肉火龍果的主要原因。另外不同顏色的葡萄，以深色葡萄品種的總多酚類物質含量高於白色及淺色葡萄。製作紅酒，是含葡萄皮榨汁，因此有大量的花青素，而白酒則不含花青素，紅酒對LDL氧化的抑制效果比白酒高[9]。

不同品種的甘薯，具有豐富的色彩，如紅肉甘薯、黃肉甘薯或紫肉甘薯。鄭等人[1]指出，紫肉甘薯(台農 73 號)具花青素的成分，花青素可以提供花朵多采多姿的顏色，同樣也可提供甘薯顏色。但黃色及橘色諸肉並無花青素之合成，其色素主要由 $\beta$ -胡蘿蔔素所組成[10]。

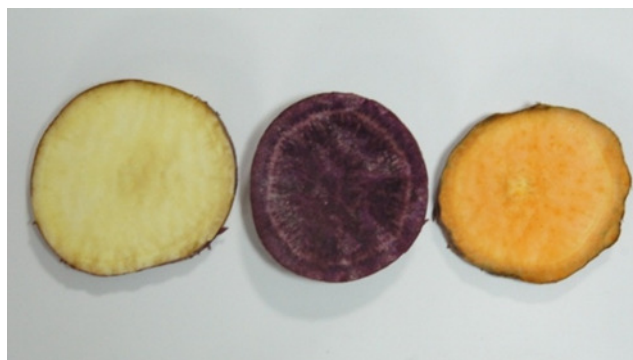
本研究的目的，是選取市售黃肉甘薯、紅肉甘薯及紫肉甘薯，釐清不同顏色果肉的甘薯之總多酚含量、抗氧化活性差異，進而比較清除體外自由基的能力，以作為之後保健食品開發的基礎。

## 材料與方法

### 材料

#### 1. 甘薯的來源：

紫肉甘薯、紅肉甘薯及黃肉甘薯購自桃園市商業市場(見圖一)。



圖一、黃肉甘薯、紫肉甘薯、紅肉甘薯的果肉橫切面

#### 2. 甘薯果肉冷凍乾燥的製備：

將購置的新鮮甘薯去皮、切碎及冷凍乾燥。乾燥後磨碎及通過 60 mesh 篩網過篩，於 $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱保存備用。

#### 3. 藥品：

DPPH (1, 1- diphenyl- 2- picrylhydrazyl)、三氯化鐵(ferric chloride)、Folin-Ciocalten 試劑、沒食子酸 (gallic acid)、L-甲硫胺酸(L-Methionine)、核黃素(riboflavin)、

磷酸氫一鉀及磷酸氫二鉀、碳酸鈉、赤血鹽(potassium ferricyanide)、均為 Sigma 公司產品。硝基藍四氮唑(NBT)購自 Bio Basic Inc. (Markham Ontario, Canada)。以 Milli-Q system 製作的超純水作為本實驗所使用溶劑。

#### 4. 儀器：

分光光度計 (PerkinElmer Lambda 35 UV/Vis spectrometer)，ELISA reader (Thermo LabSystems Multiskan EX)。

### 實驗方法

#### 1. 甘薯萃取樣品的製備

取一克乾燥及過篩後的甘薯粉末，添加5 mL 70%乙醇，以試管振盪器振盪，再以超音波振盪20分鐘，以4°C，3,000 rpm 離心10分鐘，收集上清液後，再重覆前述動作。收集兩次上清液並定量至10 mL，做總多酚量、還原力活性及清除DPPH自由基的測試。

#### 2. 還原力活性

參考Oyaizu方法<sup>[11]</sup>，取200 μL甘薯萃取液，加入200 μL的磷酸鈉緩衝溶液(0.2 M, pH 6.6)及1%赤血鹽(potassium ferricyanide)，經混合後，以50°C水浴反應20分鐘，反應後，迅速於0°C冰浴5分鐘。加入同體積10%三氯醋酸溶液(trichloroacetic acid)，3,000 rpm 離心10分鐘。上清液與蒸餾水及0.1%三氯化鐵(ferric chloride)以5:5:1混合均勻，反應10分鐘，以PerkinElmer Lambda35 UV/Vis分光光度計在700 nm偵測吸光度。

#### 3. 清除1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基能力

參考Hou 等人方法<sup>[12]</sup>，取100 μL不同濃度之甘薯萃取液，加入新鮮配製1.2 mL之DPPH 甲醇溶液(0.16 mM)，混合均勻，在室溫且避光下靜置30分鐘，以PerkinElmer Lambda35 UV/Vis 分光光計在517 nm 偵測吸光度。不加DPPH 自由基試管為對照組。以IC<sub>50</sub>表示去除50% DPPH 自由基的濃度(以mg/g表示)。

$$\text{清除 DPPH 自由基能力(\%)} = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

(式中：A<sub>0</sub>為對照組吸光值；A為測定樣品吸光值)

#### 4. 總多酚分析

參考Folin-Ciocalteu方法<sup>[13]</sup>，取250 μL的甘薯萃取液及250 μL Folin-Ciocalteu試劑相互混合5分鐘，再加500 μL 20%碳酸鈉及4 mL的純水，放置常溫下25分鐘後，以25°C，5,000 rpm離心10分鐘，以PerkinElmer Lambda35 UV/Vis 分光光度計在730 nm偵測吸光度。以沒食子酸(gallic acid)製作檢量線，計算樣品之總多酚濃度(以mg/g表示)。

#### 5. 清除超氧陰離子的測試

參考 Beauchamp 與 Fridovich 的方法[14]，取 109.3 mg L-甲硫胺酸加入 73.23 mL 50 mM pH 7.8 的磷酸鉀緩衝溶液，再加入 10 mg 的硝基藍四氫唑(NBT)成 A 液。以 4.4 mg 核黃素加至 100 mL pH 7.8 磷酸鉀緩衝溶液溶解成 B 液。藥品皆新鮮配製。分析測定時，取 1.53 mL 的 B 液入 A 液成為反應液。

取經冷凍乾燥後的甘薯粉末，以 50 mM pH 7.8 的磷酸鉀緩衝溶液配製不同濃度(1、2、3、4、5 mg/mL)的溶液，以試管振盪器振盪，再以超音波振盪 20 分鐘，以 3,000 rpm、4°C 離心 10 分鐘，取上清液為粗酶液。

取 5 $\mu$ L 的甘薯的粗酶液至含 300  $\mu$ L 反應液的 96 孔盤中，於 4,000 Lux 日光燈 (30 W, FCL30D/28, China Electric MGF. Co., Taiwan)進行 20 分鐘光照還原反應，以 ELISA reader 在 560 nm 偵測吸光值。不加粗酶液的照光試管為對照組。以 IC<sub>50</sub> 表示去除 50%超氧陰離子的濃度。

**超氧陰離子的清除率(%)：** $(A_0-A)/A_0 \times 100\%$

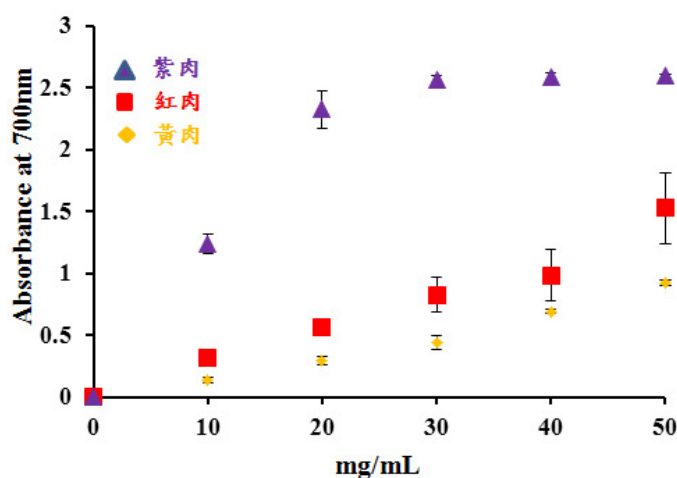
(式中：A<sub>0</sub>為對照組吸光值；A為添加粗酶液組吸光值。)

#### 6. 甘薯果肉萃取液的吸收光譜

取甘薯粉末以 50 mM pH 7.8 的磷酸鉀緩衝溶液配製為 1 mg/mL 的溶液，以試管振盪器振盪，再以超音波振盪 20 分鐘，以 3,000 rpm、4°C 離心 10 分鐘，取上清液，以分光光度計於 400-800 nm 偵測吸光度。

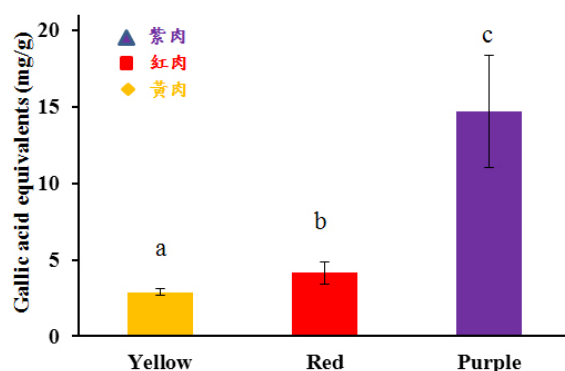
## 結 果

圖二是不同顏色甘薯果肉的還原力比較，萃取液的吸光值越高，表示其還原能力越強。將還原力的吸光值與各處理濃度作一比值，可算出斜率，斜率愈高，還原力愈強。紫肉甘薯的還原力的斜率為 0.088，紅肉及黃肉甘薯的還原力的斜率為 0.028 及 0.018，紫肉甘薯的還原力較紅肉及黃肉甘薯高出近 3 及 5 倍。

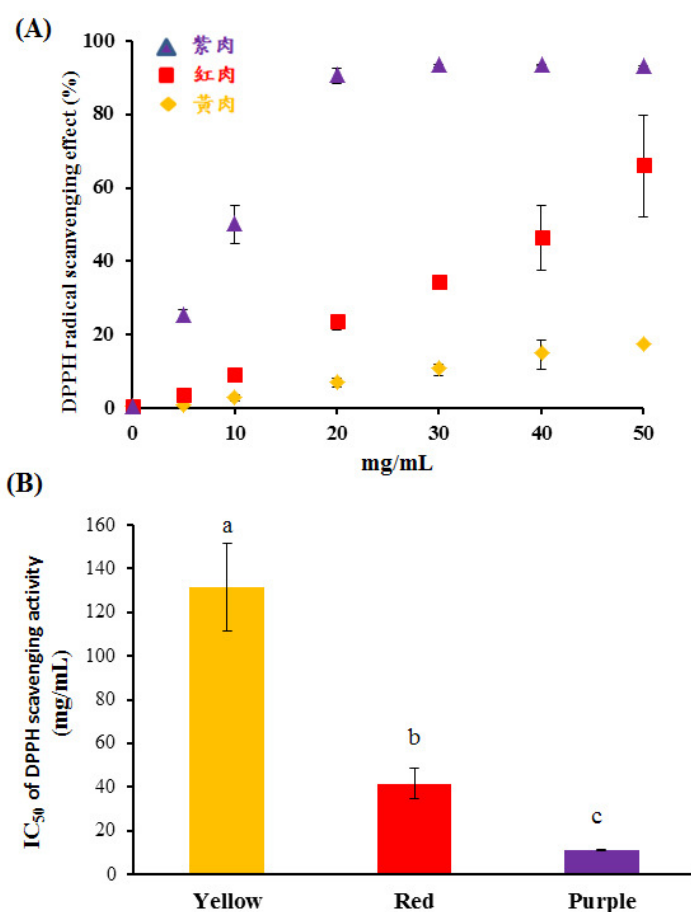


圖二、不同顏色果肉的甘薯還原力比較

圖三是乙醇萃取不同顏色果肉的甘薯總多酚含量。由圖三，紫肉甘薯的總多酚為 15mg GAE/g，紫肉甘薯的總多酚量較紅肉及黃肉甘薯高出近 3.5 及 5 倍。



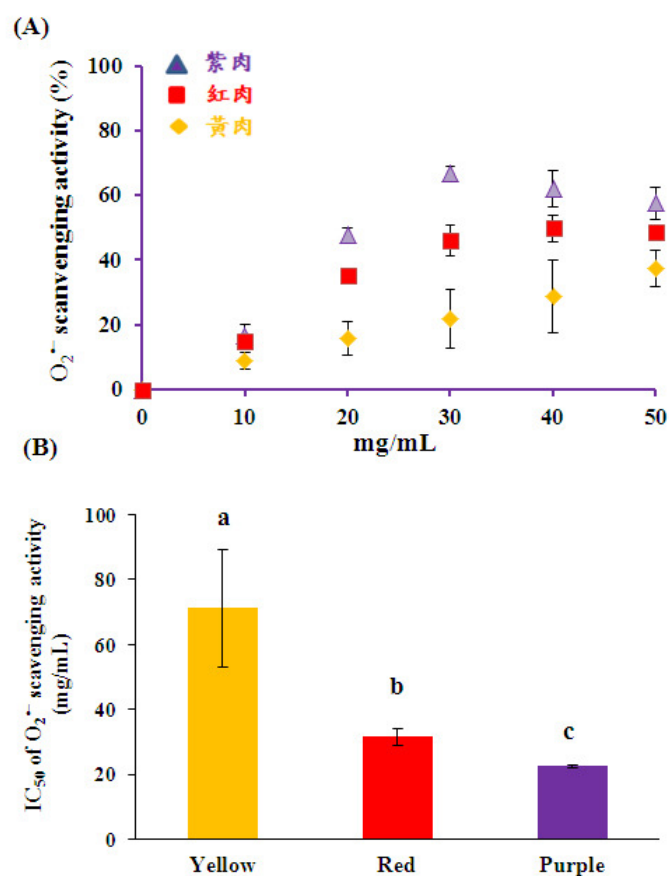
圖三、不同顏色果肉的甘薯總多酚含量。資料為三重覆，以平均值±標準差表示。在圖上不同字母表示具統計顯著差異( $p < 0.05$ )。



圖四、(A)不同顏色果肉的甘薯清除 DPPH 自由基能力的比較(B)不同顏色果肉的甘薯清除一半 DPPH 自由基的濃度(IC<sub>50</sub>)。資料為三重覆，以平均值±標準差表示。在圖上不同字母表示具統計顯著差異( $p < 0.05$ )。

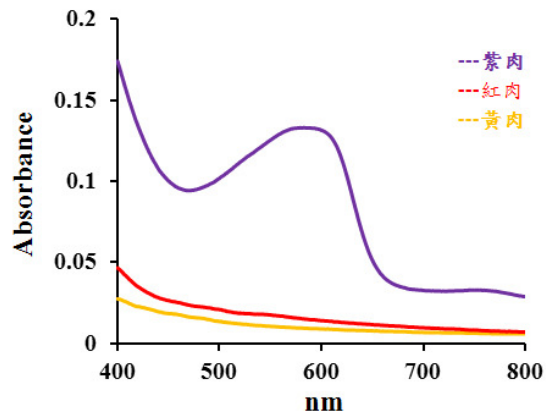
圖四(A)是不同顏色果肉的甘薯清除 DPPH 自由基能力的比較。DPPH 是一種穩定的自由基，以清除 DPPH 自由基一半的濃度( $IC_{50}$ )表示清除 DPPH 自由基的能力， $IC_{50}$  的數值愈小，表示清除 DPPH 自由基能力愈高。由圖四(B)，紫肉甘薯清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  為 11.2 mg/mL，紅肉及黃肉甘薯清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  分別為 41.5 mg/mL 及 131.5 mg/mL，紫肉甘薯清除 DPPH 自由基的能力高於紅肉及黃肉甘薯近 3.8 及 11.7 倍。

圖五(A)是不同顏色果肉的甘薯清除超氧陰離子能力的比較。超氧歧化酶能催化超氧陰離子轉為  $H_2O_2$  及  $O_2$ ，進而清除細胞所產生的超氧陰離子。清除超氧陰離子一半的濃度( $IC_{50}$ )表示清除超氧陰離子的能力， $IC_{50}$  的數值愈小，表示清除超氧陰離子能力愈高。由圖五(B)，紫肉甘薯清除超氧陰離子的  $IC_{50}$  約為 22.5 mg/mL，紅肉及黃肉甘薯清除超氧陰離子的  $IC_{50}$  分別為 31.5 mg/mL 及 71.2 mg/mL，紫肉甘薯清除超氧陰離子的能力高於紅肉及黃肉甘薯近 1.4 及 3.2 倍。



圖五、(A)不同顏色果肉的甘薯清除超氧陰離子能力的比較(B)不同顏色果肉的甘薯清除一半超氧陰離子的濃度( $IC_{50}$ )。資料為三重覆，以平均值±標準差表示。在圖上不同字母表示具統計顯著差異( $p < 0.05$ )。

圖六是不同顏色果肉的甘薯萃取物在 400-800 nm 的吸收光譜圖，紫肉甘薯在 580 nm 處有一明顯的吸收峰，而紅肉及黃肉甘薯則無。



圖六、不同顏色果肉的甘薯吸收光譜圖

## 討 論

Goda等人<sup>[9]</sup>指出紫色甘薯塊根含有矢車菊素(cyaniding)及芍藥素(peonidin)等二種花青素。鄭等人<sup>[1]</sup>也證明國產的紫肉甘薯(台農73號)具花青素的成分，亦含紫紅色矢車菊素及紅色芍藥素，顏色愈深花青素含量愈高。由圖六，不同顏色果肉的甘薯以紫肉甘薯在580 nm處有一明顯的吸收峰，而黃肉及紅肉的甘薯則無，紫肉甘薯在580 nm的吸收峰則是花青素的表現。鄭等人<sup>[8]</sup>以紅肉及白肉火龍果比較，紅肉火龍果在539 nm處有一明顯的吸收峰，是甜菜紅色素(betacyanin)，白肉的火龍果則無。但以紫色山藥及白色山藥作比較，其萃取液的吸收光譜，在可見光區無明顯吸收峰，且二種山藥的多酚類含量也無明顯差異(資料未公開)，雖然不同顏色的山藥，縱然是紫色，其表現的結果不若紫色地瓜，具有高量的多酚含量及花青素。同樣是紫色的甘薯及山藥，都具有同樣的顏色果肉，但表示的生物意涵卻不同。

由圖二，紫肉甘薯的總多酚含量較紅肉及黃肉甘薯高出近3.5及5倍。在本研究中紫肉甘薯較紅肉及黃肉甘薯，無論在還原力、清除DPPH自由基及超氧陰離子的能力都較紅肉及黃肉甘薯為優。鄭等人<sup>[1]</sup>指出甘薯的花青素含量與抗氧化能力無正相關存在，而與總多酚含量呈正相關。因此在本研究的紫肉甘薯含有最高的總多酚含量，與抗氧化能力呈正相關，紫肉甘薯的抗氧化能力也最高。

由圖三，以70%乙醇萃取紫肉甘薯的總多酚類含量達15 mg GAE/g，吳等人<sup>[4]</sup>以70%乙醇萃取黑豆種皮，其總多酚含量達50 mg GAE/g，是黃豆、紅豆及綠豆的種皮總多酚含量的十倍以上。Takanori等人<sup>[16]</sup>以體外試驗初步得出黑豆種皮的花青素對脂質過氧化系有較強的抑制作用。黑豆種皮僅佔黑豆重量10%左右，整體黑豆總多酚的濃度僅約黑豆種皮的10%。市售綠茶飲料總多酚含量在2.5-3.5 mg GAE/mL<sup>[4]</sup>，綠茶是富含天然的抗氧化劑<sup>[17]</sup>，認為可抗癌和抗突變性，對心血管

疾病的保護作用<sup>[18]</sup>。紫肉甘薯可做為日常生活的主食，是黑豆種皮及茶葉不及之處，紫肉甘薯具高量的多酚類，是值得推廣的一項農產品。紫肉甘薯的多酚類在對脂質過氧化或癌細胞的細胞生長週期的影響，都值得進一步討論。

## 參考文獻

- [1] 鄭隆、施怡如、曾東海、賴永昌、吳明哲：甘薯花青素與多酚含量之研究。台灣農業研究，2008，57: 33-48。
- [2] Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H: Antioxidant activity and phenolic compounds of traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 2004, 74: 2157-2184.
- [3] Yen GC, Chen HY: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem* 1995, 43: 27-32.
- [4] 吳慧中、王志玄、蔡復淳、梁致遠：豆科種子的種皮及種仁乙醇萃取物於體外清除自由基的研究。生技學報，2013，5：9-19。
- [5] 黃政弘、陳惠婷、涂瑞澤：三種SOD 活性測定法之比較。大葉學報，1999，8:101-109。
- [6] Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D: Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987, 107:526-545.
- [7] Zimmermann R, Flohe L, Weser U, Hartmann HJ: Inhibition of lipid peroxidation in isolated inner membrane of rat liver mitochondria by superoxide dismutase. *FEBS Lett* 1973, 29:117-120.
- [8] 鄭建瑋、謝宗哲、何殷熾、張毓芳、翁悅容、梁致遠：乙醇萃取白肉火龍果及紅肉火龍果的清除自由基能力比較。生技學報，2014，6：1-12。
- [9] 錢明賽：蔬果中之抗氧化物質。食品工業月刊。1998，30：21-34。
- [10] Teow CC, Truong VD, McFeeters RF, Thompson RL, Pecota KV, Yencho CG: Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chem* 2007, 103: 829-838.
- [11] Oyaizu M: Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 1986, 44: 307-315.
- [12] Hou WC, Lin RD, Cheng KT, Hung YT, Cho CH, Chen CH, Hwang SY, Lee MH: Free



radical-scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine* 2003, 10: 170-175.

[13] Gahler S, Otto K, Bohm V: Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *J Agric Food Chem* 2003, 51: 7962-7968.

[14] Beauchamp C, Fridovich I: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 1971, 44: 276-287.

[15] Goda Y, Shimizu Y, Kato Y, Nakamura M, Maitani T, Yamada N, Yamaguchi M: Two acylated anthocyanins from purple sweet potato. *Photochem* 1977, 44: 183-186.

[16] Takanori T, Kaoru S, Katsumi O, Shunro K, Toshihiko O: Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem Pharmacol* 1996, 52: 1033-1039.

[17] Tanizawa H, Toda S, Sazuka Y, Taniyama T, Hayashi T, Arichi S, Takino Y: Natural antioxidants. I. Antioxidative components of tea leaf (*Thea sinensis* L.). *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1984, 32: 2011-2014.

[18] Farhoosh R, Golmovahhed G, Mohammad HHK: Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chem* 2007, 100: 231-236.

# ***In Vitro* Antioxidant Capacity of Ethanol Extracts of Purple, Red and Yellow Sweet Potato**

**Chien-Wei Cheng, Wei-Chen Chen, Yu-Qi Liu, Guan-Ming Chen, Yao-Jian Tsai, and Ji-Yuan Liang\***

Biotechnology Department, School of Health Technology, Ming Chuan University, 333 Taoyuan, Taiwan, R.O.C.

## **Abstract**

Purple, red and yellow flesh sweet potatoes were evaluated to compare their *in vitro* antioxidant capacity. The results show that the total polyphenols, reducing power, scavenging DPPH radical activity and superoxide dismutase activity of purple flesh sweet potato is far superior to red and yellow flesh sweet potatoes. Purple flesh sweet potato is abundant of polyphenol, and showed the higher antioxidant activity than red and yellow flesh sweet potatoes.

Keyword: flesh sweet potato, antioxidant activity

Corresponding author: Ji-Yuan Liang [liang121@mail.mcu.edu.tw]

Received 1-30-2015 / Accepted 4-2-2015 / Online published 4-4-2015

---

MC-Transaction on Biotechnology, 2015, Vol. 7, No. 1, e2

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.