

嘉義市第 37 屆國民中小學科學展覽會

作品說明書

科 別：化學科

組 別：國中組

作品名稱：影響魚腥草抗氧化活性因子之研究

關 鍵 詞：魚腥草、抗氧化活性

編 號：

影響魚腥草抗氧化活性因子之研究

摘要

在本實驗中，我們以在學校圍籬旁的香草園採摘的魚腥草，經清洗後分離成根、莖及葉三部分，在烘箱乾燥後磨成粉，分別用蒸餾水及 95%酒精進行萃取，分別得根、莖及葉各萃取液，作為本次實驗之儲備液。

取各萃取液，試驗比較(一)不同萃取溶劑(二)不同之根莖葉植株部位(三)萃取液在不同溫度萃取(四)不同濃度萃取液等因子，研究抗氧化活性的差異。研究方法主要是 KMnO_4 氧化還原滴定法、清除 DPPH 自由基能力與螯合亞鐵離子之能力測定等三種方法。以滴定消耗 KMnO_4 體積量及分光光度計測量吸光度下降量，推算魚腥草各萃取液之抗氧化活性。

經實驗結果顯示：(一)溶劑種類因子：魚腥草水萃取物具有最明顯的還原力與清除 DPPH 自由基能力及螯合亞鐵離子之能力，由此得知魚腥草水萃取物具有較佳的抗氧化活性，(二)植株部位因子：葉部之消耗 KMnO_4 用量、對 DPPH 自由基清除率及螯合亞鐵離子之能力均最高，莖部次之，植株根部則最低。(三)溫度因子：高溫時具有較高之抗氧化活性。(四)濃度因子：萃取液在高濃度時，有較高之抗氧化活性。

壹、研究動機

每當上體育課走過校園的圍籬旁的雜草時，風一吹來時常聞到一股類似魚的腥味的臭味，百思不解覺得很好奇，上完體育課，迫不及待地去請老師到現場了解，才知道原來雜草中有一種叫魚腥草的植物，民間常用來煮茶喝，據聞對許多身體症狀有良好的療效。引起了我們對魚腥草的高度研究興致，便邀集同學開始著手搜尋文獻，展開了這次的實驗活動。

貳、研究目的

- 一、認識魚腥草植物，並製備根莖葉萃取液
- 二、探討並比較魚腥草(*Houttuynia cordata*)萃取液之抗氧化活性。
- 三、影響魚腥草抗氧化活性因子之探索與比較。
- 四、喚起大家對天然植物資源的愛惜與重視。

參、研究設備及器材

純水、20% Na_2CO_3 、95%酒精、0.05M KMnO_4 、0.20mM DPPH、5mM Ferrozine、魚腥草、燒杯、量筒、容量瓶、錐形瓶、分析試管、試管架、滴管、微量吸管、玻璃棒、濾紙、減壓濃縮機、分光光度計(PRO-729 型/320-999nm)、低溫冷凍乾燥機、電動攪拌器、高速磨粉機、滴定裝置、抽濾漏斗、分析天平、酒精燈、數位相機和筆電等。





g. 減壓濃縮機



h. 低溫(-87°C)冷凍乾燥機



i. 高速磨粉機



j. 抽濾裝置



k. 0.2mM DPPH 試劑



L. 電動攪拌機



m. 分析天平



n. 滴定裝置

圖 1. 研究設備及器材

肆、研究過程或方法

第一部分：魚腥草萃取液之製備研究

一、魚腥草植物認識

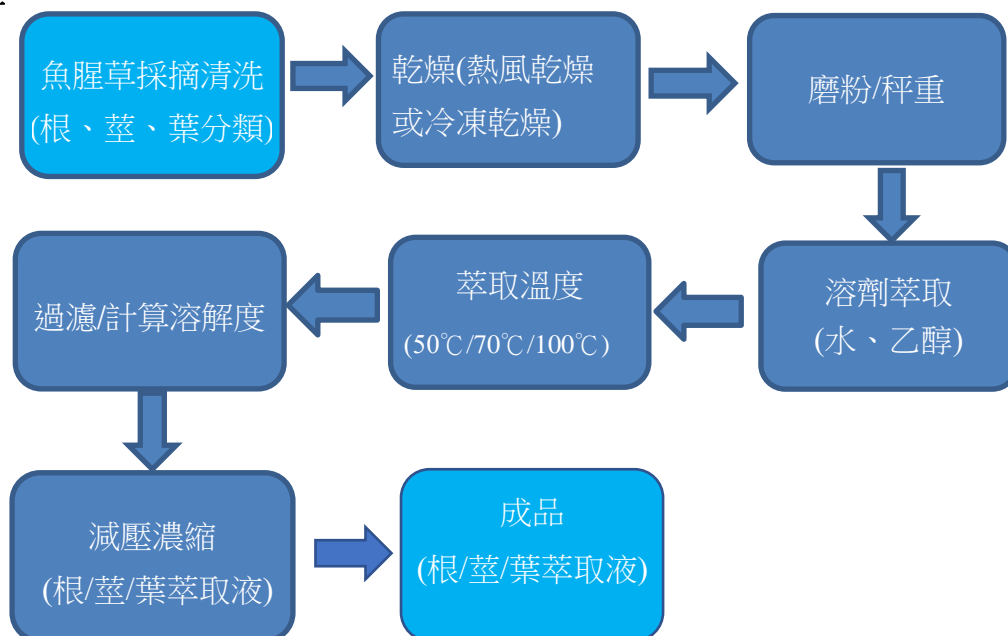
- 1.中文名稱：魚腥草，英文名稱：chameleon 學名：*Houttuynia cordata*
別名：折耳根、截兒根、豬鼻拱、蕺菜，客家話稱之狗貼耳
- 2.化學組成分：含癸醯乙醛、月桂醛、葑萊鹼、槲皮苷、氯化鉀、 α -派烯、芳樟醇、甲基正壬基甲酮等，其中癸醯乙醛、月桂醛即是導致特異臭味的因子。
- 3.生育環境：魚腥草生長於陰濕處或山澗邊，常可在野地、路旁、庭園樹下等較陰濕的地方發現，大片蔓生。屬於三白草科，多年生草本雙子葉。該植物繁殖容易，在各地方草原地常見。
- 4.生長特徵：
 - (1)根：呈乳白色，每隔數公分就有節，並附著一塊淡褐色的皮，節的周圍則長有細細的鬚根。
 - (2)莖：約高 20—60 公分，部分成黑紫色，莖直立狀。
 - (3)葉：葉互生，葉柄長 1-4cm，基部擴大，葉片呈寬卵形或雞心形，長 4-10cm，寬 3-6cm。



圖 2.魚腥草各植株部位介紹

二、魚腥草萃取液之製備方法(實驗操作情形，如圖 3a~f)

(一)製備流程：



(二)實驗情形：(圖 3)

		
a.魚腥草採摘清洗	b.熱風乾燥	c.磨粉/秤重
		
d.分別以水及 95%乙醇溶劑萃取	e.過濾/計算溶解度	f.減壓濃縮得各萃取液成品

圖 3.魚腥草萃取液之製備情形

第二部分：影響魚腥草抗氧化活性因子之研究

【試驗一】魚腥草萃取液對 KMnO_4 還原力之測定。

一、實驗原理：過錳酸鉀(KMnO_4)是一種強氧化劑，檢測液若能與過錳酸鉀溶液反應，使原來的紫紅色褪色可證明其具有還原力性能，若滴定消耗過錳酸鉀溶液的量愈多，可視為其還原力性能就愈強。

二、實驗步驟：**(實驗操作情形，如圖4)**

(一)不同溶劑萃取

- 1.配製0.050M過錳酸鉀酸性溶液。
- 2.以蒸餾水為溶劑，配製(v/v)50%、70%、100%(飽和原液)的根、莖、葉萃取液。
- 3.取100%檢測液與水(做空白實驗)各10.00ml，以0.050M過錳酸鉀酸性溶液滴定變為紅色即為滴定終點。讀取消耗過錳酸鉀溶液之體積，重複實驗三次。
- 4.另取95%乙醇為溶劑之萃取液，依上列1-3步驟操作，重複實驗三次。

(二)不同之根莖葉植株部位及萃取液濃度

- 1.分別配製(v/v)50%、70%、100%的根、莖、葉水溶液檢測液。
- 2.取 0.050M過錳酸鉀酸性溶液滴定至終點，實驗三次紀錄之。
- 3.以蒸餾水做空白實驗。

(三)不同溫度萃取

- 1.分別取v/v) 50°C、70°C、100°C的根、莖、葉水萃取原液。
- 2.取0.050M過錳酸鉀酸性溶液滴定至終點，實驗三次紀錄之。
- 3.以蒸餾水做空白實驗。

【試驗二】魚腥草萃取液清除DPPH自由基能力之測定

一、實驗原理：DPPH是較為安定的自由基，實驗所採用的DPPH乙醇溶液為紫羅蘭色(violet)，在517nm下有強的吸光值，若與試樣結合，會降低吸光值，其吸光值愈低，表示清除DPPH自由基能力愈強。

二、實驗步驟：**(實驗操作情形，如圖5)**

(一)不同溶劑萃取

- 1.用乙醇為溶劑配製0.20mM DPPH溶液。
- 2.分別用蒸餾水與95%乙醇為溶劑，配製(v/v)50%、70%、100%的檢測液。
- 3.取0.20mM的DPPH溶液1000 μL 、以及魚腥草根莖葉之水萃取液(原液)各1000 μL ，以震盪器混合均勻後，室溫下避光靜置30分鐘。
- 4.以分光光度計 (Spectrophotometer, Prema729型) 測其517nm之吸光值，重複實驗三次。並取水做空白實驗。
- 5.改用乙醇為溶劑之萃取液，如2-4步驟，重複實驗三次。並取乙醇做空白實驗。

(二)不同之根莖葉植株部位及萃取液濃度

- 1.分別配製(v/v)50%、70%、100%不同濃度的根、莖、葉水萃取溶液。
- 2.依2-4步驟，實驗三次紀錄之。
- 3.取蒸餾水做空白實驗。

(三)不同溫度萃取

- 1.分別配製(v/v) 50°C、70°C、100°C不同溫度的根、莖、葉水萃取液。
- 2.依2-4步驟，實驗三次紀錄之。
- 3.取蒸餾水做空白實驗。

【試驗三】魚腥草萃取液，螯合亞鐵離子之能力測定。

一、實驗原理：利用 Fe^{2+} 與 Ferrozine 的複合物在 A_{562} 之呈色反應，可以測得樣品對 Fe^{2+} 的螯合能力。當樣品螯合 Fe^{2+} 時，會造成 562nm 吸光值的降低。

二、實驗步驟：**(實驗操作情形，如圖 6)**

(一)不同溶劑萃取

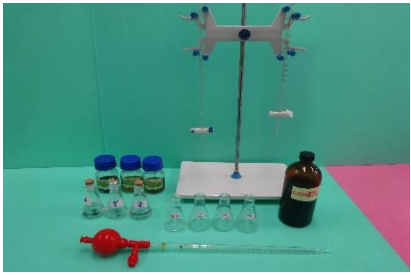
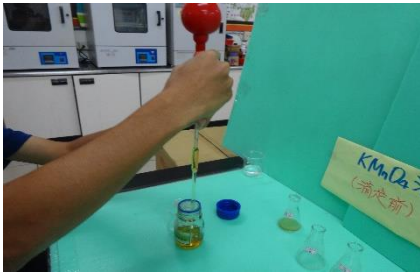

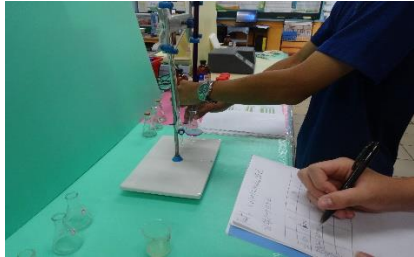
- (1)取 1000 μL 不同濃度 50%、70%、100%的魚腥草水萃取液，加入 100 μL 之 2mM FeCl_2 和乙醇 800 μL ，充分混合後靜置 30 秒。
- (2)再加入 100 μL 之 5mM Ferrozine 試劑後，充分混合後避光靜置 30 分鐘。
- (3)使用分光光度檢測 562nm 之吸光值，重複實驗三次。
- (4)以蒸餾水做空白實驗。
- (5)另以 95%乙醇萃取液，依步驟 1-3，重複實驗三次。

(二)不同之根莖葉植株部位及萃取液濃度

- 1.分別配製(v/v)50%、70%、100%的根、莖、葉水萃取溶液。
- 2.依1-3步驟，實驗三次紀錄之。
- 3.以蒸餾水做空白實驗。

(三)不同溫度萃取





- 1.分別配製(v/v) 50°C、70°C、100°C的根、莖、葉水萃取溶液。
- 2.依1-3步驟，實驗三次紀錄之。
- 3.以蒸餾水做空白實驗。

	
<p>a. 準備魚腥草根莖葉萃取液及 KMnO_4 溶液等藥品</p>	<p>b. 以移液管吸取試樣準備 滴定實驗</p>
	
<p>c. 徐徐滴入 KMnO_4 溶液並搖 動錐形瓶使充分反應.</p>	<p>d. 紀錄實驗數據</p>

▲ 圖 4. 魚腥草根莖葉萃取液對 KMnO_4 還原力之測定

	
<p>a. 準備魚腥草根莖葉萃取液及 DPPH 溶液等藥品</p>	<p>b. 以微量吸管吸取 DPPH 試劑 準備吸光度測定實驗</p>
	
<p>c. 避光 20 分鐘使之充分反應.</p>	<p>d. 測吸光值，紀錄實驗數據</p>

▲ 圖 5. 魚腥草根莖葉萃取液清除 DPPH 自由基能力測定

	
<p>a. 準備魚腥草根莖葉萃取液及等 Ferrozine 試劑</p>	<p>b. 加入 5mM Ferrozine 後，充分混合後避光靜置</p>
	
<p>c. 避光 30 分鐘使充分反應.</p>	<p>d. 測吸光值，紀錄實驗數據</p>

▲ 圖 6.魚腥草根莖葉萃取液螯合亞鐵離子能力測定

伍、研究結果

第一部分：魚腥草萃取液之製備研究結果

(一)新鮮的魚腥草(植株含根、莖、葉)



(二)魚腥草根、莖、葉-粉末



(三)魚腥草根、莖、葉
水萃取液。



(四)魚腥草根、莖、葉
95%乙醇萃取液。



第二部分：影響魚腥草抗氧化活性因子之研究結果

【試驗一】魚腥草萃取液一對 KMnO₄ 還原力之測定。

(一)不同溶劑萃取一對 KMnO₄ 還原力之測定。

1.實驗結果：還原力：葉>莖>根；水萃取液>乙醇萃取液

2.實驗數據：表 1A 各不同溶劑萃取原液(100%)消耗 0.05M 過錳酸鉀溶液體積(ml)

溶劑	水				95%乙醇			
	1	2	3	平均	1	2	3	平均
空白	0	0	0	0	0.60	0.80	0.70	0.70
根	15.60	14.00	16.30	15.30	11.80	13.30	12.10	12.40
莖	28.00	27.50	30.00	28.50	23.00	25.50	23.50	24.00
葉	36.50	30.00	38.50	35.00	32.00	30.10	32.40	31.50

(二)不同之根莖葉部位及水萃取液濃度一對 KMnO₄ 還原力之測定。

1.實驗結果：還原力：葉>莖>根；濃度 100%>70%>50%

2.實驗數據：表 1B 不同植株部位及水萃取液濃度消耗 0.05M 過錳酸鉀溶液體積(ml)

部位	根			莖			葉		
	50%	70%	100%	50%	70%	100%	50%	70%	100%
1	8.80	12.80	15.00	17.60	22.00	29.00	31.30	31.40	34.80
2	8.70	12.80	15.50	18.20	23.80	27.30	28.90	31.70	35.90
3	8.30	11.90	14.30	17.00	24.70	27.70	29.80	32.00	34.90
平均	8.60	12.50	14.90	17.60	23.50	28.00	30.00	31.70	35.20

(三)不同溫度萃取一對 KMnO₄ 還原力之測定。

1.實驗結果：還原力：溫度 100°C>70°C>50°C；葉>莖>根

2.實驗數據：表 1C 不同溫度水萃取原液—消耗 0.05M 過錳酸鉀溶液體積(ml)

部位	根			莖			葉		
	50°C	70°C	100°C	50°C	70°C	100°C	50°C	70°C	100°C
1	12.20	15.00	18.40	22.90	25.00	29.00	30.90	34.70	38.20
2	11.60	14.80	16.90	21.80	26.80	27.90	32.00	33.40	38.00
3	12.2	14.3	17.2	23.10	24.70	28.60	31.60	33.90	39.30
平均	12.00	14.70	17.50	22.60	25.50	28.50	31.50	34.00	38.50

【試驗二】魚腥草萃取液清除 DPPH 自由基能力之測定

(一)不同溶劑萃取－清除 DPPH 自由基能力之測定

1.實驗結果：清除 DPPH 自由基能力：葉>莖>根；水萃取液>乙醇萃取液

2.實驗數據：表 2A 不同溶劑萃取－清除 DPPH 自由基能力之檢測數據

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	清除自由基(%)
萃取溶劑(蒸餾水)					
空白((蒸餾水)	0.268	0.267	0.269	0.268	----
根(100%)	0.164	0.156	0.163	0.161	40%
莖(100%)	0.118	0.120	0.116	0.118	56%
葉(100%)	0.021	0.023	0.019	0.021	92%
萃取溶劑(乙醇)					
空白(乙醇)	0.291	0.290	0.292	0.291	----
根(100%)	0.186	0.188	0.193	0.189	35%
莖(100%)	0.165	0.160	0.161	0.162	44%
葉(100%)	0.075	0.080	0.079	0.078	73%

(二)不同植株部位及萃取液濃度－清除 DPPH 自由基能力之測定。

1.實驗結果：(1)清除 DPPH 自由基能力，葉>莖>根。

(2)萃取液高濃度>低濃度，100%>70%>50%。

2.實驗數據：表 2B 水萃取液不同濃度－清除 DPPH 自由基能力之紀錄

濃度(魚腥草水萃取液) V/V	清除自由基能力(%)		
	根	莖	葉
50%	15%	20%	40%
70%	25%	35%	78%
100%	40%	56%	92%

(三)不同溫度萃取——清除 DPPH 自由基能力之測定。

1.實驗結果：清除 DPPH 自由基能力(1)100°C > 70°C > 50°C (2) 葉 > 莖 > 根

2.實驗數據：表 2C 不同溫度萃取——清除 DPPH 自由基能力之測定

濃度(魚腥草水萃取液) V/V	清除 DPPH 自由基能力(%)		
	根	莖	葉
50°C	21%	29%	48%
70°C	27%	40%	83%
100°C	50%	63%	96%

【試驗三】魚腥草萃取液，螯合亞鐵離子之能力測定。

(一)不同溶劑萃取——螯合亞鐵離子之能力測定。

1.實驗結果：(1) 螯合亞鐵離子之能力，葉 > 莖 > 根。

(2)水萃取液 > 乙醇萃取液。

2.實驗數據：表 3A

實驗次數	1	2	3	平均吸光值	螯合亞鐵離子 之能力(%)
萃取溶劑(蒸餾水)					
空白((蒸餾水)	0.785	0.786	0.787	0.787	----
根(100%)	0.477	0.467	0.472	0.472	40%
莖(100%)	0.113	0.112	0.105	0.110	86%
葉(100%)	0.038	0.037	0.042	0.039	95%
萃取溶劑(乙醇)					
空白(乙醇)	0.669	0.679	0.670	0.672	----
根(100%)	0.432	0.438	0.441	0.437	35%
莖(100%)	0.266	0.268	0.270	0.268	60%
葉(100%)	0.144	0.138	0.141	0.141	79%

(二)不同植株部位及萃取液濃度－螯合亞鐵離子之能力測定。

- 1.實驗結果：(1) 螯合亞鐵離子之能力，葉>莖>根。
(2)萃取液高濃度>低濃度，100%>70%>50%。

2.實驗數據：表 3B 不同植株部位及萃取液濃度－螯合亞鐵離子之能力

濃度(魚腥草水萃取液) V/V	螯合亞鐵離子能力(%)		
	根	莖	葉
50%	12%	19%	38%
70%	23%	30%	77%
100%	39%	53%	90%

(三)不同溫度萃取－螯合亞鐵離子之能力測定。

- 1.實驗結果：(1) 螯合亞鐵離子之能力，葉>莖>根。
(2)萃取液高溫>低溫，100℃>70℃>50℃。

2.實驗數據：表 3C 不同溫度萃取－螯合亞鐵離子能力紀錄

濃度(魚腥草水萃取液) V/V	螯合亞鐵離子之能力(%)		
	根	莖	葉
50℃	20%	26%	41%
70℃	24%	40%	80%
100℃	48%	60%	93%

陸、討論

一、魚腥草萃取液製備

本次實驗所用之魚腥草，是自然生長在校內香草植物園圍籬旁之植物且長得枝葉茂盛，採摘時發現根部長達 15m，摘取魚腥草植株後用水清洗，除去表面灰塵，確保品質，並將根、莖、葉分離；將魚腥草分別以 50°C、70°C 及 100°C 乾燥，再以高速粉碎機製成粉末，做為不同溫度萃取調配成不同萃取液，提供做為不同溫度萃取液之抗氧化活性差異之比較。另分別以 95% 的乙醇，和蒸餾水兩種不同溶劑萃取，以電動攪拌器 500rpm 的速率，攪拌萃取 100 分鐘，經抽濾過濾去除沉澱物後，即為魚腥草萃取液之原液，視為 100% 濃度，分別用 95% 的乙醇，和蒸餾水兩種不同溶劑，個稀釋成(v/v) 50%、70% 及 100% 之不同濃度備用。

二、探討魚腥草萃取液的抗氧化活性

抗氧化能力可視為一種還原能力，我們應用在課堂所學的氧化還原滴定，以 KMnO_4 溶液做滴定實驗，由消耗 KMnO_4 溶液體積的多寡，初步可了解魚腥草萃取液是否具有還原性。 KMnO_4 滴定时，其消耗的量愈多，表示還原力愈大。實驗時不需使用指示劑，唯需加入硫酸，使反應在酸性下進行，較易觀察顏色的變化，滴定时溶液由原來的紫紅色會褪色成無色，當終點瞬間呈紅色時，即為滴定时終點。由於魚腥草萃取液呈淡黃褐色，擔心因而影響實驗觀測，因此實驗前將魚腥草萃取液加入活性碳粉末，作脫色處理。

DPPH(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)為一種較穩定的自由基，進行清除DPPH自由基能力測定時，當DPPH自由基與抗氧化物質作用，抗氧化物質提供電子或氫質子可清除自由基，因此DPPH自由基就會失去本身紫羅蘭色的特性，使吸光值的下降，在517nm波長照射下，利用分光光度計測定之吸光值減少百分比，可判斷樣品清除DPPH自由基能力之強弱，予以佐證萃取液的抗氧化力。另外DPPH試劑配製時需避光，使用時需新配製，並保存於棕色瓶子中，避免DPPH自由基結構照光變質。

螯合亞鐵離子之能力測定原理是當樣品螯合 Fe^{2+} 時，會造成 562nm 波長吸光值的降低，吸光值降低愈多，樣品之抗氧化能力愈強。因溶液易氧化變質，會影響實驗的準確度，實驗時才配製 Ferrozine 溶液和氯化亞鐵溶液。

三、抗氧化活性試驗方法

在本實驗中，我們以校內自然產出的魚腥草，作為抗氧化活性試驗篩選，並比較不同植株根莖葉、不同萃取溶劑、不同萃取濃度及不同萃取溫度，試驗抗氧化活性的差異；抗氧化活性試驗的評估方法包括清除 DPPH(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)自由基、螯合亞鐵能力

(Chelating activity on ferrous ion) 及與過錳酸鉀溶液反應之還原能力 (Reducing power test) 之測定。另外影響魚腥草抗氧化活性之因子，如：季節 (春季、夏季、秋季、冬季)、乾燥方法 (常溫乾燥、熱風乾燥和冷凍乾燥)、植株之栽植土壤性質、栽植不同地區等都可能對於生理活性成份或抗氧化活性造成影響，因時間不足，留待日後再繼續深入探究。

柒、結論

魚腥草不同植株部位根、莖、葉之萃取液抗氧化活性試驗比較：使用與過錳酸鉀反應之還原能力測定、清除自由基 DPPH 能力測定及螯合亞鐵離子之能力測定等三種方法，實驗得知：

- 一、萃取液和過錳酸鉀反應之還原力測定：還原力：(1)不同植株，葉>莖>根 (2)不同萃取液濃度，100%>70%>50% (3)不同溫度萃取，100°C>70°C>50°C (4)不同溶劑萃取，水萃取液>乙醇萃取液。
- 二、清除自由基 DPPH 能力：葉>莖>根。當葉之水萃液濃度(V/V)達 70%，清除自由基 DPPH 能力可達 50%以上；葉之水萃液濃度為 100%時，去除率可達 93%；莖之水萃液濃度(V/V)僅在 100%(原液)時，去除 DPPH 能力才可達 50%；而根之水萃液去除 DPPH 能力遠低於 50%，效力低微(實驗結果，表 2A、2B)。
- 三、螯合亞鐵離子之能力：魚腥草萃取液之濃度越高，螯合亞鐵離子能力越強，100%>70%>50%；魚腥草萃取液螯合亞鐵離子能力是葉>莖>根。葉之水萃液濃度為 100%時，螯合亞鐵離子之能力可達 93%，但若改為乙醇萃取液，同為 100%濃度，螯合亞鐵離子能力僅 79%(表 3A)。
- 四、綜合上述：魚腥草根、莖及葉皆具有抗氧化活性，無論是水萃取液或乙醇萃取液，其還原力、清除自由基能力或螯合亞鐵離子之能力，皆以葉萃取液最強，莖萃取液次之，根萃取液最弱。

捌、參考資料

- 一、黃榮茂、王禹文，1992，化學化工百科辭典，曉園出版社。
- 二、黃得時，2018，高中基礎化學實驗(二)，龍騰出版社。
- 三、Neil Campbell，2004，生物學(下冊)，偉明圖書有限公司
- 四、王美玲，2017，高中基礎生物(上)，翰林出版社。
- 五、陳盈君，2010，乾燥條件對魚腥草素成份影響之研究，台灣碩士論文。
- 六、林威宏，2009，影響魚腥草與芭樂葉萃取物之抗氧化活性探討，台灣碩士論文。