

國立台灣大學生農學院園藝暨景觀學系

碩士論文

Department of Horticulture and landscape Architecture

College of Bio-resources and Agriculture


National Taiwan University

Master Thesis

栽培環境對虎杖白藜蘆醇含量之影響

Effect of culture environment on resveratrol content of

*Polygonum cuspidatum*.



黃柏任

Po-Jen Huang

指導教授：張祖亮 博士

Advisor : Tsu-Liang Chang, Ph.D.

中華民國 101 年 六月

June, 2012

國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

栽培環境對虎杖白藜蘆醇含量之影響

Effect of culture environment on resveratrol content of  
*Polygonum cuspidatum*

本論文係黃柏任君（學號 R98628122）在國立臺灣大學園藝暨  
景觀學系完成之碩士學位論文，於民國 101 年 5 月 1 日承下列考試  
委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

張祖訓

（指導教授簽名）

陳開憲

鍾仁斌

## 誌謝

本論文從選定題目到撰寫完成為止也過了近三年的時間，從一開始對分析化學完全不懂到完成論文，受到許多人在多方面的幫助。承蒙指導老師張祖亮博士的各項指導和論文寫作上的協助，學生由衷感謝。感謝陳開憲博士在成份分析上給予的意見，鍾仁彬博士提供試驗材料和論文上的修改以及陳右人出借分析儀器，承蒙各位老師的指導讓這篇論文得以完成。

在台大求學的這三年終於順利結束了，感謝繼中學長和書妍學姐在分析化學以及實驗進行上給予的諸多幫助以及忍受我的發問和騷擾。怡如學姊在植物生長調查和初期實驗架構的建立上給我很多想法與意見，也感謝學姊一家能提供埔里的試驗場所，打擾到學姊父母真是不好意思。一開始加入精溫實驗室有鴻均學長在讓我放心很多，康康、小胖胖、心怡、怡瑛、宛玲、婉婷、智鈞等學長姊的經驗相傳讓我能更順利習慣台大的生活。與我同級的宜潔更是我在台大生活共進退的好同伴，信榮、志豪、婉婷、阮阮、康銘、彥佑、小侯、子軒有你們的陪同讓精溫的生活歡樂不少，另外要感謝在春陽和梅峰場區給我無數方便的芳瑜學姊、蜀龍和雅芳姊，以及 2531 的真如和美玲姊在實驗和儀器操作上給予的幫助與經驗。

最後更要感謝我的父母和弟弟，家人給我在精神和生活上無數的支持是我很大的助力，甚至外出採樣時還要勞煩兩位協助，讓我能無後顧之憂的情形下求學並完成論文。

在此，僅以這篇論文見證這段時光，並獻給所有關心我與我愛的人。

黃柏任

2012 年 6 月於台大精密溫室

## 中文摘要

白藜蘆醇(resveratrol)是一種多酚類(polyphenols)成分，屬於植物防禦素(phytoalexin)的一種。具有抗氧化、抑制腫瘤和心血管疾病預防的作用。虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)為蓼科多年生灌木狀草本，富含白藜蘆醇等其他多酚二次代謝物，中醫上常用於治療癌症、B型肝炎、高血壓等疾病。本研究採用之虎杖植株，原生於南投縣仁愛鄉梅峰附近山區，由明道大學選育高白藜蘆醇含量之單株經無性繁殖成 051111 選系；具有高含量二次代謝物，除白藜蘆醇外，尚有白藜蘆醇苷、大黃素等多種具生物活性成份。

這類植物防禦素在植物體內的含量會受到環境影響，本研究逐月探討在埔里、台北、春陽及梅峰露地栽培虎杖，其地上部與地下部的生長情形和白藜蘆醇含量的變化，地上部並以分級方式，研究主枝和側枝各部位間的差異。

二年生虎杖的生長情形以種植於梅峰為最佳，地上部分級採收與地下部鮮乾重分別為 55 g/part 和 401.82 g/plant，乾重 13.72 g/part 和 140.73 g/plant。白藜蘆醇含量以台北最高，地上部與地下部分別為 0.04 和 3.33 mg/g DW。採收時期為八月時地上部與地下部皆有最高採收乾重 10.59 g/part 和 118.83 g/plant，地上部白藜蘆醇含量於五月時達最高 0.06 mg/g DW，地下部於八月達最高 3.19 mg/g DW。地上部不同部位中的生長量和白藜蘆醇含量以側枝較主枝佳，以側枝的 Part5(第 4~6 節)和 Part6(第 7 節以上)最高。評估白藜蘆醇總產量，地上部於梅峰所產植株於七月時採摘 Part6 部位最佳(1.98 mg/part)，地下部以梅峰所產於八月採收者最佳(561.35 mg/plant)。

關鍵字：植物防禦素、多酚類、乾重、栽培地點、採收部位

## 英文摘要

Resveratrol(,trans-3,4,5-trihydroxystilbene) is natural plant polyphenols and it is a kind of phytoalexin. It has preventative functions for cardiovascular diseases, anti-oxidative effects and anti-cancer activities.

*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. belongs to Polygonaceae and is classified as perennial shrub rich in resveratrol and other secondary metabolites. In traditional Chinese medicine, it is used for cancer, hepatitis B, hypertension and other diseases.

051111 line was derived from Meifeng and selected by Mingdao University. This line has high levels of secondary metabolites including resveratrol, piceid and emodin, etc.

The phytoalexin content in the plants will be effected by environmental factor. Studies to investigate the effects of cultivated location, seasons, harvest parts on resveratrol content and plant growth on Puli、Taipei、Chunyang、Meifong.

The growth pattern of aboveground main stem and lateral shoot had been completed for two years old *P. cuspidatum*.

The harvest weight showed an obviously difference between aboveground and underground. Crops two years old and cultivated at Meifong had the highest growth and harvest parts. Fresh weight of underground parts 55 g/part and 401.82 g/plant, dry weight 13.72 g/part and 140.73 g/plant.

The highest resveratrol content was 0.04 and 3.33 mg/g DW of aboveground and underground, respectively.

Harvesting in August used 051111 line showing the dry weight of *P. cuspidatum* aboveground and underground had the highest ( 10.59 g/part and 118.83 g/plant ) , the highest resveratrol content of aboveground was in May ( 0.06 mg/g DW ) , underground was in August ( 3.19 mg/g DW ) .

Harvest part showed the weight and resveratrol content of part 5 and 6 better than other.

The total resveratrol content showed crops aboveground should choose the part 6 in July at Meifong(1.98 mg/part) and underground harvest in August at Meifong(561.35 mg/plant).

Key word : phytoalexin 、 polyphenols 、 dry weight 、 cultivation location 、 harvest part

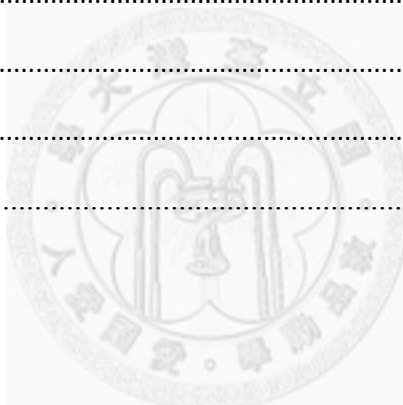


## 目錄

口試委員審定書

誌謝.....	i
中文摘要.....	ii
英文摘要.....	iii
表次.....	vii
圖次.....	x
第一章 前言.....	1
第二章 前人研究.....	2
一、虎杖概述.....	2
二、虎杖主要藥效成分.....	2
三、白藜蘆醇概述.....	3
四、植物防禦素介紹.....	5
五、栽培環境影響白藜蘆醇含量之研究.....	5
六、常見白藜蘆醇的分析方法.....	7
第三章 虎杖高白藜蘆醇含量選系繁殖.....	9
摘要.....	9
前言.....	9
材料與方法.....	10
結果.....	11
討論.....	12
第四章 虎杖白藜蘆醇之萃取.....	16
摘要.....	16
前言.....	16
材料與方法.....	17
結果.....	20

討論.....	20
第五章 虎杖不同季節的生長量變化與形態調查.....	29
摘要.....	29
前言.....	29
材料與方法.....	30
結果.....	31
討論.....	32
第六章 虎杖不同季節與採收部位的白藜蘆醇含量和鮮乾重變化.....	35
摘要.....	35
前言.....	35
材料與方法.....	36
結果.....	38
討論.....	44
未來展望.....	47
附錄	





表次

表 1. 插穗含頂芽與否、套袋及施用 NAA 對虎杖扦插苗成活率與生長的影響.14	
Table 1. Effect of cutting shoots with or without apical bud, bagging and NAA on survive, leaf bud and root growth of cutting <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc... 14	
表 2. 單因子變方分析插穗含頂芽與否、套袋及施用 NAA 對虎杖扦插苗生長的影響..... 15	
Table.2 Effect of interaction on cutting materials, bagging and NAA on survive, leaf bud and root growth of <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. cutting..... 15	
表 3. 乙醇濃度、萃取時間、萃取溫度和料液比對虎杖中白藜蘆醇萃取的方差分析表.....26	
Table 3. Tests of between-subjects effect of ethanol concentration、extract time、extract temperature and mixture ratio on extraction of trans-resveratrol from <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....26	
表 4. L16 (45) 正交試驗表設計萃取虎杖的白藜蘆醇.....27	
Table 4. L16 (45) orthogonal design on extract trans-resveratrol from <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....27	
表 5. 乙醇濃度、萃取時間、萃取溫度和料液比對萃取虎杖中的白藜蘆醇單因子量表.....28	
Table 5. Estimated marginal means of ethanol concentration、extract time、extract temperature and ratio on extraction of trans-resveratrol from <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....28	
表 6. 地點和採收時間對一年生虎杖地上部節間數、葉片數、株高與落葉數的影響.....34	
Table 6. Effect of location and harvest time on stem number, leaf number, plant height and loss leaf number of one year old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ...34	
表 7. 地點和採收時間對一年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....56	

Table 7. Effect of location and harvest time on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of one year old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	56
表 8. 地點和採收時間對一年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	57
Table 8. Effect of location and harvest time on underground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of one year old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	57
表 9. 地點和採收時間的交互效應對一年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	58
Table 9. Effect of location and harvest time interaction on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of one year old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	58
表 10. 地點和採收時間的交互效應對一年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	59
Table 10. Effect of location and harvest time interaction on underground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of one year old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	59
表 11. 地點和採收時間對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	60
Table 11. Effect of location and harvest time on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	60
表 12. 地點和採收時間對二年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	61
Table 12. Effect of location and harvest time on underground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	61
表 13. 地點和採收時間的交互效應對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	62

Table 13. Effect of location and harvest time interaction on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....	62
表 14. 地點和採收時間的交互作用對二年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	63
Table 14. Effect of location and harvest time interaction on underground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....	63
表 15. 地點、採收時間和採收部位對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	64
Table 15. Effect of location, harvest time and harvest part on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.....	64
表 16. 地點、採收時間和採收部位的交互作用對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響.....	65
Table 16. Effect of interaction on location, harvest time and harvest part interaction on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of two years old <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. ....	65

## 圖次

圖 1. 白藜蘆醇標準品 HPLC 層析圖(紫外線偵測器 305nm), 滯留時間為 7.2 分鐘。.....	23
Fig. 1. HPLC chromatogram of trans-resveratrol standard detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min). Trans-resveratrol retention time of 7.2 min.....	23
圖 2. 虎杖地下部萃取液 HPLC 層析圖(紫外線偵測器 305nm), trans-resveratrol 滯留時間為 7.2 分鐘。.....	24
Fig. 2. HPLC chromatogram of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. root extract detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min). Trans-resveratrol retention time of 7.2 min.....	24
圖 3. 白藜蘆醇標準品 LCMS 層析圖(紫外線偵測器 305nm), trans-resveratrol 滯留時間為 9.59 分鐘。.....	25
Fig. 3. (A)TIC of Liquid Chromatograph Mass Spectrometer from trans-resveratrol standard detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min).(B)Mass ion spectrum of trans-resveratrol eluting at retention time of 9.59 min.(C) Demonstrating characteristic ion cluster of mass 229 (D)TIC of MRM with qualifier ions of mass 211 and 135.....	25
圖 4. 二年生虎杖側枝抽出節位和順序.....	33
Fig 4. The side shoot growth node and sequence with main shoot of two years old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.(no.1: the first side shoot, no.2: the second side shoot···).....	33
圖 5. 一年生虎杖地上部乾重、白藜蘆醇含量和總產量的相對生長速率.....	49
Fig 5. Relative growth rates (RGR) for newly emerged aboveground (A)dry weight (g g-1 month-1) (B)resveratrol content (mg mg-1 month-1) (C)total resveratrol content(mg mg-1 month-1) of one year old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc....	49

圖 6. 一年生虎杖地下部乾重、白藜蘆醇含量和總產量的相對生長速率.....	50
Fig 6. Relative growth rates (RGR) for newly emerged underground (A)dry weight (g g-1 month-1) (B)resveratrol content (mg mg-1 month-1) (C)total resveratrol content (mg mg-1 month-1)of one year old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.....	50
圖 7. 二年生虎杖地上部乾重、白藜蘆醇含量和總產量的相對生長速率.....	51
Fig 7. Relative growth rates (RGR) for newly emerged aboveground (A)dry weight (g g-1 month-1) (B)resveratrol content (mg mg-1 month-1) (C)total resveratrol content (mg mg-1 month-1)of two years old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. ....	51
圖 8. 二年生虎杖地下部乾重、白藜蘆醇含量和總產量的相對生長速率.....	52
Fig 8. Relative growth rates (RGR) for newly emerged underground (A)dry weight (g g-1 month- 1) (B)resveratrol content (mg mg-1 month-1) (C)total resveratrol content (mg mg-1 month-1)of two years old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. ....	52
圖 9. 虎杖栽培於(A)埔里(B)台北(C)春陽和(D)梅峰之鮮重變化.....	53
Fig 9. Variations in fresh weight of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. cultured at ; (A) Puli (B) Taipei (C) Chunyang (D) Meifong. Form2010 May to 2011 Oct. Bars indicate standard error of the means. ....	53
圖 10. 虎杖栽培於(A)埔里(B)台北(C)春陽和(D)梅峰之乾重變化.....	54
Fig 10. Variations of dry weight of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. cultured at ; (A) Puli (B) Taipei (C) Chunyang (D) Meifong. Form2010 May to 2011 Oct. Bars indicate standard error of the means. ....	54
圖 11. (A)一年生與(B)二年生虎杖地上部與地下部乾重比.....	55
Fig 11. Aboveground and underground dry weight ratio of (A)one year old and(B) two years old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. ....	55
Table 7. Effect of location and harvest time on aboveground fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of one year old Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.....	56

## 第一章 前言

白藜蘆醇(resveratrol)為一對二苯乙烯化合物(stilbenes)，具有強烈抗氧化能力，屬於多酚類的二次代謝物的植物防禦素(phytoalexin)。在自然界中以順式(*cis*-resveratrol)和反式白藜蘆醇(*trans*-resveratrol)以及與糖苷結合(piceid)的形式存在。

於 90 年代的西方飲食文化與心血管疾病調查研究中顯示，法國人雖處在高熱量高脂肪的飲食環境下，心血管罹病率仍低於其他西方國家，被稱為『法國矛盾』(French paradox) (Sun et al., 2002)。此現象引起往後一連串的相關研究，研究後發現此現象極可能是法國人因為嗜喝紅酒，大量攝取酒中富含的多酚物質，如白藜蘆醇、紅酒多酚等而降低心血管疾病發生(Renaud and Lorgeri, 1992)。

Baur 等人於 2006 年發現給予高卡路里飲食中的小鼠，其死亡率高於控制組。但若同時給予白藜蘆醇者，其死亡率和控制組相差無幾，並且於肝臟切片中顯示不會有脂肪肝的情形。

Bruno 於 1999 年利用紅酒餵食大鼠顯示可有助減少血栓形成。後人深入研究更發現紅酒中的白藜蘆醇除了能抑制心血管疾病外還具有調節免疫作用、抗氧化、抑制腫瘤和類似雌激素的作用，可做為營養物質(nutraceuticals)保護人體健康(Signorelli and Ghidoni, 2005； Goswami and Das, 2009)。

已知類二苯乙烯化合物廣泛存在於松科(Pinaceae)、豆科(Leguminoaceae)、桃金娘科(Myrtaceae)、桑科(Moraceae)、殼斗科(Fagaceae)、百合科(Liliaceae)、龍腦香科(Dipterocarpaceae)、莎草科(Cyperaceae)、買麻藤科(Gnetaceae)和葡萄科(Vitaceae)。常見含有白藜蘆醇的植物有：藍莓、葡萄、桑葚、花生及虎杖等(Cassidy et al., 2000； Dong, 2003； Beřnova et al., 2010)。

白藜蘆醇既屬於多酚類(polyphenols)的植物防禦素，應可以利用環境變動來

影響其在植物體內的含量。許多研究利用環境逆境(stress)如水分逆境、溫度逆境及照射紫外光等方式來誘發各種植物防禦素的生成，進而提高植株的藥效或其他利用價值。本研究利用四個不同海拔高度的栽培地點種植虎杖，藉由各不同的環境因子影響虎杖中白藜蘆醇的濃度，並進行相關性分析與生長調查，期望能找出生產虎杖提取優良白藜蘆醇的栽培環境條件。

## 第二章 前人研究

### 一、虎杖概述

虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.，屬於蓼科蓼屬植物，藥材名虎杖。別名本川七、土川七、紅肉川七、紅三七。為多年生灌木狀草本，葉廣卵形，全緣或深波狀起伏，具柄，托葉鞘短。圓錐花序，密集著生於枝端或腋生，雌雄異株，花多數，白色，花被 5 裂，具闊翅；雄花雄蕊 8 枚；雄花子房卵形，具三稜。瘦果三角狀，具宿存之翅狀花被。有利尿、通經、鎮痛、解毒之效。治月經不調、產後瘀血腹脹、小便不通、跌打傷、小兒發育不良等(張，2007)。

虎杖藥材主要生產於中國大陸的山東、河南、浙江、四川、貴州等地，遼寧省和大連地區也有分佈。台灣的野生虎杖主要則分布在海拔 1800 公尺以上的高山地帶。由於在中國大陸的野生虎杖遭到大量濫採，再加上其主要藥用部位為地下部，在過度採集的情況下數量已經大量減少(潘和王，2008)。

### 二、虎杖主要活性成分

中藥虎杖為蓼科植物虎杖的乾燥根莖及根，性微寒、味微苦，具去風瀝濕、散瘀定痛、止咳化痰等功效。虎杖含蒽醌類、二苯乙烯類(芪類)、酚類、黃酮

類等多種成份，其中二苯乙烯類主要為白藜蘆醇和白藜蘆醇苷(虎杖苷)，蒽醌類主要以大黃素、大黃素甲醚為代表，也含有多種蒽醌苷(王等，2006)。

以上的成分具有良好的抑菌效果，以虎杖萃取液、白藜蘆醇苷、大黃素作為添加物，可明顯抑制芽孢桿菌(*B. cereus*)、金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)、腸炎桿菌(*S. anatum*)的生長，使其空腔化或細胞壁畸形(Shan et al., 2008)。

由於其良好的抑菌效果，因此民間也有使用虎杖萃取液來進行牙齒保健，可以有效抑制鏈球菌(*Streptococcus*)在口腔內滋生，降低牙菌斑數量，有助口腔保健衛生 (Song et al., 2007)。

Chang 等人於 2005 年利用虎杖的酒精和水萃取液，進行抑制 B 型肝炎病毒株的試驗，結果不論酒精或水萃取液皆具有良好抑制效果，研究指出甚至能促進 T 細胞(cytotoxic T cell)攻擊受 B 型肝炎病毒感染的細胞。

### 三、白藜蘆醇概述

白藜蘆醇化學名為芪三酚，分子式  $C_{14}H_{12}O_3$ ，分子量為 228.25，屬於類二苯乙烯(stilbenoids)化合物，與類黃酮(flavonoids)、木脂素(lignins)及綠原酸類(chlorogenic acid derivatives)一樣屬於多酚類(polyphenols)物質，為一種植物防禦素。

類二苯乙烯生合成路徑由莽草酸(shikimic acid pathway)生成 phenylalanine，再經由 phenylalanine ammonia lyase (PAL) 作用成為 *trans*-cinnamic acid。經 cinnamate-4-hydroxylase (C4H) 氧化反應後形成 p-coumaric acid，再經過 4-cinnamate:CoA ligase (4CL) 形成 p-coumaric-CoA。經過 stilbene synthase (STS) 作用使一莫耳的 p-coumaroyl-CoA 與三莫耳的 malonyl-CoA 生成類二苯乙烯物質 (Liswidowati et al., 1991； Signorelli and Ghidoni, 2005)。

白藜蘆醇以游離態和糖苷結合態兩類形式存在於植物中，植物中主要以反式



存在，反式活性大於順式；白藜蘆醇還具有其二聚體 ( $\epsilon$ -Viniferin)、三聚體 ( $\alpha$ -Viniferin) 的形態，其功能也類似 *trans-resveratrol*，糖苷結合形式最常見的是在側鏈結合一個單糖基的白藜蘆醇苷(piceid) (Signorelli and Ghidoni, 2005)。白藜蘆醇和白藜蘆醇苷即是虎杖的主要藥效成分，白藜蘆醇苷在腸道中會因糖苷酶作用而分解，釋放出白藜蘆醇由人體吸收。

白藜蘆醇首次分離出來是在 1940 年，直到 1967 年才確認了葡萄中確實含有該成份，並在 1992 年確認紅酒含有豐富的白藜蘆醇，並引起研究者們對其影響心血管疾病功效的興趣(Laleh Golkar et al., 2007)。

研究指出白藜蘆醇具強烈抗氧化力，有助降低血管中低密度脂蛋白固醇 (low-density lipoprotein-cholesterol) 氧化和血小板聚合(platelet aggregation)的情況，有保護心血管預防心血管疾病的作用(Manika and Dipak,2010)。

利用治癌物二乙基亞硝胺(diethylnitrosamine, DENA)注射於小鼠誘發肝癌進行試驗，每天除 DENA 外，於飲水中給予 50 到 300 毫克的白藜蘆醇連續 20 週，結果顯示持續攝取適量白藜蘆醇，有助減少肝癌細胞的數量，攝取越多的組別其癌細胞減少越明顯(Bishayee et al., 2010)。

添加 100  $\mu$ m 白藜蘆醇於 S2-013 和 CD18 兩種肝癌細胞株的培養中，在 24 小時內可較控制組顯著降低肝癌細胞數量，並持續有效至 72 小時(Laleh Golkar et al., 2007)。

另外白藜蘆醇也被證明對癌症有強力的化學預防 (chemopreventive) 作用，唯其確切機制尚不清楚。推測白藜蘆醇能使細胞凋亡基因 P53 活躍，進而消除因喪失功能或突變而無法自然死亡並增殖的癌細胞。因此白藜蘆醇及其衍生物可開發作為副作用較小的癌症治療方式，深具發展潛力 (Dong, 2003)。

除上述的抗氧化以及腫瘤的功效外，白藜蘆醇還具類似雌激素的作用，有預防女性骨質疏鬆症的功效(Goswami and Das, 2009; Signorelli and Ghidoni, 2005)。

#### 四、植物防禦素介紹

植物防禦素是當植物遭受天敵攻擊、真菌感染或環境嚴苛等逆境(stress)時，產生用來抵抗的物質，藉此增加植物的環境適應能力或抗病性。以生物合成路徑來看，是以一次代謝物(primary metabolites)為原料，因此被稱作二次代謝物(secondary metabolites)。

依合成途徑及種類可分為萜類(terpenoids)、生物鹼(alkaloids)和多酚類。依對抗外來威脅之方式，可分為組成型(constitutive)及誘導型(inducible)。組成型物質在植物未受感染前就先合成，可隨時對抗入侵物，又稱為植物抗毒素(phytoanticipins)。誘導型物質則為受生物或非生物逆境之誘發而產生，平常在植物體內含量極低幾乎無法偵測到，又稱為植物防禦素。植物防禦素與抗毒素最大的不同在於，防禦素平時在植物體內含量低微難以測量，但可以經由外界的刺激而誘導其含量增加，而抗毒素只能維持相同水平而無法誘導。在生理活性方面，植物防禦素若由多酚類物質所構成，則可能具有清除自由基或抗腫瘤功效(鄭和古，2007)。

#### 五、栽培環境影響白藜蘆醇含量之研究

利用逆境來影響植物體內的二次代謝物含量是可行的，包括白藜蘆醇在內的許多二次代謝物，都可以利用這類的方式在栽培時給予逆境，以增加目標代謝物的產量。

##### (1)水分

種植於法國同一地區的葡萄(*Palomino fino*)，連續兩年進行在乾旱和正常降雨年份所產果實的白藜蘆醇含量分析。乾旱年份果實的白藜蘆醇含量平均為 65.5 nmol/berry，是正常降雨年份的兩倍並且有較多的有機酸含量(ROLDAÄN et al., 2003)。

## (2)溫度

Chung 等人於 2006 年以地黃(*Rehmannia glutinosa*)栽培於 15°C 時，較 35°C 者有較高的白藜蘆醇含量，但增加的量並未達顯著水準，推測和地黃具有的耐寒性有關。其他酚類物質和水楊酸成分，也和白藜蘆醇的提升狀況一致。

## (3)真菌感染

Langcake 於 1981 年利用不同抗病力的兩個葡萄栽培種(*Vitis vinifera* 和 *Vitis riparia*)，接種露菌病(*Plasmopara viticola*)於葉片，經過病斑檢測能發現抗病力較強的 *Vitis riparia* 有較高的白藜蘆醇含量。隨著葉片接種病原後的天數增加，白藜蘆醇含量也跟著增加，並且 *Vitis riparia* 能在接種後於較短的時間內就能有較多的白藜蘆醇含量提升。

## (4)紫外線

利用 2.15、4.30 和 6.45 千焦耳的紫外線處理藍莓(*Vaccinium corymbosum* L.)，隨著紫外線強度的提高，藍莓內含的白藜蘆醇濃度也隨著提高。但在 6.45 千焦耳下處理的藍莓卻因為傷害過強反而使白藜蘆醇量降低 (Wang et al., 2009)。

將花生幼苗(*Arachis hypogaea* L.)以 254nm 之紫外光照射處理，白藜蘆醇含量於照射後 12 小時達到最大量，而後隨著時間漸減。二苯乙烯調控基因也在 12 小時有最大活性，並且隨時間經過而降低活性。經紫外光照射後的花生苗會因為傷害而產生銹斑，浸泡過白藜蘆醇溶液後可以減少 10% 銹斑發生面積，而浸泡白藜蘆醇抑制劑 MDCA 的組別則會增加銹斑的面積(Tang et al., 2009)。

以上研究顯示，栽培時利用不良的環境因子進行處理，如高溫、低溫、淹水、乾旱、接種真菌、紫外線照射等方式，皆可以提升植物防禦素在植物體內的含量。

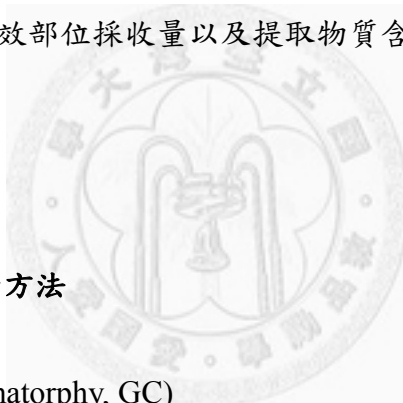
以往白藜蘆醇相關的研究，大多是在葡萄與真菌感染(灰霉菌)方面，利用其他栽培條件來提升作物的白藜蘆醇含量則較少見。

雖然逆境處理可以提升二次代謝物的含量，但同時會造成光合作用的阻礙，形成植物營養生長不良，乾物重減少的狀況，減少植物可採收利用的部位。

利用貫葉連翹 (*Hypericum brasiliense*)於低氧和乾旱逆境下栽種，發現低氧和乾旱比起控制組可以有效提高樺木酸 (betulinic acid) 和多酚類物質含量，其中乾旱組有比低氧組有更顯著的多酚類物質含量提升，但試驗組的採收部位生長量都低於控制組(Abreu and Mazzafera, 2005)。

另外 Chung 等人於 2003 年以花生作為材料，觀察產生白藜蘆醇的基因 (RS mRNA) 在植物的不同部位以及受到 salicylic acid (SA)、UV 射照、 $H_2O_2$ 、jasmonic acid 和 ethephon 等逆境處理 24 小時的表現。結果發現花生葉片的 RS mRNA 表現量很低，反而根部的表現量較多，推測可能是根部為了因應土壤中較多的微生物所致。也顯示植物不同部位的白藜蘆醇含量和受到逆境影響時的含量變化是有差異的。

因此，兼顧作物的有效部位採收量以及提取物質含量多寡，是使用逆境栽培方式所要考慮的。



## 六、常見白藜蘆醇的分析方法

### (一) 氣相層析儀 (gas chromatography, GC)

氣象層析儀是以高溫使樣品氣化，利用與分析物不作用的各種氣體作為移動相、靜相來分離待測物。也常見連接於質譜儀 (mass spectrometry, MS)，利用其原子的碰撞，藉此偵測樣品濃度和鑑別內含物質，同時做到分析物的定性和定量。Goldberg 等人 (1995) 即以 GCMS 分析紅酒中的順式和反式白藜蘆醇。

GC 在使用上分為固相微萃取 (SPME) 和自動進樣兩種使用方法。固相微萃取是利用纖維做為媒介，吸附存放於頂空瓶中樣品所揮發出的氣體，再進一步上機偵測。此法的優點是不需要製作樣品以及樣品的前處理，沒有萃取率和使用濃度比的問題。缺點是只能以揮發性氣體作為吸附對象，無法用於高沸點的物質。

自動進樣則先以適當方法處理樣品，並以溶劑 (solvent) 進行待測物的溶出，

才能進行偵測，樣品前處理比固相微萃取複雜許多，並有濃度掌控不易的風險。

利用 GC 可以使用極少量的樣品就可進行分析，固相微萃取則只需要吸附微量氣體成份即可，甚至不需要製作分析樣品或衍生物。缺點是二次代謝物的分析結果再現性較差，以及設備耗材較為昂貴。

使用 GC 分析白藜蘆醇這類 stillbenes 化合物，因為其沸點超過 300°C，以至於無法順利氣化分析時，必須利用 MSTFA、BSTFA 等衍生劑，使 stillbenes 化合物氫氧基甲基化、醛化而改變化學結構，藉此降低沸點，方便實驗進行 (Rimando et al., 2004)。

## (二) 高效能液相層析(high performance liquid chromatography, HPLC)

高效能液相層析廣泛在食品、生化、醫藥、農業等方面，利用選擇不同極性的移動相、分離管柱、固定相來分離各種常溫下不易揮發的物質，管柱可依照分離物質的性質順序不同分為正向和逆向兩種，HPLC 亦可配合使用螢光測定儀、紫外光測定儀、質譜儀來進行檢測，此技術發展至今已相當成熟。

此方法分析結果再現性高，唯移動相廢液需要額外處理避免造成環境污染，且分離物質會沾附溶劑需另外純化。使用 HPLC 分析白藜蘆醇大多使用 C18 管柱，移動相選擇多以甲醇、乙腈等極性溶液以不同比例配合水相液移動來分離 (Rudolf et al., 2005)。

### 第三章 虎杖高白藜蘆醇含量選系之繁殖

#### 摘要

虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)繁殖時可採用種子播種、扦插、或以地下莖為材料進行分株，近期也有以組織培養方式繁殖的研究。唯目前在大量栽培時，仍以種子或扦插為主要方式。本研究以明道大學梅峰地區選育高量白藜蘆醇之虎杖無性繁殖 051111 選系作為材料。試驗使用一年生枝條進行扦插，以扦插材料(含頂芽部位)、套袋與否、NAA 粉劑的用與否作為變因，觀察對於扦插苗的存活與生長之影響，依變因分設計 2x2x2 複因子試驗，每處理 15 株。結果顯示使用套袋、以不包含頂芽的節間插穗並使用 500 mg/L NAA 粉劑，在本試驗中有 100 % 的成苗率；每株平均發根數 3.5 根、平均根長為 0.35 公分，各項評估指標中僅平均根長之影響未達顯著差異水準。綜合言之，套袋處理是虎杖扦插時的重要操作，應該是因為能保持較高的濕度，而有較佳的扦插苗成活率。

#### 前言

虎杖繁殖方式甚多，通常在早春或生長旺盛的季節以扦插法或分株法繁殖進行。扦插材料選用生長勢強的新生枝條為材料，分株時將長有新芽的地下莖分段，留2~3片葉後定植於畦中。種子繁殖以春播為佳，高溫季節播種需遮陰並定時灑水降溫，低溫季節則須塑膠膜覆蓋保溫保濕，以利出苗。在人工繁殖虎杖上，由於種子繁殖有發芽率低、發芽整齊度不足的缺點，因此分株和扦插繁殖是最主要的方法(王等，2007)。

虎杖利用種子繁殖雖然快速、便利，但發芽率和整齊度皆過低，且種子不易儲藏，生產上不能使用隔年種子(孫，2005)。分株繁殖雖成功率高但較浪費材料，且需要較大的栽培面積。扦插繁殖則需保持較高的溼度，並且易因扦插苗的材料

狀況不同而影響後續的生長。藉由試驗可先確定較可行或經濟的繁殖方法，以保證產品品質的一致性。由於試驗初期取得之試驗材料甚少，故選用扦插為主要繁殖方式。

插穗本身的內生條件取決於母本，對後續扦插苗品質有所影響。扦插時插穗的節位會影響發根率（陳惠菁，1999），依不同植物而有所不同，有些以頂芽最好，有些以基部為佳。而插穗成熟度也會影響發根，可能原因與生長素濃度（Vazquez and Gesto,1982），或著植株內含的營養成分有關（Hartmann et al., 1990）。本試驗以不同節位取包含頂芽和不包含頂芽之莖段為插穗，組合是否施用NAA與套袋操作進行試驗。試驗所生產之扦插苗則供後續試驗之用。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究之虎杖植株源自梅峰地區，經明道大學篩選出之高白藜蘆醇含量組培繁殖 051111 選系；具有高含量二次代謝物，在梅峰種植的一年生植株，其白藜蘆醇含量可達 3.37 mg/g DW，除白藜蘆醇外尚有白藜蘆醇苷、大黃素等多種具生物活性成份（黃，2007）。

### 二、試驗方法

所有插穗皆扦插於 5 吋盆中，以根基旺 3 號為扦插介質。插穗為包含二節的莖段長約 10 cm，分為包含頂芽和不包含兩種。配合套袋與否及是否施用 500 mg/L NAA 發根粉劑作為處理變因。扦插 1 個月後，調查成活率，並且記錄當時之抽芽數、每株平均發根數、每根根長的表現。

#### (一)插穗材料

分為包含頂芽及不包含頂芽兩種，插穗長皆為 10~12 cm，不含頂芽之節間插穗具 2 個節，頂芽插穗則包含頂端生長點。

## (二)套袋處理

本研究參考 Hessayon(1997)書中的盆插法以夾鏈袋進行套袋，扦插時分為套袋與不套袋兩種處理，套袋者將插穗連盆套入十號夾鏈袋中並置於水盤上，無套袋者則直接置於水盤。

## (三)發根劑使用

扦插時分為插穗基部施用 500 mg/L NAA 粉劑或不施用兩種處理，分別扦插於介質中。

## (四)數據處理

試驗設計以 2x2x2 複因子試驗進行，依照試驗變因分為 8 組，1 個插穗為 1 重複，每組 15 重複。數據以 Costat 6 進行統計分析，計算最小顯著差異(least significant difference test, LSD)分析各處理的差異顯著性。



## 結果

### (一)插穗材料

試驗結果顯示，扦插材料影響存活數、抽芽數和總根長皆達極顯著水準，平均根數亦達顯著水準，但平均根長未達則差異不顯著(表 1)。使用包含頂芽的材料其存活數為 9.37 較不包含頂芽之 11 株少，後續抽芽者以不包含頂芽 8.1 個株較含頂芽的 1.25 株要多。發根方面，每株平均根數和總根長也有相同趨勢，以不包含頂芽的每株 1.38 根和 0.81 公分為佳，但對平均根長未有顯著影響。

### (二)套袋處理

套袋處理可有效增加扦插環境的相對濕度，影響存活數、後續抽芽數、平均根數和總根長皆極顯著，唯對平均根長未達顯著影響。有套袋者存活數 12.12，比不套袋之 8.25 株多。後續有抽芽者也以有套袋的 5.5 個比不套袋的 3.87 個要多。平均根數和總根長則有相同趨勢，以有套袋者的每株 1.68 根和 1.11 公分為



佳。但對平均根長未有顯著影響。

### (三)發根劑使用

施用 NAA 影響存活數、抽芽數、總根長皆極顯著，但對平均根數和平均根長未有顯著影響。插穗基部施用 500 mg/L NAA 粉劑存活數 11.5 株比不套袋的 8.87 株多。後續有抽芽者也以有套袋的 6.25 個較不套袋者的 3.12 個多。平均根數和總根長趨勢相同，以施用者的 1.14 根和 0.89 公分為佳，但對平均根長未有顯著影響。

### (四)交感效應分析

套袋與扦插材料間的交感作用在存活數、抽芽數、平均根數和總根長影響極為顯著，唯在平均根長中無交感關係。套袋與施用 NAA 間在總根長有顯著交感關係。扦插材料與施用 NAA 間的交感關係在存活數、抽芽數和總根長中極為顯著，但在平均根數和平均根長中無交感關係。三因子間的交感在抽芽數和總根長中極顯著，但對平均根數和平均根長中無交感關係。

## 討論

2010 年採自梅峰地區之野生虎杖種子其發芽率約為 60%，發芽整齊度差。綜合各處理視為單一因子時(表 2)，最佳的扦插方式是以不含頂芽之插穗施用 500 mg/L NAA 粉劑並套袋。後續側芽萌發率 86.6%、平均每株發根數為 3.5，平均根長 0.35 公分，皆優於其他處理組合。

扦插時插穗接觸的空氣保持高濕度，可以減緩失水的現象。水份逆境時插穗會有葉片水勢下降，氣孔關閉及發根不良的現象(Loach,1997)。本試驗套袋者明顯優於未套袋者，其存活率和發根情形皆是。

以山茶花枝條分為頂、中、基段的插穗進行扦插，結果以中段最佳，推論是中段含有比頂端豐富的養分所致(陳等，1993)。本研究不包含頂芽的插穗相當於

陳等 (1993) 之中段及基段插穗，相同呈現出類似的結果，顯示插穗所取枝條的部位確實會影響成活率 (表 1 和 2)。

扦插繁殖時，常使用 NAA 或 IBA 作為發根劑，但 NAA 和 IBA 混合使用之效果，常比 NAA 或 IBA 單獨使用效果好(朱，1995)。農業上常使用 IBA 或 NAA 促進發根，經 IBA 處理者根較長且多但比較細，處理 NAA 者則根短且少但較粗。梨子插穗施用生長素者比未施用者有較好的發根情形(Hartmann et al., 1990)。本試驗結果亦是施用生長素較佳。

虎杖生命力強韌，扦插繁殖容易，其莖部呈中空須注意插床濕度，在以扦插法來繁殖虎杖時須保持較高的濕度有助提升成活率。本研究所需之扦插苗皆以此研究結果進行繁殖供後續試驗使用。

綜合上述，本論文試驗所需之試驗材料皆以此研究成果所得之最佳方式，即使用套袋、以不包含頂芽的節間插穗並施用 500 mg/L NAA 粉劑繁殖 051111 選系作為營養系。

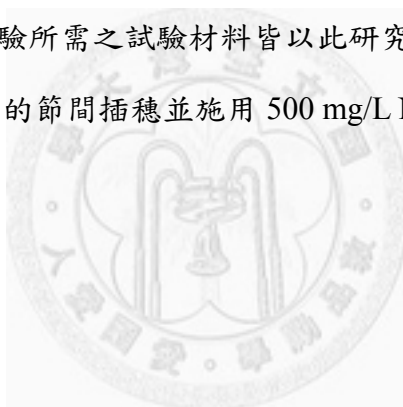


表 1. 插穗含頂芽與否、套袋及施用 NAA 對虎杖扦插苗成活率與生長的影響

Table 1. Effect of cutting shoots with or without apical bud, bagging and application of NAA on cutting survival rate and growth in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	survival rate (%)	laterd shooting per cutting	average root per cutting	average root lengh (cm)	total root lemgh (cm)
<b>bagging</b>					
Yes	80.80 a <sup>z</sup>	5.50 a	1.68 a	0.24 a	1.11 a
No	55.00 b	3.87 b	0.13 b	0.05 a	0.02 b
<b>cutting shoots(cs)</b>					
with apical bud	62.47 b	1.25 b	0.43 b	0.13 a	0.32 b
without apical buc	73.33 a	8.12 a	1.38 a	0.16 a	0.81 a
<b>NAA(500 mg/L)</b>					
Yes	76.67 a	6.25 a	1.14 a	0.18 a	0.89 a
No	59.13 b	3.12 b	0.66 b	0.12 a	0.24 b
<b>P value</b>					
bagging	0.0000 *** <sup>y</sup>	0.0012 **	0.0010 **	0.1834 ns	0.0000 ***
cutting materials	0.0001 ***	0.0000 ***	0.0150 *	0.7878 ns	0.0000 ***
NAA(500 mg/L)	0.0000 ***	0.0000 ***	0.1552 ns	0.6581 ns	0.0000 ***
<b>interaction</b>					
bag x cs	0.0002 ***	0.0093 **	0.0163 *	0.9850 ns	0.0000 ***
bag x NAA	0.1215 ns	0.2897 ns	0.1682 ns	0.5973 ns	0.0000 ***
cs x NAA	0.0000 ***	0.0002 ***	0.1682 ns	0.7688 ns	0.0000 ***
bag x cs x NAA	0.0203 *	0.0032 **	0.2131 ns	0.8558 ns	0.0000 ***

<sup>z</sup>:Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

<sup>y</sup>:NS, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01 or 0.001, respectively.

表 2. 虎杖扦插試驗之單因子分析

Table.2 Single factor analysis of cutting test in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

bagging	cutting with bud	NAA(mg/l)	survive (%)	laterd shooting per cutting	average root per cutting	average root length (cm)	total root lemgh (cm)
yes	yes	500	83.3 ab <sup>Z</sup>	1.5 de	0.7 bc	0.25 a	0.393 b
	yes	0	76.6 ab	1.5 de	0.7 bc	0.19 a	0.266 c
	no	500	100 a	13 a	3.5 a	0.35 a	1.436 a
	no	0	73.3 bc	6 c	1.7 b	0.16 a	0.224 c
no	yes	500	53.3 d	2 d	0.1 c	0.02 a	0.004 d
	yes	0	53.3 d	0 e	0.1 c	0.04 a	0.012 d
	no	500	86.6 ab	8.5 b	0.1 c	0.07 a	0.024 d
	no	0	56.6 cd	5 c	0.1 c	0.07 a	0.014 d

<sup>Z</sup>:Mean separation within columns treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .

## 第四章 虎杖白藜蘆醇之萃取

### 摘要

中草藥在使用之前多有炮製和萃取的過程，過程中應盡量純化避免雜質干擾，但過程太繁複也容易降低材料內目標物的含量造成損失，因此應盡可能減少此過程所造成的變因以及選用適當的炮製和萃取方式來提升萃取效率。

本試驗使用虎杖(*Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.*)為明道大學選育 051111 選系之地下部為材料，利用正交表 L16 (4<sup>5</sup>) 設計試驗，探討萃取時的乙醇濃度、材料使用量(料液比)、萃取時間、萃取溫度對於反式白藜蘆醇 *trans-resveratrol* 萃取測定的影響。試驗結果顯示，樣品輔以超音波處理下以 80% 乙醇進行萃取，時間為 80 分鐘，料液比 1:10，萃取溫度設定為 60 °C 可萃取最多白藜蘆醇，所有變因中唯有料液比對於萃取白藜蘆醇有顯著的影響。甲醇和丙酮具有毒性，不適合做為食品用的白藜蘆醇萃取溶劑。

### 前言

白藜蘆醇(resveratrol)是一種多酚類(polyphenols)成分，在葡萄、花生、蓼科和松樹等植物中都含有大量的白藜蘆醇(Signorelli and Ghidoni, 2005)，具有抗腫瘤、抗炎、抗菌、抗氧化、抗自由基、保護肝臟、保護心血管和抗心肌缺血等功能，極具應用價值(華，2009)。

虎杖為傳統中醫常用藥材，常用於治療癌症，心血管疾病，其萃取液更有良好抗菌功效，白藜蘆醇含量更高過上述其他。虎杖不論中醫上使用或作為提取原料都須經過炮製或萃取的步驟。中藥炮製主要目的有以下幾點：一、讓中藥能達

到一定程度的淨度和純度標準，如洗去泥沙、粗皮、附著物等雜質。二、消除或較降低中藥的毒性或副作用，如千金子、巴豆含有使人腹瀉的油脂成份，炮製去除部份脂肪油而成千金子霜、巴豆霜入藥。三、改變和增強中藥飲片固有的性能以提高醫療效果，如地黃生品性味為甘，寒，具滋陰涼血的作用，炮製成熟地黃後性味轉為甘，微溫，具滋陰補血的作用。四、適應中藥製劑的配製和中藥的儲藏（王等，2000）。

正交試驗設計(orthogonal design)是用來設計多變因試驗的一種方法，利用規格化的正交表安排試驗，所得試驗結果再以統計方法處理得出科學結論(鄭等，2009)。此法常用於醫藥、紡織、化工、電子、機械等行業，與常規方法相比可以大幅減少試驗次數和繁複的分析，避免遺漏變因間的相互影響並減少時間花費和材料浪費。

正交設計有三項特點，首先由正交表挑選出的實驗點具均勻分散性，在實驗中是具代表性意義。其次，各實驗點皆具有整齊可比性；第三，有些效果好但未必於實驗點中出現的組合可藉由統計分析將其發現。

本試驗利用正交表設計，以萃取時的乙醇濃度、材料使用量(料液比)、萃取時間、萃取溫度作為試驗變因，並分為 4 個級別，再以 SPSS(statistical product and service solution)進行方差分析，希望找出最佳的白藜蘆醇萃取條件，供後續試驗之進行。

## 材料與方法

### 一、試藥與試劑

#### 1. 標準品：

白藜蘆醇標準品 *trans-resveratrol*：購自 Sigma Pcode:1001309854

#### 2. 有機溶劑：

乙腈 acetonitrile：HPLC 級，Merck

甲醇 methanol：HPLC 級，Merck

乙醇 ethanol：食品級，友和貿易

醋酸 CH<sub>3</sub>COOH：HPLC 級，Merck

## 二、儀器設備

### 1. 高效能液相層析系統 Jasco HPLC

Pump：Jasco PU-2089

Auto-sampler：Jasco AS-2057

Column：Water Symmetry C18，4.6X250 mm，5μm

Detector：Jasco UV-2075

Intercafe box：LC-Net II/ADC

Recorder：Jasco chrompass chromatography Data system version 1.7.403.1

2. 磨粉機：榮聰精密科技股份有限公司 RT-08

3. 超音波震盪機：DELTA ultra sonic cleaner DC400H

4. 震盪機：Thermonies TM-100

5. 烘箱：Mettler

6. 電子天平：Precisa XB4200C

## 三、樣品處理與取樣方法

虎杖取自栽培於台大園藝系精密溫室的一年生 051111 選系。取樣後地下部以清水洗去介質後，置於 50 °C 烘箱中經乾燥至乾重不再有變化為止。將乾燥樣本切成小塊或薄片，以磨粉機磨成粉狀，置入夾鏈袋並記錄後於室溫的乾燥皿中儲藏備用。

## 四、*trans-resveratrol* 的萃取方法設計與分析

### (一)正交試驗表設計與樣品製備

利用 L16 (4<sup>5</sup>) 的正交試驗表設計 4 個有 4 個級別的試驗變因。乙醇濃度設為 60、70、80、90 %，料液比設為每 1 g 樣品分別加入 10、15、20、25 ml 的乙醇、萃取時間設為 20、40、60、80 分鐘、萃取溫度 40、50、60、70 °C，所有樣品於 DELTA ultra sonic cleaner 中輔予超音波處理，正交表中預留空白列進行統計分析。各樣品依設計處理後以 Advantec No.2 濾紙過濾後定量至 10 ml，經 0.2 μm 薄層過濾器(直徑 13 mm，外膜材質為 PE，內膜為 PTFE，Millipore 公司出品)過濾後，即為 HPLC 上機樣品。

### (二)HPLC 分析條件

分析方式以 Rudolf 等(2005)的報告並加以修改。

Injection volume : 4μl

Mobile phase :

Solvent A : 100 % acetonitrile

Solvent B : 0.1% acetic acid

Gradient :

0-13min : 移動相 A 維持 30%比例，移動相 B 維持 70%

Flow rate : 1 ml/min

Detector : 305 nm

### (三) *trans-resveratrol* 標準品與檢量線製備

將 *trans-resveratrol* 標準品溶於甲醇中，配置成 2000 mg/L 母液(stock solution)，分別稀釋成 50、75、100、125、150 mg/L，測得標準曲線後做為地下部樣品的檢量線，供計算濃度使用。

## 五、統計分析



試驗數據以 SPSS 統計軟體進行方差分析，顯著水準  $p \leq 0.05$ ，經最小顯著差異法(least significant difference test, LSD)分析比較差異。極差分析以 EXCEL 計算各變因的極差值做比較。

## 結果

### (一)以正交表測定最佳萃取條件

由(表 3)顯示此試驗相關係數( $r^2$ )為 0.983，乙醇濃度的顯著性為 0.324、萃取時間的為 0.137、萃取溫度為 0.024、料液比為 0.005，除液料比對萃取所得白藜蘆醇量影響極為顯著外，其他變因皆無顯著影響。依照極差分析結果(表 4)，液料比的極差值為 530.92、萃取時間為 148.87、萃取溫度為 125.02、乙醇濃度為 107.33、空白列為 83.48。又依照(表 5)各變因級別分析，最適宜的萃取方式是使用 80%乙醇為萃取溶液與原料比例 1:10，溫度設定於 60 °C 輔以超音波處理萃取 80 分鐘。

### (二) *trans-resveratrol* 分析與測定

標準品溶液以 HPLC 進行分析結果於(圖 1)，在 7.2 分鐘時出現 *trans-resveratrol* 的成份峰，虎杖萃取樣品也於同樣時間出現(圖 2)。經以 LCMS 分析檢測同樣的標準品溶液結果如(圖 3)，確認為 *trans-resveratrol*，可做為往後試驗定性與定量依據。

## 討論

近年來白藜蘆醇的提取方法包含有機溶劑浸提法、超聲波或微波輔助提取法、酶解法、超臨界萃取等，其中溶劑浸提法是國內外最廣泛應用的提取方法。(華，2009)。

前人指出，丙酮提取白藜蘆醇提取率最高；但丙酮具有毒性及揮發性大，回收困難。乙醇無毒，供應充足，且價格低廉，一般選擇安全、無毒、易回收的乙醇作為提取溶劑較適宜(李和劉，2009)。

除溶液和方法的選擇外，萃取過程的溫度、時間也會影響白藜蘆醇的萃取量。Romero-Perez 等(2001)使用 80%乙醇為溶液萃取葡萄中的 stilbenes 物質時，80°C 下萃取 30 分鐘可得最高量的 *trans-resveratrol*，溫度降至 25°C，萃取 120 分鐘所得含量卻只有一半。

謝等人(2007)比較了四種不同的提取虎杖中白藜蘆醇的方法，認為超聲波萃取收率最高。本研究輔以超音波處理樣品，利用超音波對物質造成的震動作用和空化作用，使溶劑能與樣品充分接觸，有助提升萃取效率。

本試驗使用正交表安排各項變因，並將其中一項變因作為空白列納入統計分析以減少試驗需要的重複數。透過 SPSS 分析，結果顯示虎杖中的白藜蘆醇應以 80%乙醇為萃取溶液，與原料比例 1:10，於 60 °C 下輔以超音波處理萃取 80 分鐘，可得最多白藜蘆醇萃取量(表 5)。而通過比較極差的大小可確定因素的主次，若所有因素的極差都比空白列要小，則表示各因素間可能有不可忽略的交互作用，或是忽略了對試驗結果有重要影響的其他因素(鄭等，2009)。本研究結果所有變因的極差值皆大於空白列，因此各變因間並無明顯的交互作用，並可依照極差值大小確定各變因影響程度依序為液料比、萃取時間、萃取溫度、乙醇濃度，此結果與方差分析結果相同(表 4 和 5)。

除此之外，Martinez-Ortega(2000)利用提高酒槽壓力的方式來增加紅酒中的白藜蘆醇。而由亞麻子中萃取二異落葉松脂素(*seisolariciresinol*)時添加纖維素酶(*cellulases*)可以使提取量增至 70~80%，提取量會隨提取時間、pH 值、提取溫度、混合酶的種類不同而增減(Renouard et al.,2010)。

Botella 等人(2005)進一步比較了纖維素酶、木質酶(*xylanases*)和果膠酶(*pectinases*)在分解葡萄殘渣時於不同時間的活性和分解能力，發現酶解產生的

醣類多寡與酶活性高峰時間相同。於白藜蘆醇苷標準品溶液中添加纖維素酶，3 小時後可於薄層層析圖中發現游離態的白藜蘆醇 (董等，2008)。

本研究礙於器材無法將壓力和纖維素酶等各種酵素納入試驗，後人可將此作為萃取白藜蘆醇的變因來探討，進一步改善萃取條件。



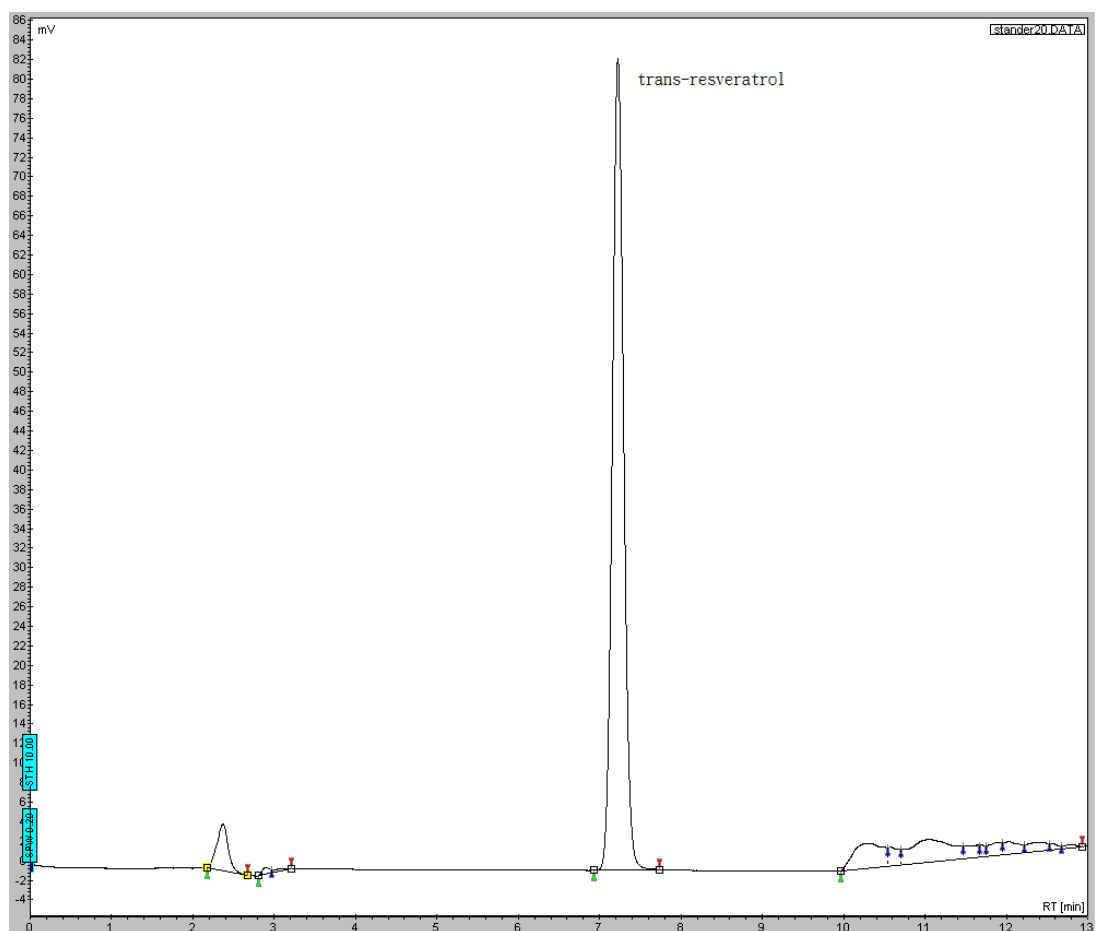


圖 1. 白藜蘆醇標準品 HPLC 層析圖(紫外線偵測器 305nm)，滯留時間為 7.2 分鐘。

Fig. 1. HPLC chromatogram of *trans*-resveratrol standard detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min). *Trans*-resveratrol retention time of 7.2 min.

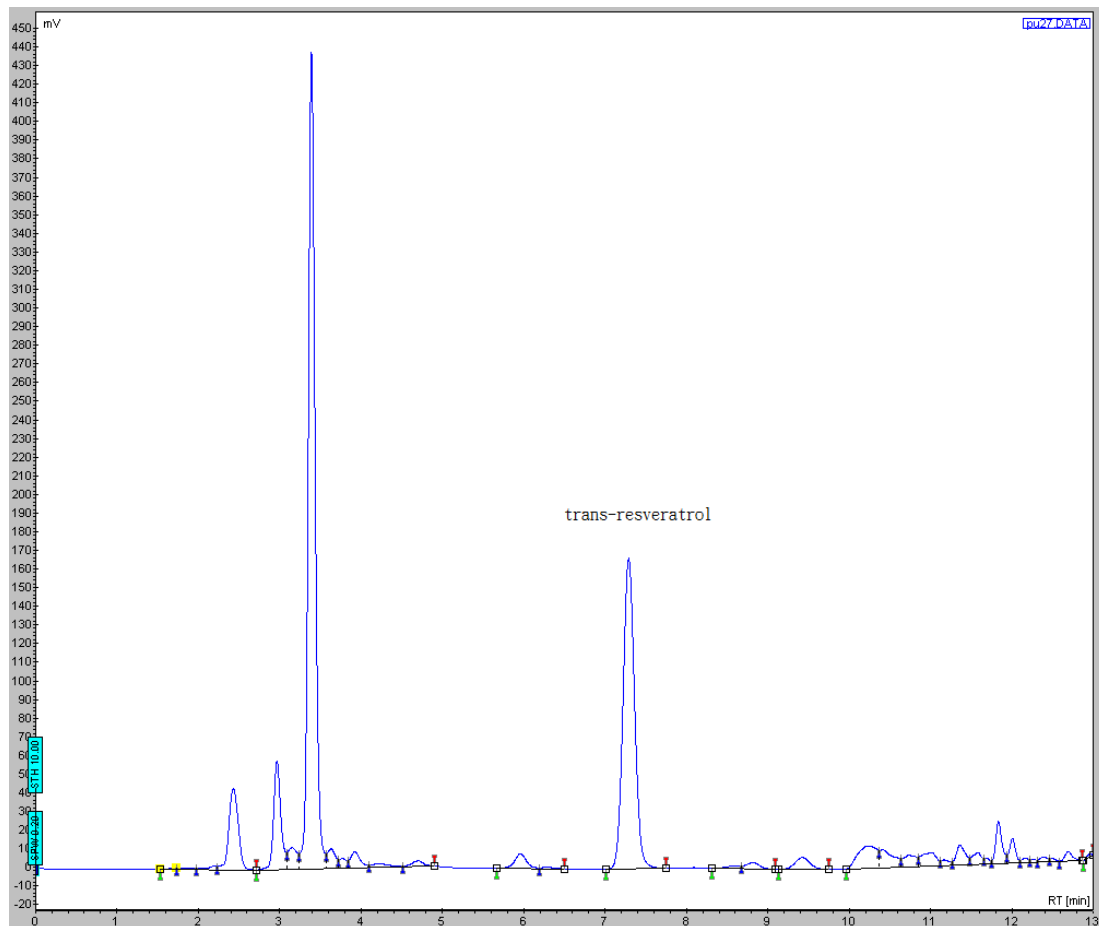


圖 2. 虎杖地下部萃取液 HPLC 層析圖(紫外線偵測器 305nm) , *trans-resveratrol* 滯留時間為 7.2 分鐘。

Fig. 2. HPLC chromatogram of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. root extract detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min).*Trans-resveratrol* retention time of 7.2 min.

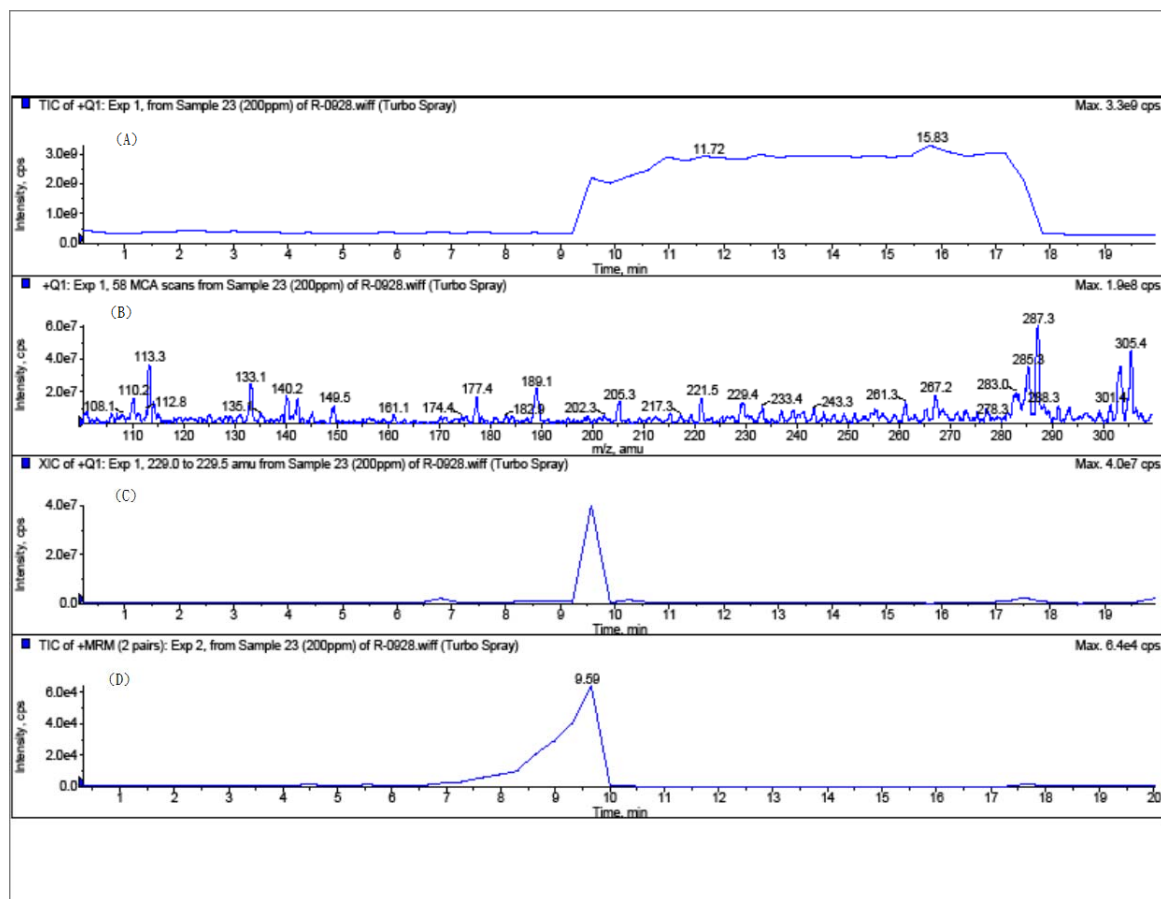


圖 3. 白藜蘆醇標準品 LCMS 層析圖(紫外線偵測器 305nm)，*trans*-resveratrol 滯留時間為 9.59 分鐘。

Fig. 3. (A)TIC of Liquid Chromatograph Mass Spectrometer from *trans*-resveratrol standard detected at 305 nm, acetonitrile and 0.01% acetic acid as mobile phase set at 1 ml/min gradient.( acetonitrile=30 %/min, acetic acid=70 %/min).(B)Mass ion spectrum of *trans*-resveratrol eluting at retention time of 9.59 min.(C) Demonstrating characteristic ion cluster of mass 229 (D)TIC of MRM with qualifier ions of mass 211 and 135.

表 3. 乙醇濃度、萃取時間、萃取溫度和料液比對虎杖中白藜蘆醇萃取的方差分析表

Table 3. Tests of between-subjects effect of ethanol concentration、extract time、extract temperature and mixture ratio on extraction of *trans-resveratrol* from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

Dependent Variable: resveratrol content

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	856166.015 <sup>a</sup>	12.000	71347.168	14.222	0.025
Intercept	9877443.266	1.000	9877443.266	1968.983	0.000
ethanol concentration	26742.292	3.000	8914.097	1.777	0.324
extract time	62243.987	3.000	20747.996	4.136	0.137
extract temperature	43330.225	3.000	14443.308	2.879	0.204
mixture ratio	723849.510	3.000	241283.170	48.098	0.005
Error	15049.558	3.000	5016.519		
Total	10750000.000	16.000			
Corrected Total	871215.573	15.000			

<sup>a</sup>R squared = 0.983(Adjusted R Squared = 0.914)

表 4. L16 (4<sup>5</sup>) 正交試驗表設計萃取虎杖的白藜蘆醇

Table 4. L16 (4<sup>5</sup>) orthogonal design on extract *trans*-resveratrol from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

NO.	ethanol concentration	extract time	extract temperature	mixture ratio	blank	resveratrol content (µg/mg DW)
1	1	1	1	1	1	1040.685
2	1	2	2	2	2	655.755
3	1	3	3	3	3	589.955
4	1	4	4	4	4	604.76
5	2	1	2	3	4	538.96
6	2	2	1	4	3	668.915
7	2	3	4	1	2	988.045
8	2	4	3	2	1	915.665
9	3	1	3	4	2	604.76
10	3	2	4	3	1	687.01
11	3	3	1	2	4	823.545
12	3	4	2	1	3	1205.185
13	4	1	4	2	3	655.755
14	4	2	3	1	4	1325.27
15	4	3	2	4	1	557.055
16	4	4	1	3	2	710.04
K1	722.78875	710.04	810.79625	1139.7963	800.1038	
K2	777.89625	834.2375	739.23875	762.68	739.65	
K3	830.125	739.65	858.9125	631.49125	779.9525	
K4	812.03	858.9125	733.8925	608.8725	823.1338	
MAX-MIN						
	107.33625	148.8725	125.02	530.92375	83.48375	
	4	2	3	1	5	

ethanol concentration (%) :

1:60, 2:70, 3:80, 4:90

extract time (min) :

1:20, 2:40, 3:60, 4:80

extract temperature (°C) :

1:40, 2:50, 3:60, 4:70

mixture ratio (w/v) :

1:1/10, 2:1/15, 3:1/20, 4:1/25



表 5. 乙醇濃度、萃取時間、萃取溫度和料液比對萃取虎杖中的白藜蘆醇單因子量表

Table 5. Estimated marginal means of ethanol concentration、extract time、extract temperature and ratio on extraction of *trans*-resveratrol from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

<b>Estimates</b>				
Dependent Variable:Resveratrol				
Ethanol	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	722.789	35.414	610.087	835.491
2	777.896	35.414	665.194	890.598
3	830.125	35.414	717.423	942.827
4	812.030	35.414	699.328	924.732
Time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	710.040	35.414	597.338	822.742
2	834.238	35.414	721.535	946.940
3	739.650	35.414	626.948	852.352
4	858.913	35.414	746.210	971.615
Temperature	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	810.796	35.414	698.094	923.498
2	739.239	35.414	626.537	851.941
3	858.913	35.414	746.210	971.615
4	733.893	35.414	621.190	846.595
Ratio	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	1139.796	35.414	1027.094	1252.498
2	762.680	35.414	649.978	875.382
3	631.491	35.414	518.789	744.193
4	608.873	35.414	496.170	721.575

## 第五章 虎杖不同季節的生長量變化與形態調查

### 摘要

虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)為蓼科多年生灌木狀草本，屬於高冷地植物，台灣野生虎杖大多分布於海拔 1800 公尺以上，花期為 9 到 10 月份，10 月之後進入休眠期而使地上部死亡，在隔年 3 月重新發芽成長成新植株。主要採收部位為地下莖，但葉片也具有藥用價值。本試驗將虎杖植株栽培於埔里、台北、春陽及梅峰之露地，逐月記錄一年生虎杖於各區的生長量指標，可做為台灣虎杖生長情形的參考。

結果顯示，於 2010 和 2011 年比較下，栽培於埔里的植株落葉數過多對生長有不良影響。梅峰地區的植株於 2010 與 2011 年的節間數分別為 34.14 和 23.67 個，葉片數為 19.79 和 20 片，株高為 116.69 和 83.7 公分，為生長量最少的試驗區。八月與九月是虎杖生長旺盛時期，於十月開始進入休眠。

### 前言

虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)為蓼科多年生灌木狀草本，氣溫低時有休眠習性。為傳統中醫使用藥材，主要的藥性成分為白藜蘆醇(resveratrol)、虎杖苷(cuspidatin)等，現代藥理學實驗發現白藜蘆醇對人體有降血脂、對動脈硬化和冠心病具有保護作用，具有對癌症的化學預防作用，現在已添加在許多保健食品中(梁和李,2006)。

人工種植虎杖通常於四月中旬播種或分株繁殖，經兩年栽培後採收作為藥材販售。採集加工時，葉片和莖於春、夏季採收最佳，地下莖與根則在秋季或春季

採收(吳和徐,1999)。

藉由生長量調查可以了解虎杖在埔里、台北、春陽及梅峰的生長情形與休眠時間，日後配合檢測地上部和地下部的白藜蘆醇含量，可提供台灣的虎杖栽培者最具經濟價值的採收時間參考與產量預估。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究之虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)植株源自梅峰地區，經明道大學篩選出之高白藜蘆醇含量組培繁殖 051111 選系。將此品系種植於國立台灣大學精密溫室，待植株成熟後依第二章試驗結果生產扦插苗供後續試驗使用。

### 二、試驗方法

試驗區分為 4 個地點，依照海拔高度排列為台北(5~10m)、埔里(380~700m)、春陽(1200m)、梅峰(1700m)。虎杖植株栽植於 60×40×20 cm 3 塑膠盆中，以根基旺 3 號為介質，分別置於各試驗區之露地。各區栽種虎杖扦插苗 30 株，於 2010 年三月開始栽種，四月為馴化期，於五月開始採樣進行調查，隔年 2011 年重複。可得 2010 年一年生與二年生和 2011 年一年生虎杖於各月份的樣本，固定選取其中五株以進行生長量調查。

各試驗區生長量調查指標以一年生植株的節間數、株高、葉片數，其中葉面黃化或缺口大小超過一半者不計，依節間數和葉片數可推測該區落葉程度。除紀錄生長指標外並觀察生長週期和紀錄休眠月份。

二年生植株調查其側枝於主枝上抽出的節位與順序，基部為第 1 節，依序往上為第 2、第 3 節，直至頂芽。依此做為地上部採收部位的標準，以利後續試驗分析不同部位的白藜蘆醇濃度與產量。

## 結果

2010 年因埔里發生乾旱導致一年生植株地上部受害，損失該區七月以後的數據。九月時氣溫漸低導致植株開始休眠影響採集作業，使各區在九月後的各項誤差值偏高，十月時地上部已經完全枯萎進入休眠期無法收集地上部相關資料。

### (一) 2010 年一年生虎杖各指標結果

結果顯示於(表 6)，台北和春陽兩地間雖未達顯著差異仍為表現最佳的試驗區，節間數分別為 52.4 和 53 個、葉片數為 34.6 和 30.3 片、株高為 155.4 和 170.5 公分，但落葉數與埔里間未達顯著。八月與九月為一年生虎杖植株的生長旺季，節間數分別為 62.6 和 63.8 個、葉片數為 41.5 和 44.4 片、株高為 208.25 和 210.45 公分；除落葉數外各項指標與其他月份皆有顯著差異。一年生虎杖於十月前無明顯休眠，但落葉數仍以十月的 43.33 片最多。雙因子試驗結果顯示，地點對節間數、葉片數和株高的顯著性皆極顯著，唯對落葉數未有影響；月份對各指標的影響皆達顯著；月份和地點間唯落葉數外，於其他指標間皆無交感關係。

### (二) 2011 年一年生虎杖各指標結果

結果顯示於(表 6)，栽植於埔里的植株有最多的節間數 57.4 個，並有最高株高 180.08 公分，但落葉數也是最多的 33.33 片。葉片數以春陽 43.42 片最多。八月與九月為生長旺季，各項指標與其他月份皆有顯著差異，節間數分別為 49.25 和 43.92 個、葉片數為 36 和 31.83 片、株高為 155.19 和 150.92 公分。一年生虎杖於十月前無明顯休眠，但落葉數仍以十月的 52 片最多。雙因子試驗結果顯示，地點和月份對各指標的影響皆極顯著；月份和地點於各指標中並無交感關係。

### (三) 側枝抽出節位與順序

進行二年生虎杖的生長形態調查，並紀錄側枝抽出情形，結果如(圖 4)所示。發現側枝開始抽出時，第一支側枝有 77.7% 會由第 4 節抽出，16.6% 由第 5 節抽出，5.5% 由第 6 節抽出。第二支側枝有 50% 會由第 5 節抽出，28.5% 由第 3 節抽出。

出，7.14%由第4節抽出。第三支側枝有37.5%會由第5、6節抽出，12.5%由第3、7節抽出。

## 討論

2010年因埔里發生乾旱而使數據與2011年不同，由(表6)可得知無論哪一年栽植於埔里的植株節間和株高皆有顯著表現，但葉片數和節間數差距過大表示該區落葉數較多，對生長容易造成不良影響，後續可依採收乾重量證明。綜觀兩年，梅峰為生長量最少的試驗區，可能是與其高冷地環境氣候有關，低溫使植物生長緩慢。

八月與九月為一年生植株生長旺盛時期，葉片數、節間數、株高皆以此時期為最高。2010年十月葉片數降至19.7片和落葉數43.33片，2011年十月落葉數也比其他月份多，可觀察到一年生植株於十月份準備進入休眠。

二年生虎杖地上部形態觀察結果如(圖4)所示，由此可知虎杖的初期側枝萌發都集中於第4、5節抽出，並依序向上或下持續抽出新的側枝，推測與虎杖的成長與成熟度有關。一年生植株地上部側枝則無此生長規則。可以此分支特性做為地上部不同採收部位的判斷基準進行後續試驗，日後分析不同部位的白藜蘆醇含量或許可推測白藜蘆醇與植株成熟度間的關連，並藉此了解地上部各部位的白藜蘆醇含量變化，可供採集地上部加工產品做為參考。

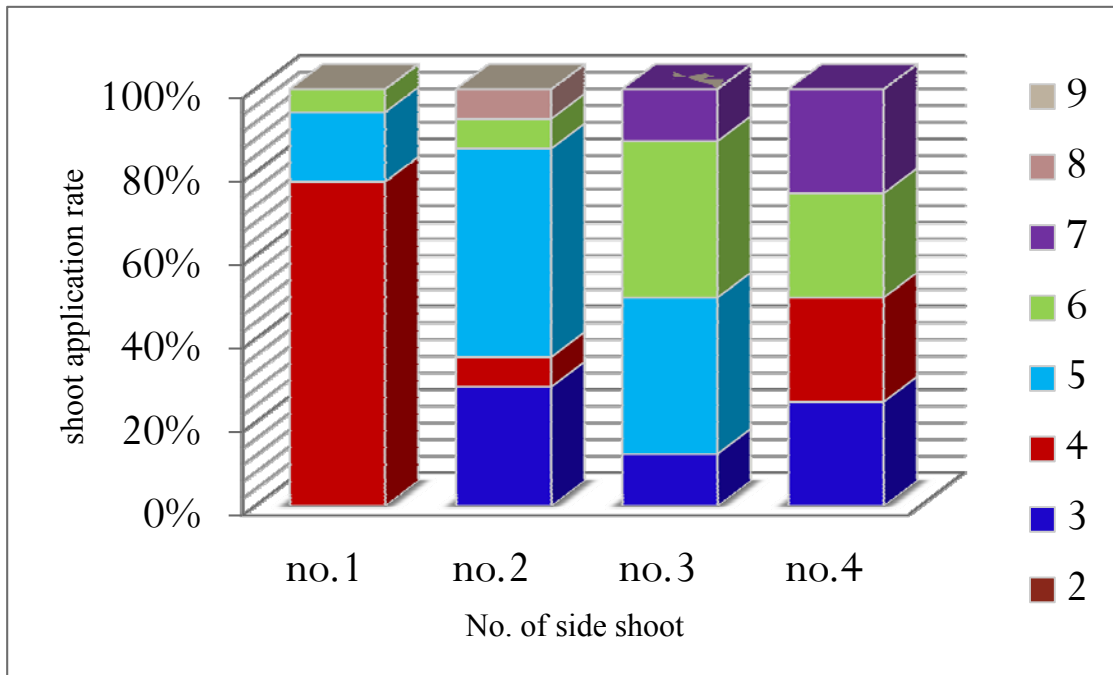


圖 4. 二年生虎杖側枝抽出節位和順序

Fig 4. The side shoot growth node and sequence with main shoot of two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.(no.1: the first side shoot, no.2: the second side shoot...)

表 6. 地點和採收時間對一年生虎杖地上部節間數、葉片數、株高與落葉數的影響

Table 6. Effect of location and harvest time on stem number, leaf number, plant height and loss leaf number of one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	2010				2011			
	stem number	leaf number	height (cm)	loss leaf number	stem number	leaf number	height (cm)	loss leaf number
<b>location</b>								
Puli	44.79 a <sup>z</sup>	25.93 b	156.55 a	20.92 ab	57.40 a	30.08 b	180.08 a	33.33 a
Taipei	52.43 a	34.61 a	155.36 a	18.00 ab	22.50 c	21.67 c	83.90 c	0.83 b
Chunyang	53.00 a	30.31 ab	170.47 a	22.04 a	45.58 b	43.42 a	135.82 b	2.60 b
Meifong	34.14 b	19.79 c	116.69 b	13.90 b	23.67 c	20.00 c	83.70 c	3.67 b
<b>harvest time</b>								
May	24.15 c	16.50 d	79.57 c	7.65 d	— <sup>y</sup>	—	—	—
June	36.30 b	22.50 c	111.59 b	13.80 cd	21.83 c	18.50 c	57.88 c	3.33 c
July	59.89 a	34.00 b	191.82 a	29.41 ab	35.50 b	28.83 b	119.52 b	6.67 c
August	62.60 a	41.50 a	208.25 a	21.10 bc	49.25 a	36.00 a	155.19 a	14.45 b
September	63.80 a	44.40 a	210.45 a	22.78 bc	43.92 a	31.83 ab	150.92 a	13.18 b
October	73.00 a	19.70 cd	234.93 a	43.33 a	52.00 a	—	—	52.00 a
<b>P value</b>								
Main effects								
location	0.00 ***	0.00 ***	0.00 **	0.18 ns	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***
harvest time	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***	0.00 ***
interaction								
location x harvest time	0.29 ns	0.20 ns	0.90 ns	0.04 *	0.09 ns	0.15 ns	0.35 ns	0.09 ns

Z: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

Y: Could not be detected.

NS, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

## 第六章 虎杖不同季節與採收部位的白藜蘆醇含量和鮮乾重變化

### 摘要

「道地藥材」是指傳統中草藥在一定的產地及環境之下所生產的藥材，其具有中國古書所指特定基因型與療效等特性，因此適地適作是生產優質中草藥的關鍵因素之一。本試驗所選用的虎杖為台灣原生種，並於台灣埔里、台北、春陽、梅峰不同海拔的四個試驗區栽培，研究不同採收時間、栽培年限、採收部位的白藜蘆醇含量變化以及鮮乾重的變化，可做為台灣生產虎杖的栽培與採收參考。研究結果顯示，虎杖栽培時限應以二年較一年為佳，採收部位以地下部有較多的白藜蘆醇含量。

二年生地上部不同部位的生長量和白藜蘆醇含量以側枝較主枝佳，以側枝的 Part5(第 4~6 節)和 Part6(第 7 節以上)最高。各處理間比較，試驗地點影響顯著大於其他。評估白藜蘆醇總產量，地上部於梅峰所產植株於七月時採摘 Part6 部位最多(1.98 mg/part)，地上部整體採收的結果與分級採收的趨勢相同，以春陽所產於八月份採收為最多(5.02 mg/plant)。

地下部則以種植於梅峰者生長情形最佳，每株地下部鮮重為 401.8 g，乾重為 140.7 g。白藜蘆醇含量以台北最高有 3.33 mg/g DW。採收時期為八月時各試驗區地下部皆有最高採收乾重 118.83 g，白藜蘆醇含量也於八月達最高 3.19 mg/g DW。採收目標為地下部時應以梅峰所產於八月採收最佳(561.35 mg)。

### 前言

虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)為蓼科多年生灌木狀草本，為傳統



中醫使用藥材，一般以地下根莖為主要使用部位。

藥材的採收時間，對藥材的產量和品質有密切關係。因為不同的藥用部分有著一定的成熟時期，有效成份的量各不相同，藥性的強弱也隨之有很大的差異，甚至有「當季是藥，過季是草」的俗諺，說明了適時採收對保證中藥質量的重要性(張等，2008)。

白藜蘆醇是虎杖中含量較多的二次代謝物之一，由於採收時間、栽培年齡的不同，其白藜蘆醇含量會有很大的差異(曹等，2004)。

有效成分含量不同也造成藥效變化，採取山東、四川、安徽、江西四地生產的虎杖，以大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、枯草桿菌、四聯球菌、產氣桿菌為實驗菌株進行抑菌研究，結果顯示四川產的虎杖含高量大黃素，抑菌效果最佳；而山東產的大黃素較低，因而抑菌效果較差(公等，2008)。

以生產角度來看，根據不同季節與環境狀況選取適當的虎杖作為原料可以有效提高產品中的白藜蘆醇含量並且避免浪費。比較栽培年限不同的植株可以判斷適當的栽培時間，減少時間和管理成本的花費進而達到最為經濟的生產方式。並且能透過比較不同部位的二次代謝物含量差異，選取較適當的部位進行加工以提升產品價值。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究之虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)植株源自梅峰地區，經明道大學篩選出之高白藜蘆醇含量組培繁殖 051111 選系。將此品系種植於國立台灣大學精密溫室，待植株成熟後依前章試驗結果進行扦插，生產出的扦插苗作為試驗材料。

### 二、試驗方法

試驗區分為 4 個地點，依照海拔高度排列為台北、埔里、春陽、梅峰。虎杖植株栽植於 60×40×20 cm 3 塑膠盆中，以根基旺 3 號為介質，分別置於各試驗區之露地。各區栽種虎杖扦插苗 30 株，於 2010 年三月開始栽種，四月為馴化期，於五月開始採樣。經兩年栽培可得到一年生與二年生虎杖於各月份的樣本。

#### (一) 各試驗區生長量調查

生長量調查指標以一年生與二年生植株的地上部與地下部的鮮重和乾重，分四個不同試驗區及五月到十月一共六個月，一年生植株每月採樣 5 株進行試驗，二年生植株取樣 3 株，探討不同環境下於不同月份的生長影響。

一年生地上部與地下部，二年生地下部皆採取整株。唯二年生地上部由五月到八月，依照形態調查結果以側枝生長節位為基準，將主枝分為 Part1(第 0~3 節)、Part2(第 4~6 節)、Part3(第 7 節以上)，側枝也分為 Part4(第 0~3 節)、Part5(第 4~6 節)、Part6(第 7 節以上)作為不同的採收部位，九月與十月因休眠無法分級而採取整株。

#### (二) 採收後處理方法

地上部於採收時秤取鮮重，地下部先以清水洗去介質後秤取鮮重。地上部與地下部以信封分別包裝標號，於烘箱中以 50°C 乾燥處理至乾重不再有變化後秤取乾重。

#### (三) *trans-resveratrol* 的萃取方法設計與分析

依照前章虎杖中的白藜蘆醇萃取最佳條件的試驗結果進行分析，分析地上部時進樣量改為 5 $\mu$ l，*trans-resveratrol* 標準品溶分別稀釋成 1、5、10、20、25 mg/L 測得標準曲線後做為地上部樣品的檢量線。

### 三、統計分析

本試驗採複因子設計(factorial experiment)地上部以不同部位、試驗地點與月份作為變因，設計 4x4x6 複因子試驗。地下部以試驗地點與月份設計 4x6 試驗。

數據以平均值和標準偏差表示，利用 CoStat 6 進行分析，顯著水準  $p \leq 0.05$  以下經最小顯著差異法(least significant difference test, LSD)統計各處理的差異顯著性，並計算一年生與二年生植株乾重和白藜蘆醇含量的相對生長速率(relative growth rate, RGR)以及地上與地下部乾重比。結果以 Sigmaplot 10 繪圖軟體做圖。

## 結果

### (一) 一年生虎杖植株地上部

#### (1) 鮮重和乾重：

不同的試驗區與採收時期以複因子變方分析顯示，兩因子對於虎杖鮮重和乾重的影響極為顯著，結果如(表 7)所示。種植於春陽鮮重為 35.3 g，乾重 10.2 g 為表現最佳的地區，梅峰和埔里間未達顯著差異，台北的鮮重和乾重為最低(10.6 和 2.4 g)。採收時期以八月份有最重鮮重 32.9 g，八月和九月的乾重差距未達顯著(9.37 和 7.8 g)，萌芽期的五月和休眠期的十月則鮮重和乾重皆為所有月份中最低。若以單因子變方分析(表 9)來看，春陽的九月有最重鮮重 54.3 g 和乾重 18 g。

#### (2) 白藜蘆醇含量

不同試驗區對於一年生地上部的白藜蘆醇含量影響未達顯著水準，採收時期影響則極顯著，結果如(表 7)所示。於五月至七月和十月採收者含量無顯著差異，其中五月和十月的白藜蘆醇含量平均值最高為 0.16 mg/g DW，皆高過八月與九月採收者。以單因子變方分析(表 9)來看，台北的五月和六月(0.19 和 0.13 mg/g DW)、春陽的六月和十月(0.16 和 0.2 mg/g DW)、埔里的五月(0.21 mg/g DW)、梅峰的七月和十月(0.16 和 0.23 mg/g DW)白藜蘆醇含量顯著較高但各組間未達顯著。

#### (3) 地上部白藜蘆醇總產量

複因子變方分析顯示不同試驗區與採收時期對總產量的影響皆極為顯著，結

果如(表 7)所示。春陽最高(0.68 mg)，梅峰和埔里之間未達顯著，台北地上部白藜蘆醇總產量最低(0.11 mg)。七月採收的總產量最高(0.72 mg)，八月和九月最低(0.14 和 0.08 mg)。以單因子變方分析(表 9)來看，台北的五月和六月(0.19 和 0.13 mg/g DW)、春陽的六月和十月(0.16 和 0.2 mg/g DW)、埔里的五月(0.21 mg/g DW)、梅峰的七月和十月(0.16 和 0.23 mg/g DW)總產量未達顯著。

#### (4) 試驗因子間의 交感關係

在鮮重、乾重和白藜蘆醇總產量中兩因子存在交感關係且極顯著，但在白藜蘆醇含量上僅達顯著。

### (二) 一年生虎杖植株地下部

#### (1) 鮮重和乾重

不同試驗區與採收時期以複因子變方分析顯示，兩因子對地下部的鮮重和乾重影響皆極顯著，結果如(表 8)所示。最重為春陽，鮮重和乾重為 82.87 和 23.28 g，梅峰次之為 47.75 和 14.05 g，接著是埔里為 30.45 和 8.2 g，台北最低 10.15 和 2.72 g。採收期以九月有最重鮮重和乾重 88.75 和 24.66 g，八月的鮮重和乾重(59.41 和 14.94 g)與十月(60.75 和 19.5 g)未達顯著，五月、六月和七月生長量最低。單因子變方分析(表 10)來看，春陽的九月有最重的鮮重 180.53 和乾重 49.37 g，乾重與十月者未達顯著。

#### (2) 白藜蘆醇含量

不同試驗區與採收時期以複因子變方分析顯示，兩因子對地下部的白藜蘆醇含量影響皆極顯著，結果如(表 8)所示。較低海拔的埔里和台北有較高的白藜蘆醇含量(1.7 和 1.41 mg/g DW)，高海拔的春陽和梅峰則較低(0.85 和 0.97 mg/g DW)。採收時期五月、九月和十月間未達顯著(1.42、1.62 和 1.56 mg/g DW)。單因子變方分析(表 10)顯示，種植於台北於五月採收有最高的白藜蘆醇含量 2.48 mg/g DW，與台北的十月(1.63 mg/g DW)，埔里的五月、七月、九月、十月(1.55、2.19、2.4 和 2.3 mg/g DW)和梅峰的九月(1.65 mg/g DW)之間無顯著差異。

### (3) 地下部白藜蘆醇總產量

複因子變方分析顯示結果正好與白藜蘆醇的含量相反，結果如(表 8)所示。春陽有最高的總產量 22.66 mg，九月為最佳的採收時期。單因子變方分析(表 10)顯示，於春陽的九月有最高的白藜蘆醇總產量 59.5 mg，與埔里的九月(41.28 mg)，春陽的十月(39.82 mg)和梅峰的九月(47.15 mg)之間無顯著差異。

### (4) 試驗因子間의 交感關係

地點和月份對各項指標的影響皆極顯著；在鮮重、乾重和白藜蘆醇含量中兩因子存在交感關係且極顯著，但在白藜蘆醇總產量未存在交感關係。

## (三) 二年生虎杖植株地上部

二年生虎杖地上部依上述分級結果進行試驗，另外也調查九月與十月，計算整體總生長量與白藜蘆醇含量。

### (1) 整體鮮重和乾重

複因子變方分析顯示試驗區與採收時期對影響二年生地上部的鮮重和乾重影響極顯著，結果如(表 11)所示。梅峰有最高的鮮重和乾重表現(252.51 和 65.92 g)，其次是春陽(158.13 和 45.65 g)，埔里和台北最少但兩者間未達顯著。七月為最佳採收時期，同時有最高的鮮重和乾重(178.78 和 48.58 g)，九月則最低(75.53 和 18.87 g)。單因子變方分析(表 13)顯示，梅峰的七月鮮重和乾重為 453.15 和 108.44 g 為較理想的二年生地上部採收時期。

### (2) 整體白藜蘆醇濃度

複因子變方分析顯示試驗區對影響白藜蘆醇含量只達顯著，採收時期影響為極顯著，影響程度剛好與鮮重和乾重的表現相反，結果如(表 11)所示。春陽有最高含量(0.05 mg/g DW)但與台北間(0.04 mg/g DW)未達顯著差異。五月至七月皆為適當的採收時期，月份間未達顯著差異，以五月最高(0.06 mg/g DW)。單因子變方分析(表 13)顯示，春陽的六月有最高總產量 0.08 mg/g DW。

### (3) 整體地上部白藜蘆醇總產量

複因子變方分析顯示試驗區對白藜蘆醇總產量影響達極顯著，採收時期影響達顯著，結果如(表 11)所示。總產量最高為春陽(2.95 mg)但與梅峰(2 mg)間未達顯著差異。八月有最高白藜蘆醇總產量(2.3 mg)但與五月、六月、七月(2.08、1.78 和 2.26 mg/g DW)間未達顯著差異。單因子變方分析(表 13)顯示，春陽的六月(4.44 mg)和梅峰的七月和八月(4.35 和 4.22 mg)皆為適宜的採收地點與時期。

### (4) 試驗因子間의 交感關係

雙因子試驗的結果顯示在各項指標中兩因子未存在交感關係。

### (5) 分級處理結果

複因子變方分析顯示試驗區對鮮重、乾重和白藜蘆醇含量以及總產量影響皆極顯著，採收時期對鮮重和白藜蘆醇總產量影響未達顯著，採收部位對鮮重和乾重影響未達顯著，結果如(表 15)所示。

試驗地點中，海拔較低的埔里和台北地上部鮮重分別為 11.04 和 13.59 g，較高海拔的春陽和梅峰的 39.17 和 55 g 輕，差異極顯著，乾重也有相同趨勢；各區地上部於九月後皆受休眠影響枯萎而無法依部位處理，在生長旺盛的七月和八月有較高的鮮重和乾重累積。

五月和七月有較高的白藜蘆醇含量 0.06 和 0.05 mg/g DW，七月有最高總產量 0.42 mg。

不同部位中以 Part5 有最高的鮮重 39.64 和乾重 10.52 g，Part6 則有最高白藜蘆醇含量 0.07 和總產量 0.62 mg。單因子變方分析(表 16)顯示於梅峰七月份採收 Part6 部位可得最高白藜蘆醇總產量 1.98 mg。

地點和月份間存在交感關係，除白藜蘆醇濃度僅達顯著外，其他指標皆極顯著。地點與分級部位，月份與分級部位，以及三個因子間對各項指標皆未有交感關係。

#### (四)二年生虎杖植株地下部

##### (1)鮮重和乾重

複因子變方分析顯示試驗區對二年生地下部的鮮重和乾重影響極顯著，然而採收時期影響未達顯著，結果如(表 12)所示。梅峰有最重的鮮重和乾重(401.82 和 140.73 g)，採收時期除六月最少外其他時期間無顯著差異。單因子變方分析(表 14)顯示，梅峰的八月能有最高的鮮重與乾重表現(598.36 和 237.45 g)，與春陽的九月和十月，梅峰的七月和十月之間未達顯著差異。

##### (2)白藜蘆醇含量

複因子變方分析顯示不同試驗區與採收時期對地下部的白藜蘆醇含量影響皆極顯著，結果如(表 12)所示。與一年生地下部的含量相同，較低海拔的埔里與台北(3.09 和 3.33 mg/g DW)含量高於春陽與梅峰(1.54 和 2.26 mg/g DW)。最佳採收時期為八月(3.19 mg/g DW)，但與九月(3.06 mg/g DW)之間未達顯著差異。單因子變方分析(表 14)顯示，台北的八月有最高的白藜蘆醇含量 4476 mg/g DW，與埔里的五月和九月間未達顯著差異。

##### (3)地下部白藜蘆醇總產量

複因子變方分析顯示如(表 12)，梅峰的總產量為 320.33 mg 是最高的試驗區，最佳採收時期為八月(345.35 mg)與九月(291.76 mg)間無顯著差異。單因子變方分析(表 14)顯示，梅峰的八月有最高總產量 561.34 mg，與梅峰的九月和台北的八月無顯著差異。

##### (4) 試驗因子間의 交感關係

雙因子試驗結果顯示地點和月份兩因子在鮮重和乾重中未有交感關係；兩因子在白藜蘆醇含量中交感關係極顯著，而在白藜蘆醇總產量中交感關係僅達顯著。

#### (五) 一年生與二年生植株相對生長速率

##### (1)一年生與二年生地上部乾重

種植於埔里和梅峰的一年生植株地上部於七月成長最快速，台北於八月成長最快速，春陽自六月即生長趨緩直至十月休眠(圖 5A)。二年生植株除梅峰外自六月起即生長速率保持相同水準，至九月明顯降低。梅峰的植株生長速率減緩情形極為明顯，但至九月有明顯升高(圖 7A)。

#### (2) 一年生與二年生地上部白藜蘆醇濃度

各區的一年生植株其白藜蘆醇含量至九月前皆無明顯增加，九月後有明顯的含量增加，以春陽地區增加速率最快，其次是埔里和梅峰，台北因地上部於十月已完全枯萎而歸零(圖 5B)。各區的二年生植株除春陽地區外於七月皆有一次濃度快速增加(圖 7B)。

#### (3) 一年生與二年生地上部白藜蘆醇總產量

一年生植株除栽植於梅峰地區的植株在七月有一次白藜蘆醇總產量的快速增加外，其他各區直到九月才會有快速增加，台北則因地上部於十月已完全枯萎而歸零(圖 5C)。二年生植株於埔里和梅峰在七月有一次白藜蘆醇總產量的快速增加，台北和春陽直至十月為止皆無明顯變化，埔里於十月有第二次總產量的快速增加(圖 7C)。

#### (4) 一年生與二年生地下部乾重

各區的一年生植株皆在七月有一乾重的快速累積，之後累積速率持續減緩直至十月，其中梅峰地區乾重生長的速率減緩最為明顯(圖 6A)。二年生植株的相對生長速率變化差異很大，埔里和春陽趨勢相同於七月和九月共有兩次明顯累積，六月、八月、十月甚至為負值。台北地區則於六月、八月、十月共有三次快速生長，七月和九月相對生長速率為負值。梅峰地區僅於七月有一次快速生長，之後持續減緩至十月(圖 8A)。

#### (5) 一年生與二年生地下部白藜蘆醇濃度

一年生植株於埔里於七月和九月共有兩次快速白藜蘆醇含量增加；台北和梅峰趨勢相同，七月時累積增加最慢之後持續加快至九月達高峰，十月減緩；春陽



僅於七月有一次快速增加(圖 6B)。二年生植株的濃度相對生長速率以台北、春陽、梅峰的趨勢相同，皆於八月有一次增加高峰，埔里則無明顯生長增加(圖 8B)。

#### (6) 一年生與二年生地上部白藜蘆醇總產量

一年生植株僅春陽於七月有一次總產量的快速增加，其他地區皆無明顯增加時期(圖 6C)。二年生植株中以台北和梅峰趨勢相同，於八月生長最快速；埔里和春陽無明顯快速增加時期(圖 8C)。

#### (六)地上與地下部乾重比

二年生虎杖地上部與地下部地鮮重與乾重逐月變化顯示於(圖 9 和 10)，一年生虎杖的地上部與地下部乾重比結果顯示於(圖 11A)，台北的地上部因十月已休眠而無資料。一年生植株中埔里、春陽、梅峰的趨勢皆相同，自六月後地下部持續增重至八月已超過地上部乾重；台北地區的植株自五月地下部持續增重至六月已超過地上部乾重，但八月有大量的地上部乾重累積。二年生植株結果顯示於(圖 11B)，埔里的植株乾重比最小且無明顯變化；台北的植株自五月起地下部持續增重；栽植於春陽者於八月時地下部有極明顯的增重；梅峰則於五月有一次地上部大量的乾重累積，之後地下部持續增重至九月。

### 討論

包括白藜蘆醇在內的許多二次代謝物都可以利用栽培環境來影響含量，如乾早年份所生產的葡萄具有較多的白藜蘆醇和有機酸含量(Roldaan et al., 2003)。於低溫環境栽培地黃可提高白藜蘆含量( Chung et al., 2006)。前人亦指出接種灰黴菌(*Botrytis cinerea*)後遭感染的葡萄白藜蘆醇含量提升，並發現抗病力較強的品種 *Vitis riparia* 有較高的白藜蘆醇含量(Langcake,1981)。提升二次代謝物含量的同時容易造成光合作用的阻礙，造成植物營養生長不良；栽培貫葉連翹時施以旱害和

缺氧處理可以提高其多酚類物質和樺木酸的含量，但同時降低乾物質累積，減少可採收部位乾重(Abreu and Mazzafera, 2005)。

本研究在不同試驗地點環境影響之下，低海拔的埔里和台北無論是地上部還是地下部其鮮重和乾種皆較高海拔的春陽和梅峰輕，可能是埔里和台北與虎杖原生環境差異過大使植株生長不易；然而白藜蘆醇含量卻相反，低海拔試驗地點含量較高海拔者高(表11和12)，此結果與前人指出的結果相似。

觀察虎杖休眠情形，氣溫較低的春陽和梅峰首先於八月休眠，此時地上部鮮重和乾重逐漸下降但地下部仍持續累積並達生長高峰，推斷為地上部養份轉移至地下部所致(圖9C、D；圖10 C、D)，前人亦指出虎杖地下部採收以八月為佳(梁和李，2006)。而埔里和台北休眠時間較晚，埔里甚至於十月仍能採集到地上部樣本，埔里和台北皆無明顯生長高峰。

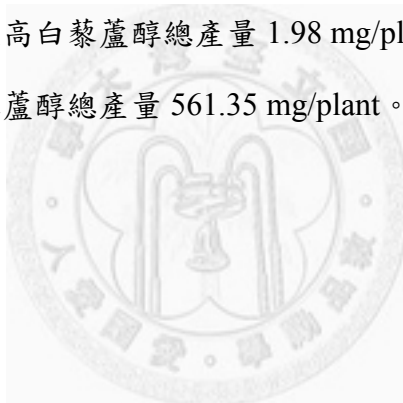
Seimeoin和Lebot(2002)研究胡椒科植物卡瓦(*Piper methysticum*)，指出內含的卡瓦酮(Kavalactone)含量會受植株的栽培地點、年齡、採樣部位的不同而有所改變。Zhua(2000)於實驗中發現葡萄果肉中的白藜蘆醇含量僅有0.05 mg/ml，而種子更少僅有0.02 mg/ml。

本研究觀察虎杖地上部的不同採收部位，其中頂梢部位的Part3、5、6的白藜蘆醇含量較高，並顯示側枝的生長量與白藜蘆醇含量皆比主枝要高(表15)。說明生長旺盛的頂端部位有較高的白藜蘆醇含量，同時證明地上部生長高峰的七月至八月適合採摘虎杖的地上部(表15；圖10 C、D)，結果與(曹等，2004)類似。

虎杖地下部為主要利用部位，白藜蘆醇含量和總產量也遠比地上部豐富(表1、3)，與萜醌類化合物在虎杖中的分佈情況相似(么和劉，2005)。種植於春陽和梅峰地區的植株休眠情形明顯，其地下部於地上部休眠之後的1個月可達最大乾物質累積量(表14)。因此可將虎杖地上部休眠時期作為採收地下部的指標。又以地上部與地下部乾重比中可得知(圖11)，二年生植株比值皆低於1，遠低於一年生植株，因此栽植年限應兩年較一年為佳。

一年生植株地下部各試驗區的各项相對生長速率變化皆相似，二年生地下部則可以明顯看出各試驗區乾重和白藜蘆醇濃度生長趨勢正好相反，顯示乾重快速累積的同時白藜蘆醇含量快速減少，推斷可能與同化產物於植物體中的配置 (allocation) 有關。在五至十月的觀察期中，一年生虎杖白藜蘆醇的配置循環有兩次，二年生者有三次(圖 7 和 8)。

本研究結果顯示，於與原生環境相似的春陽和梅峰栽植虎杖可使植株得到良好生長，無論地上部或地下部皆有最重的採收部位；白藜蘆醇含量則以環境嚴苛的埔里和台北為高，因此評估時應以採收可得的白藜蘆醇總產量作為指標較為客觀。採收時期應以採收部位處於生長旺盛時期者為佳，地上部則以側枝較主枝為佳。由本研究得知採收虎杖 051111 選系應以兩年者為佳，地上部於梅峰七月採收側枝頂梢的部分可得最高白藜蘆醇總產量 1.98 mg/plant；地下部於梅峰生產並於八月採收可得最高白藜蘆醇總產量 561.35 mg/plant。



## 未來展望

虎杖為多年生草本，冬季有明顯的休眠情形，全株皆有藥效但主要採收部位為地下部，一般業界採收以種植二年者或野生採集為主。本研究結果顯示二年生虎杖確實比一年生者有更高的白藜蘆醇含量和乾重，整體採收價值以二年生者比一年生為佳。研究同時也指出虎杖地上部也含有少量白藜蘆醇，其中二年生植株地上部可採收量更是遠高過一年生者，可見地上部也有開發利用的價值，目前市面上已有虎杖茶等相關製品，相信經研究能有更多面向的開發。後續可以增加虎杖的栽培年限，研究栽培更長時間其地上部與地下部是否能有更高的經濟效益。

研究使用的 051111 無性繁殖選系在試驗期間於春陽種植的二年生植株有開花，花朵大小與花絮皆極小與野生者相異，甚至有些未開花即敗育，而各試驗區的一年生則無開花，推測可能是植株幼小養分不足導致。在本次研究期間中沒有種子可採收，後續可增加栽培年限觀察此選系開花和結果情形評估是否可做為育種材料使用。

從二年生地下部乾重和白藜蘆醇含量的相對生長速率中可看出乾重與白藜蘆醇含量的累積正好相反，可能與植物體內的配置情形有關，二年生地上部分級處理也發現生長旺盛的頂端部位白藜蘆醇含量較多，後續可進行植株營養成份與白藜蘆醇含量變化的相關研究，有助進一步了解植株成長和有效成分累積之間的關連。

本研究也證明「道地藥材」的觀念有其源由，原生自梅峰地區的 051111 選系確實在各不同栽培地點的試驗中，不論地上或地下部皆有不同的白藜蘆醇含量和生長量表現。雖然每公克乾重所含的白藜蘆醇以台北較高，但總體而言仍以原生地的梅峰試驗區所產者有最高的白藜蘆醇總產量以及最多的採收量。由此可見中藥材以其原生地所產者有較佳的療效和經濟價值。

現今多數中藥材源自中國大陸，常有產地不清、重金屬含量超標、品質不穩

定等情形。本研究所採用的 051111 選系為台灣原生種，適合於台灣種植與生產，依本試驗結果已確定最佳採收時間和白藜蘆醇含量，可確保藥材品質和產量的穩定，適合推廣於本土中藥材市場。

以韓國生產人參為例，依照不同栽培年限、種類、處理方式等可做為人蔘分級的依據，能有效區隔市場和建立品牌形象，有助蔘農增加收入和種植意願。本研究結果顯示不同栽培年限和地點確實顯著影響虎杖的白藜蘆醇含量和品質，在生產和推廣虎杖時可考慮以此作為標準將虎杖作為商品分級，相信可與中國大陸進口的虎杖做出區隔，有助建立生產履歷和市場銷售，提高農民利潤和台灣人民中醫用藥的安全和品質。



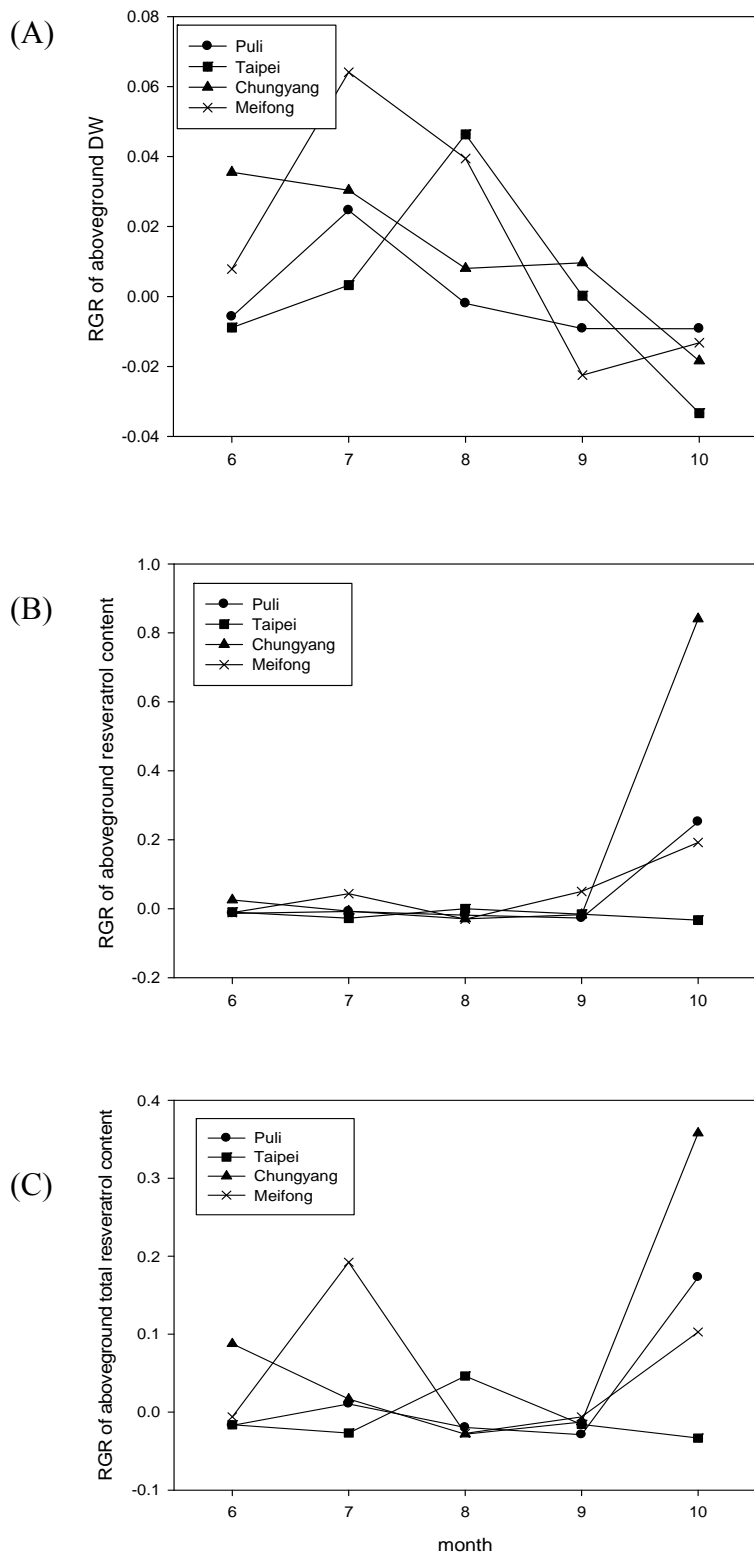


圖 5. 一年生虎杖地上部(A)乾重、(B)白藜蘆醇含量和(C)總產量的相對生長速率

Fig 5. Relative growth rates (RGR) of aboveground (A)dry weight ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{month}^{-1}$ ) (B)resveratrol content ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{month}^{-1}$ ) (C)total resveratrol content( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{month}^{-1}$ ) of one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

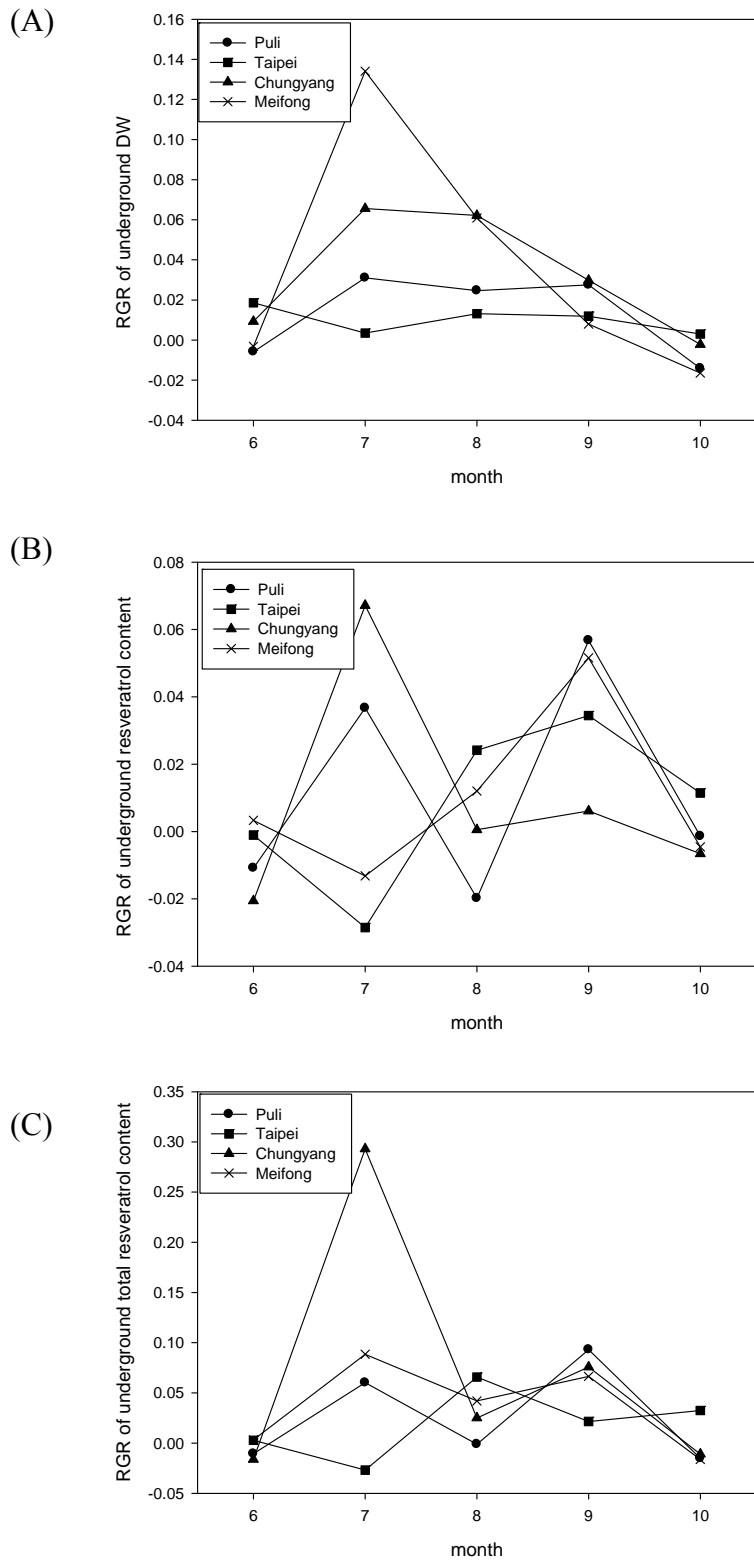


圖 6. 一年生虎杖地下部(A)乾重、(B)白藜蘆醇含量和(C)總產量的相對生長速率

Fig 6. Relative growth rates (RGR) of underground (A)dry weight ( $g \cdot g^{-1} \cdot month^{-1}$ ) (B)resveratrol content ( $mg \cdot mg^{-1} \cdot month^{-1}$ ) (C)total resveratrol content( $mg \cdot mg^{-1} \cdot month^{-1}$ ) of one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

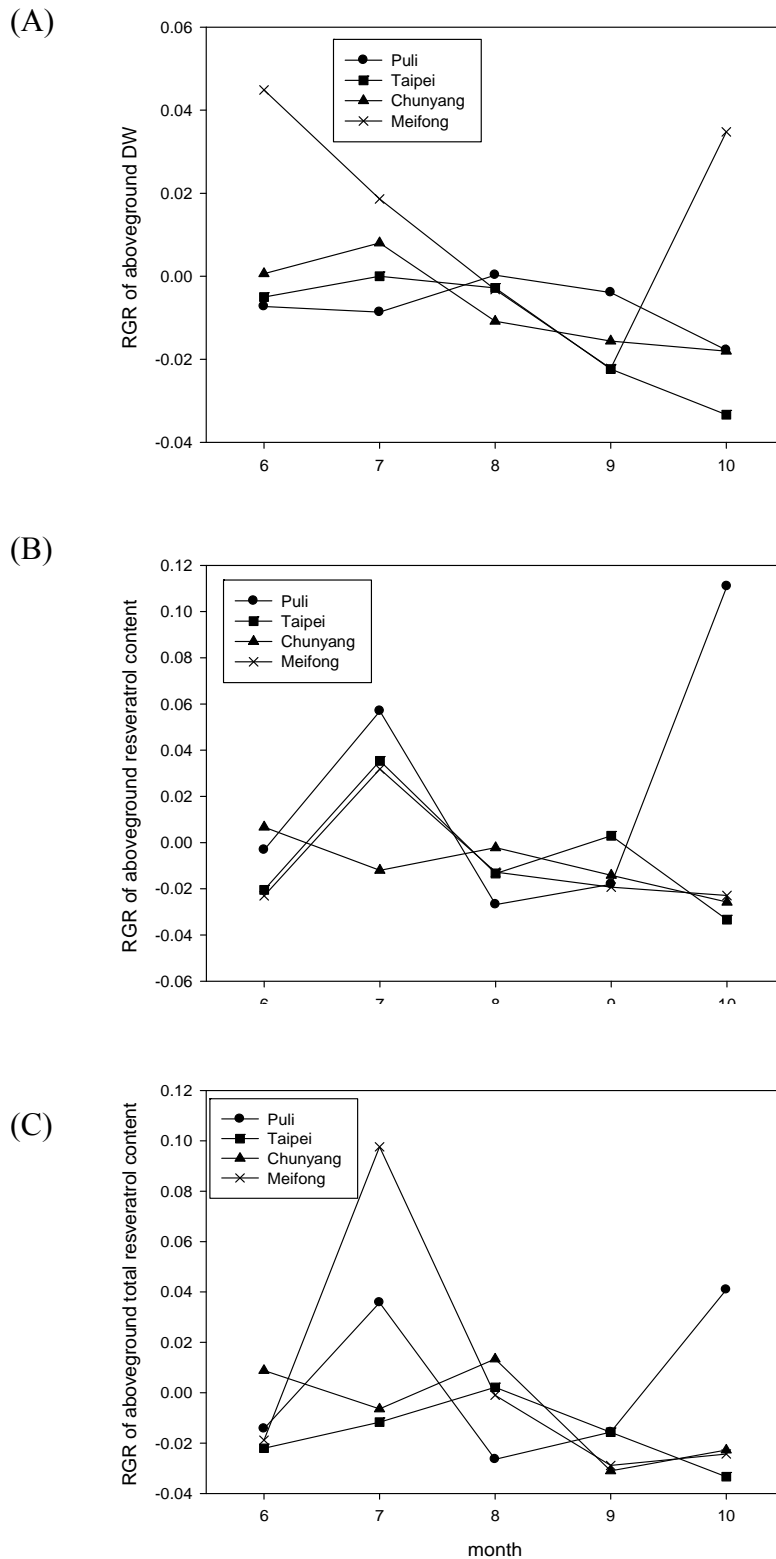


圖 7. 二年生虎杖地上部(A)乾重、(B)白藜蘆醇含量和(C)總產量的相對生長速率

Fig 7. Relative growth rates (RGR) of aboveground (A)dry weight ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{month}^{-1}$ ) (B)resveratrol content ( $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{month}^{-1}$ ) (C)total resveratrol content( $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{month}^{-1}$ ) of two year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc



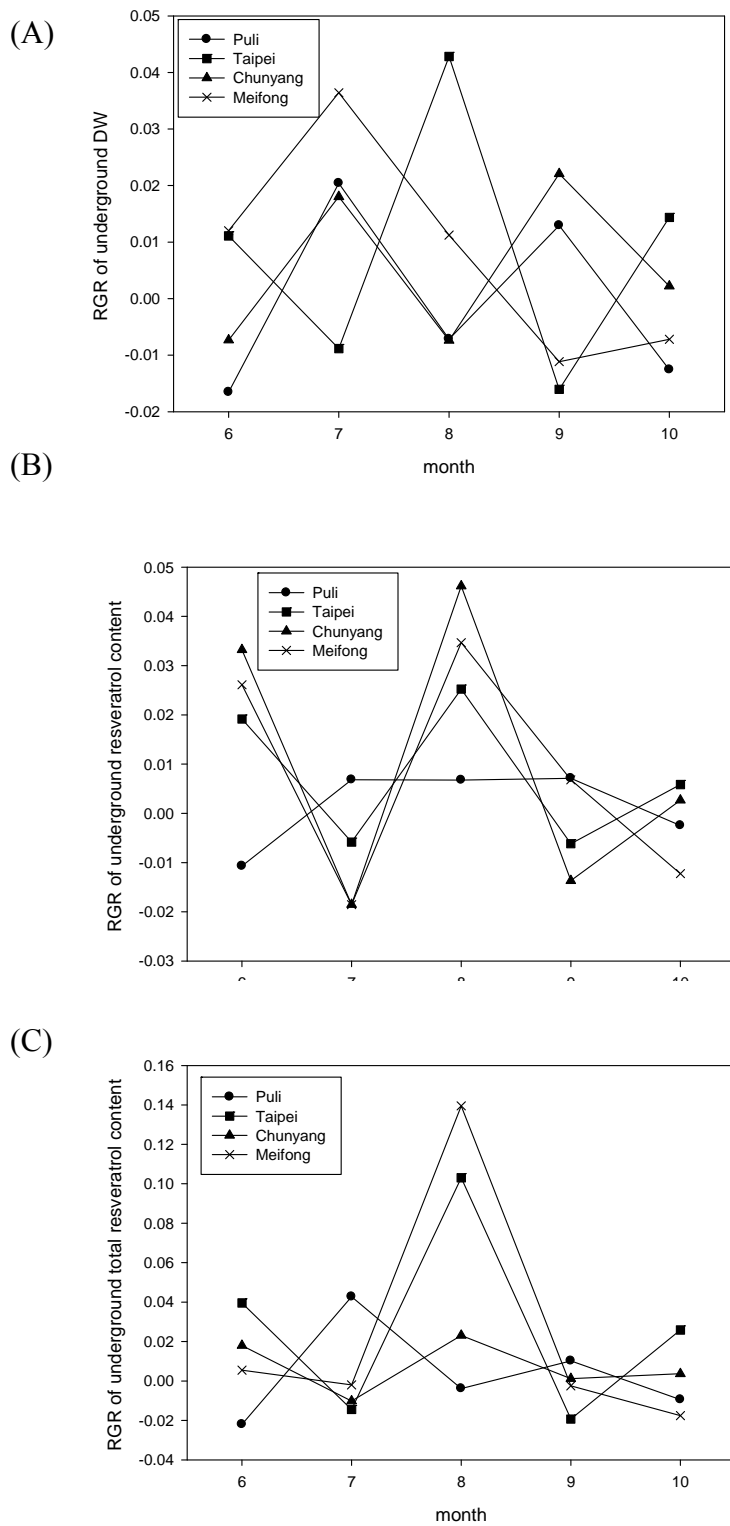


圖 8. 二年生虎杖地下部(A)乾重、(B)白藜蘆醇含量和(C)總產量的相對生長速率

Fig 8. Relative growth rates (RGR) of underground (A)dry weight ( $g \cdot g^{-1} \cdot month^{-1}$ ) (B)resveratrol content ( $mg \cdot mg^{-1} \cdot month^{-1}$ ) (C)total resveratrol content( $mg \cdot mg^{-1} \cdot month^{-1}$ ) of two year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc

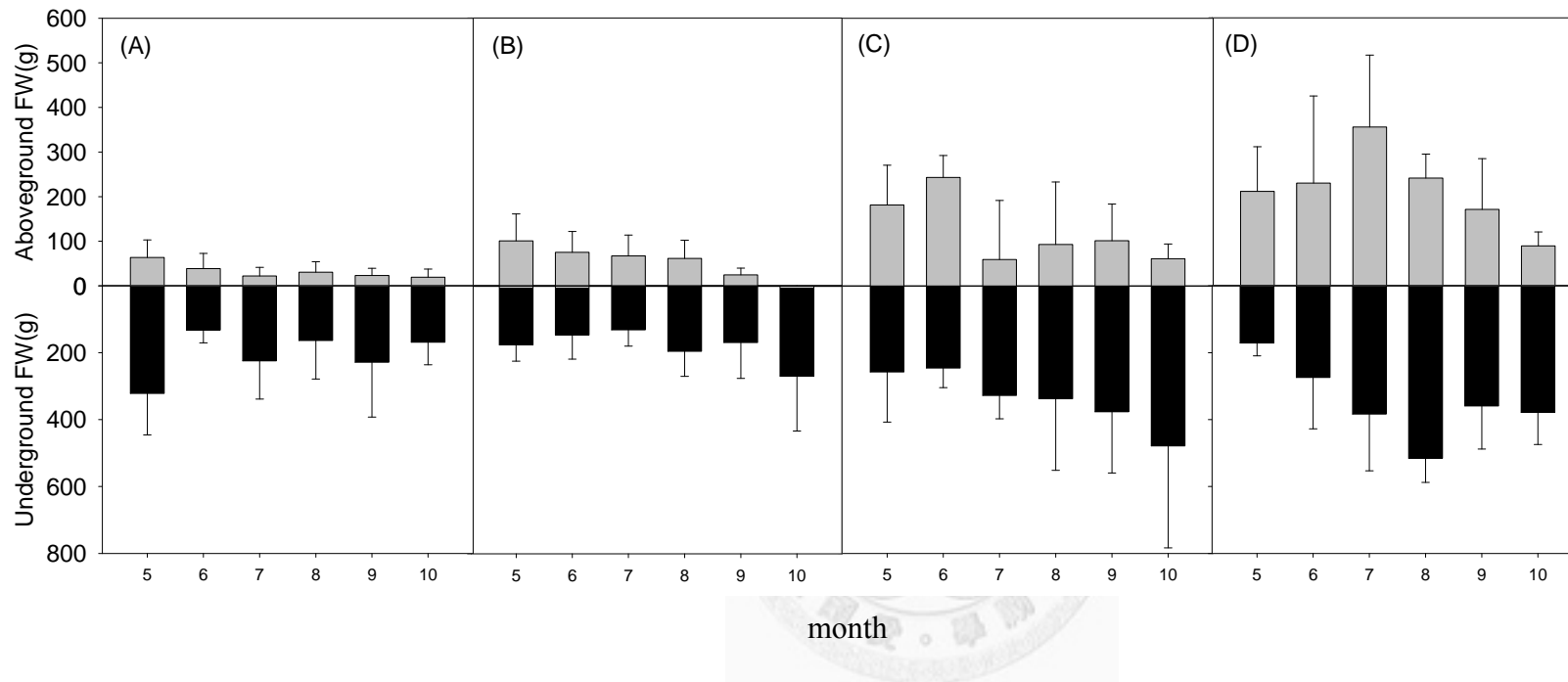


圖 9.栽培於(A)埔里(B)台北(C)春陽和(D)梅峰之虎杖鮮重變化

Fig 9. Fresh weight of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. cultivated at(A) Puli (B) Taipei (C) Chunyang (D) Meifong. Form2010 May to 2011 Oct. Bars indicate standard error of the means.

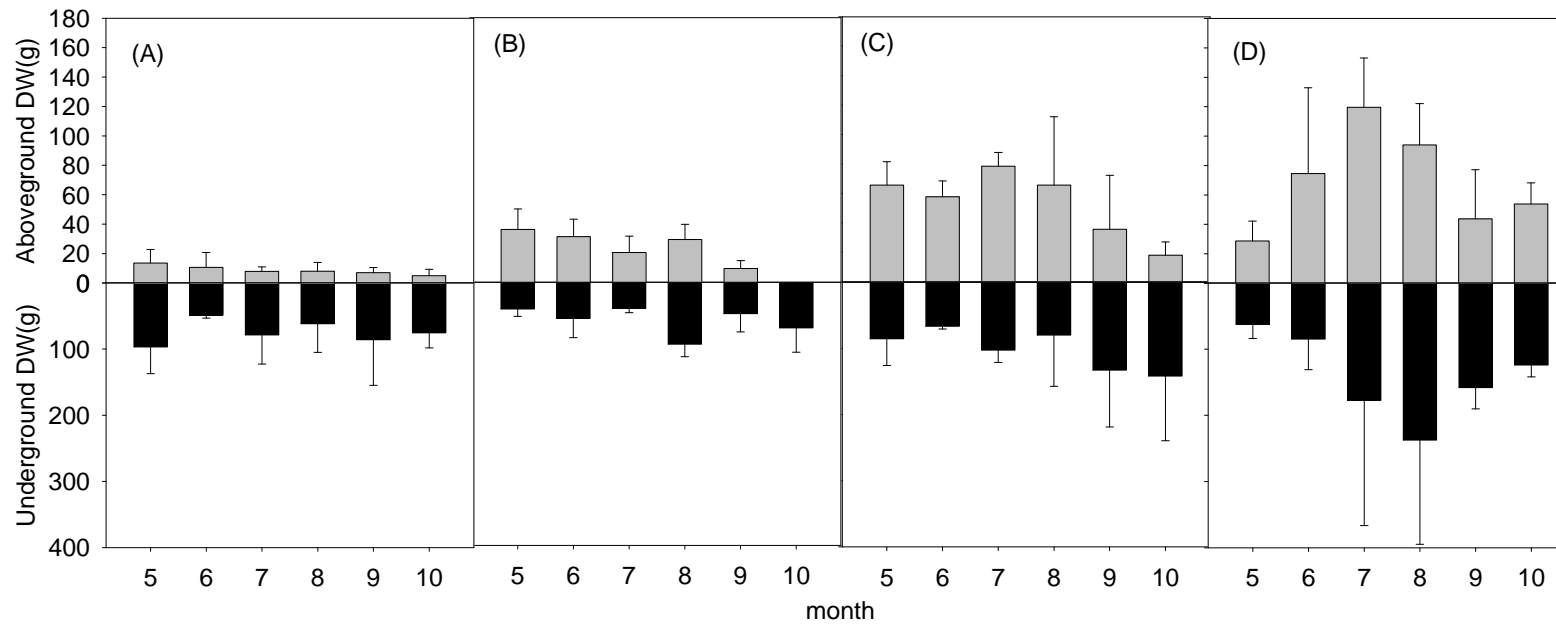


圖 10.栽培於(A)埔里(B)台北(C)春陽和(D)梅峰之虎杖乾重變化

Fig 10. Dry weight of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. cultivated at (A) Puli (B) Taipei (C) Chunyang (D) Meifong. Form 2010 May to 2011 Oct. Bars indicate standard error of the means.

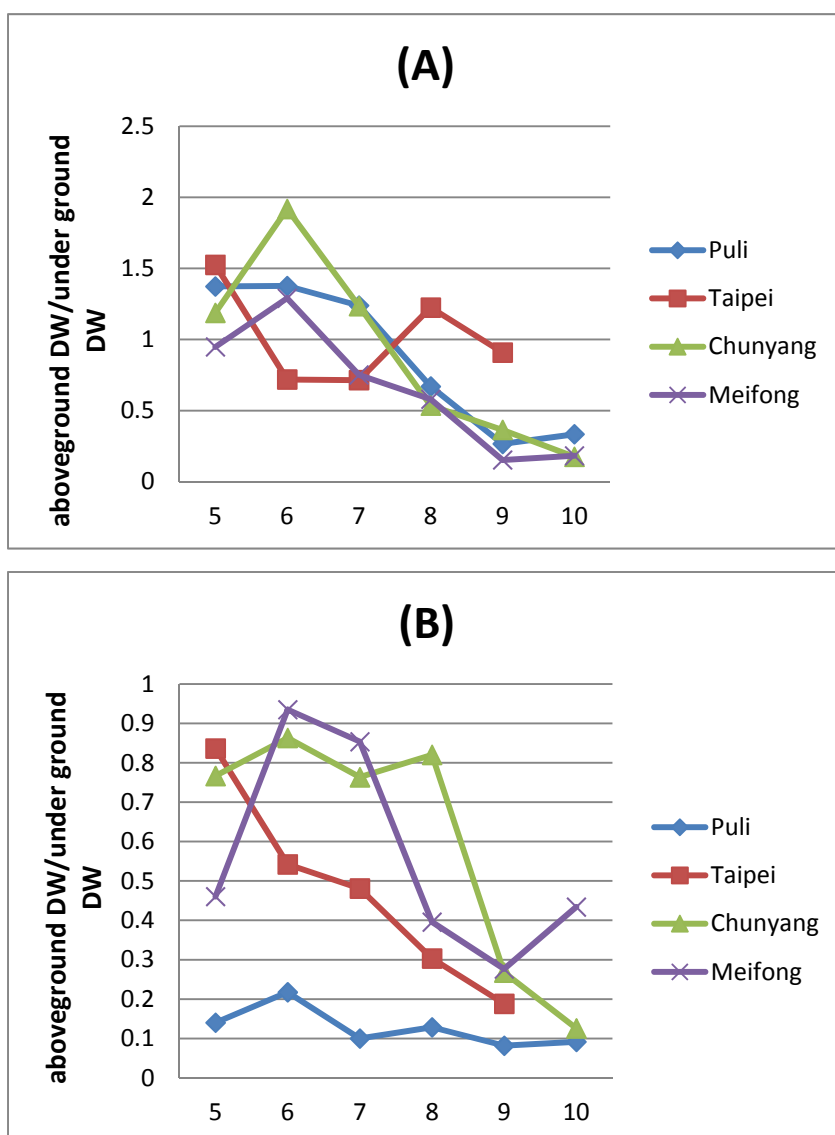


圖 11. (A)一年生與(B)二年生虎杖地上部與地下部乾重比

Fig 11. Dry weight ratio of Aboveground and underground in (A)one year old and(B) two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

表 7. 栽培地點和採收時間對一年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的主效應及交感效應

Table 7. Main and interaction effects of location and harvest time on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of aboveground in one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
<b>location</b>				
Puli	20.06 b <sup>z</sup>	4.90 b	0.09 a	0.39 b
Taipei	10.57 c	2.36 c	0.08 a	0.11 c
Chunyang	35.40 a	10.21 a	0.10 a	0.68 a
Meifong	20.74 b	5.42 b	0.10 a	0.35 b
<b>harvest time</b>				
May	13.40 d	2.75 d	0.16 a	0.48 ab
June	17.66 cd	3.29 d	0.12 a	0.39 b
July	25.27 b	6.40 bc	0.11 a	0.72 a
August	32.85 a	9.37 a	0.02 b	0.14 c
September	24.69 bc	7.80 ab	0.02 b	0.08 c
October	11.06 d	4.24 cd	0.16 a	0.67 ab
<b>P value</b>				
<b>Main effects</b>				
location	0.0000 ***	0.0000 ***	0.8653 ns	0.0000 ***
harvest time	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0000 ***
<b>Interaction</b>				
location x harvest time	0.0002 ***	0.0000 ***	0.0118 *	0.0002 ***

<sup>z</sup>: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

ns, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

表 8. 栽培地點和採收時間對一年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的主效應及交感效應

Table 8. Main and interaction effects of location and harvest time on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of underground in one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
<b>location</b>				
Puli	30.45 c <sup>Z</sup>	8.20 c	1.70 a	17.24 a
Taipei	10.15 d	2.75 d	1.41 a	3.73 b
Chunyang	82.87 a	23.28 a	0.85 b	22.67 a
Meifong	47.75 b	14.05 b	0.97 b	17.99 a
<b>harvest time</b>				
May	9.71 c	2.18 c	1.42 ab	3.45 c
June	11.23 c	2.45 c	1.02 bc	2.59 c
July	21.83 c	6.21 c	0.94 bc	7.35 c
August	59.41 b	14.94 b	0.76 c	11.46 c
September	88.75 a	24.66 a	1.62 a	39.34 a
October	60.75 b	19.50 b	1.56 a	24.33 b
<b>P value</b>				
<b>Main effects</b>				
location	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0001 ***	0.0020 **
harvest time	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0065 **	0.0000 ***
<b>Interaction</b>				
location x harvest time	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0027 **	0.1323 ns

<sup>Z</sup>: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

ns, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

表 9. 栽培地點和採收時間的交互作用對一年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響

Table 9. Effect of location and harvest time interaction on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of aboveground in one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc..

		Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
Puli	May	20.56 efghi <sup>z</sup>	4.56 def	0.21 ab	0.21 ab
	June	16.00 fghi	3.77 def	0.12 bcdef	0.12 bcdef
	July	29.20 def	6.56 d	0.09 cdefg	0.09 cdefg
	August	24.22 defgh	6.17 d	0.04 efg	0.04 efg
	September	16.49 efghi	4.47 def	0.01 g	0.01 g
	October	9.73 hi	3.23 def	0.06 defg	0.06 defg
Taipei	May	12.18 hi	1.85 f	0.19 abc	0.19 abc
	June	7.19 i	1.35 f	0.13 abcde	0.13 abcde
	July	7.99 i	1.49 f	0.02 g	0.02 g
	August	13.29 ghi	3.55 def	0.02 g	0.02 g
	September	12.19 hi	3.58 def	0.01 g	0.01 g
	October	— <sup>y</sup>	—	—	—
Chunyang	May	13.18 ghi	2.85 def	0.09 cdefg	0.09 cdefg
	June	32.56 cde	5.88 de	0.16 abcd	0.16 abcd
	July	37.00 bcd	11.24 bc	0.13 bcdef	0.13 bcdef
	August	47.62 ab	13.95 b	0.02 g	0.02 g
	September	54.29 a	17.98 a	0.01 g	0.01 g
	October	16.28 efghi	8.05 cd	0.20 abc	0.20 abc
Meifong	May	7.68 i	1.75 f	0.11 bcdefg	0.11 bcdefg
	June	14.90 ghi	2.16 ef	0.07 defg	0.07 defg
	July	26.90 defg	6.33 d	0.16 abcd	0.16 abcd
	August	46.28 abc	13.81 b	0.01 g	0.01 g
	September	13.59 ghi	4.50 def	0.03 fg	0.03 fg
	October	8.91 hi	2.72 def	0.23 a	0.23 a

<sup>z</sup>: Mean separation within columns treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .

<sup>y</sup>: Could not be detected.

表 10. 栽培地點和採收時間的交互作用對一年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響

Table 10. Effect of location and harvest time interaction on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of underground in one year old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

		Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
Puli	May	14.96 fg <sup>z</sup>	3.32 g	1.55 abcdef	5.90 de
	June	11.79 fg	2.74 g	1.04 defg	4.02 de
	July	21.91 fg	5.29 fg	2.19 abc	11.27 de
	August	34.72 efg	9.21 efg	0.89 defg	10.88 de
	September	60.20 de	16.80 cde	2.40 ab	41.28 ab
	October	31.68 efg	9.67 efg	2.30 ab	22.44 bcde
Taipei	May	5.40 g	1.21 g	2.48 a	3.84 de
	June	8.34 fg	1.88 g	2.40 ab	4.16 de
	July	9.14 fg	2.08 g	0.35 g	0.80 e
	August	12.82 fg	2.90 g	0.60 fg	2.38 de
	September	11.27 fg	3.94 g	1.21 cdefg	3.92 de
	October	13.70 fg	4.30 fg	1.63 abcde	7.73 de
Chunyang	May	10.78 fg	2.40 g	0.82 defg	2.06 de
	June	14.61 fg	3.07 g	0.31 g	1.06 e
	July	33.11 efg	9.10 efg	0.95 defg	10.38 de
	August	104.80 c	26.07 bc	0.96 defg	18.16 cde
	September	180.53 a	49.37 a	1.14 cdefg	59.50 a
	October	143.34 b	46.06 a	0.91 defg	39.82 abc
Meifong	May	7.92 g	1.85 g	0.72 defg	1.74 e
	June	7.93 fg	1.68 g	0.79 defg	1.91 de
	July	20.63 fg	8.42 efg	0.48 fg	6.97 de
	August	94.39 cd	23.82 bcd	0.65 efg	15.74 de
	September	106.58 c	29.50 b	1.65 abcd	47.15 a
	October	44.87 ef	14.92 def	1.43 bcdef	24.02 bcd

<sup>z</sup>: Mean separation within column treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .



表 11. 栽培地點和採收時間對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的主效應及交感效應

Table 11. Main and interaction effects of location and harvest time on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of aboveground in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
<b>location</b>				
Puli	33.77 c <sup>z</sup>	8.86 c	0.03 b	0.29 b
Taipei	58.20 c	15.64 c	0.04 ab	0.47 b
Chunyang	158.13 b	45.65 b	0.05 a	2.95 a
Meifong	252.51 a	65.92 a	0.03 b	2.00 a
<b>harvest time</b>				
May	156.13 ab	33.80 ab	0.06 a	2.08 ab
June	162.68 a	37.69 ab	0.04 ab	1.78 ab
July	178.78 a	48.58 a	0.05 a	2.26 a
August	138.84 ab	49.05 a	0.03 bc	2.30 a
September	75.53 b	18.87 b	0.02 bc	0.28 b
October	61.39 b	26.17 ab	0.01 c	0.11 b
<b>P value</b>				
<b>Main effects</b>				
location	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0287 *	0.0011 **
harvest time	0.0088 **	0.0382 *	0.0003 ***	0.0252 *
<b>Interaction</b>				
location x harvest time	0.3950 ns	0.2890 ns	0.2474 ns	0.6237 ns

<sup>z</sup>: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

ns, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

表 12. 栽培地點和採收時間對二年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的主效應及交感效應

Table 12. Main and interaction effects of location and harvest time on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of underground in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
<b>location</b>				
Puli	197.04 b <sup>z</sup>	67.86 b	3.09 a	217.63 b
Taipei	172.66 b	59.94 b	3.33 a	216.32 b
Chunyang	344.21 a	101.63 ab	1.54 c	144.54 b
Meifong	401.82 a	140.73 a	2.26 b	320.33 a
<b>harvest time</b>				
May	265.65 a	71.89 ab	2.02 c	151.05 c
June	212.68 a	64.39 b	2.62 b	168.94 c
July	291.42 a	100.25 ab	1.90 c	179.24 bc
August	309.41 a	118.83 a	3.19 a	345.35 a
September	322.57 a	106.67 ab	3.06 ab	291.76 ab
October	271.88 a	93.22 ab	2.57 b	211.86 bc
<b>P value</b>				
<b>Main effects</b>				
location	0.0000 ***	0.0020 **	0.0000 ***	0.0055 **
harvest time	0.5302 ns	0.3181 ns	0.0000 ***	0.0074 **
<b>Interaction</b>				
location x harvest time	0.2012 ns	0.4797 ns	0.0051 **	0.0489 *

<sup>z</sup>: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

ns, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

表 13. 栽培地點和採收時間的交感效應對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響

Table 13. Effect of location and harvest time interaction on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of aboveground in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

		Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
Puli	May	63.54 c <sup>z</sup>	13.56 cd	0.03 bcdef	0.50 bc
	June	36.05 c	10.61 d	0.03 bcdef	0.28 bc
	July	25.33 c	7.86 d	0.07 ab	0.59 bc
	August	30.40 c	7.93 d	0.01 def	0.12 c
	September	23.20 c	7.00 d	0.01 ef	0.06 c
	October	19.27 c	4.90 d	0.03 bcdef	0.14 bc
Taipei	May	100.51 c	25.79 cd	0.06 abc	1.23 bc
	June	63.73 c	17.28 cd	0.02 cdef	0.42 bc
	July	42.34 c	8.76 d	0.05 abcde	0.27 bc
	August	61.26 c	20.06 cd	0.03 bcdef	0.29 bc
	September	24.28 c	6.62 d	0.03 bcdef	0.15 bc
	October	— <sup>y</sup>	—	—	—
Chunyang	May	181.40 c	51.34 cd	0.07 ab	3.51 abc
	June	243.15 bc	52.33 cd	0.08 a	4.44 a
	July	296.00 abc	64.95 bc	0.05 abcd	3.58 abc
	August	123.83 c	54.83 cd	0.05 abcde	5.02 a
	September	101.16 c	23.33 cd	0.03 bcdef	0.36 bc
	October	60.96 c	17.85 cd	0.01 ef	0.11 c
Meifong	May	263.50 abc	37.08 cd	0.07 ab	2.54 abc
	June	237.37 bc	55.63 cd	0.02 def	1.11 bc
	July	435.13 a	108.44 ab	0.04 bcdef	4.35 ab
	August	391.60 ab	130.79 a	0.03 bcdef	4.22 ab
	September	170.57 c	43.72 cd	0.01 def	0.56 bc
	October	78.49 c	39.67 cd	0.00 f	0.10 c

<sup>z</sup>: Mean separation within columns treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .

<sup>y</sup>: Could not be detected.

表 14. 栽培地點和採收時間的交互作用對二年生虎杖地下部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響

Table 14. Effect of location and harvest time interaction on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content of underground in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.

		Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
Puli	May	321.66 bcdefg <sup>z</sup>	96.71 bcd	3.43 abcde	328.69 bcd
	June	131.92 fg	48.74 d	2.33 fghijk	111.69 def
	July	224.52 defg	78.60 bcd	2.81 defgh	254.90 cdef
	August	163.15 fg	61.75 cd	3.38 bcdef	225.36 cdef
	September	228.60 defg	85.74 bcd	4.10 abc	294.37 bcdef
	October	112.40 g	35.64 d	2.53 efghij	90.78 ef
Taipei	May	162.89 fg	42.95 d	1.96 hijklm	84.23 f
	June	174.10 fg	57.24 cd	3.09 cdefg	184.25 def
	July	122.21 fg	42.08 d	2.55 efghi	104.35 def
	August	238.85 cdefg	96.14 bcd	4.48 a	427.12 abc
	September	141.61 fg	49.88 d	3.65 abcd	179.38 def
	October	196.28 efg	71.37 bcd	4.29 ab	318.56 bcde
Chunyang	May	328.52 bcdefg	85.50 bcd	1.08 lm	92.44 ef
	June	243.24 cdefg	66.71 cd	2.15 ghijkl	142.39 def
	July	356.76 abcdef	102.76 bcd	0.96 m	98.88 def
	August	237.26 cdefg	79.98 bcd	2.28 ghijk	167.58 def
	September	420.81 abcde	132.99 abcd	1.35 klm	173.50 def
	October	478.67 abc	141.83 abcd	1.45 jklm	192.43 def
Meifong	May	249.53 cdefg	62.38 cd	1.62 ijklm	98.86 def
	June	301.45 bcdefg	84.86 bcd	2.90 defgh	237.43 cdef
	July	462.19 abcd	177.56 ab	1.28 klm	258.84 cdef
	August	598.36 a	237.45 a	2.62 defghi	561.35 a
	September	499.24 ab	158.08 abc	3.16 cdefg	519.80 ab
	October	300.15 bcdefg	124.03 bcd	2.00 hijklm	245.69 cdef

<sup>z</sup>: Mean separation within column treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .

表 15. 栽培地點、採收時間和採收部位對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的主效應及交感效應

Table 15. Main and interaction effects of location, harvest time and harvest part on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. aboveground parts.

	Fresh weight (g/part)	Dry weight (g/part)	Resveratrol content (mg/g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
<b>location</b>				
Puli	11.04 c <sup>z</sup>	2.69 c	0.03 b	0.09 b
Taipei	13.59 c	3.61 c	0.04 b	0.11 b
Chunyang	39.17 b	10.64 b	0.07 a	0.66 a
Meifong	55.00 a	13.72 a	0.04 b	0.50 a
<b>harvest time</b>				
May	30.85 a	6.49 c	0.06 a	0.37 a
June	31.61 a	7.36 bc	0.04 b	0.36 a
July	34.57 a	9.62 ab	0.05 ab	0.42 a
August	30.69 a	10.59 a	0.02 c	0.26 a
<b>harvest part</b>				
Part1	25.52 bc	5.79 d	0.04 bc	0.25 bc
Part2	26.84 bc	6.62 cd	0.02 c	0.15 c
Part3	25.22 c	7.09 bcd	0.05 ab	0.33 bc
Part4	40.34 a	10.32 ab	0.04 b	0.40 ab
Part5	39.64 a	10.52 a	0.05 ab	0.48 ab
Part6	37.57 ab	10.10 abc	0.07 a	0.62 a
<b>P value</b>				
<b>Main effects</b>				
location	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0000 ***	0.0000 ***
harvest time	0.1704 ns	0.0000 ***	0.0013 **	0.2588 ns
harvest part	0.2750 ns	0.3353 ns	0.0034 **	0.0404 *
<b>Interaction</b>				
location x harvest time	0.0045 **	0.0000 ***	0.0183 *	0.0025 **
location x part	0.9973 ns	0.9744 ns	0.5424 ns	0.9038 ns
harvest time x part	0.9764 ns	0.8887 ns	0.6819 ns	0.9445 ns
location x part x harvest time	1.0000 ns	1.0000 ns	0.9999 ns	0.9750 ns

<sup>z</sup>: Mean separation within columns at  $P \leq 0.05$ .

ns, \*, \*\*, \*\*\* Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$ , 0.01, or 0.001, respectively.

表 16. 栽培地點、採收時間和採收部位的交互效應對二年生虎杖地上部鮮重、乾重、白藜蘆醇含量與白藜蘆醇總量的影響

Table 16. Effect of interaction on location, harvest time and harvest part interaction on fresh weight, dry weight, resveratrol content and total resveratrol content in two years old *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. aboveground parts.

		Puli				Taipei				Chunyang				Meifong			
		Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/100g DW)	Total resveratrol (mg/plant)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/100g DW)	Total resveratrol (mg/plant)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/100g DW)	Total resveratrol (mg/plant)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Resveratrol content (mg/100g DW)	Total resveratrol content (mg/plant)
May	Part1	9.02 de <sup>Z</sup>	1.93 d	2.00 a	0.03 e	21.90 cde	5.02 cd	2.90 a	0.11 de	35.87 abcde	8.90 bed	2.60 a	0.27 cde	43.92 abcde	7.39 cd	4.10 a	0.33 cde
	Part2	22.25 cde	5.00 cd	1.80 a	0.10 de	26.17 cde	6.11 cd	3.80 a	0.15 cde	41.34 abcde	10.79 abcd	3.40 a	0.33 cde	42.17 abcde	6.69 cd	5.60 a	0.43 bcde
	Part3	25.91 cde	5.12 cd	4.90 a	0.39 bcde	11.06 de	2.43 d	5.80 a	0.10 de	13.33 de	3.72 d	11.60 a	0.43 bcde	30.39 bcde	4.52 cd	6.70 a	0.45 bcde
	Part4	6.00 de	2.57 d	2.70 a	0.07 de	23.76 cde	5.62 cd	9.10 a	0.41 bcde	41.60 abcde	10.27 bed	6.00 a	0.63 bcde	46.10 abcde	7.26 cd	7.60 a	0.45 bcde
	Part5	23.52 cde	1.96 d	1.80 a	0.04 de	31.79 bcde	7.72 cd	5.50 a	0.42 bcde	36.51 abcde	9.36 bed	6.50 a	0.56 bcde	49.32 abcde	6.74 cd	9.90 a	0.72 bcde
	Part6	— <sup>Y</sup>	—	—	—	20.01 cde	5.17 cd	7.10 a	0.32 cde	31.08 bcde	8.32 bed	11.20 a	0.80 bcde	45.74 abcde	6.74 cd	7.60 a	0.29 cde
June	Part1	9.15 de	2.25 d	2.10 a	0.05 de	8.318 de	1.99 d	4.9 a	0.111 de	34.67 bcde	7.37 cd	11.90 a	1.13 abcde	44.47 abcde	7.938 cd	2.20 a	0.148 cde
	Part2	10.73 de	3.33 d	2.10 a	0.05 de	11.08 de	2.73 d	1.5 a	0.054 de	37.37 abcde	8.78 bed	2.90 a	0.24 cde	36.45 abcde	6.4 cd	1.30 a	0.084 de
	Part3	12.07 de	3.93 d	2.90 a	0.11 de	10.79 de	3.19 d	1.9 a	0.056 de	28.64 cde	7.02 cd	12.60 a	0.77 bcde	27.56 cde	7.12 cd	2.30 a	0.146 cde
	Part4	12.30 de	3.28 d	5.30 a	0.17 cde	14.52 de	3.84 d	2.9 a	0.099 de	44.10 abcde	10.07 bed	5.80 a	0.67 bcde	58.92 abcde	12.222 abcd	2.00 a	0.267 cde
	Part5	—	—	—	—	15.71 de	4.45 cd	1.5 a	0.077 de	48.01 abcde	13.76 abcd	5.10 a	0.70 bcde	52.23 abcde	11.99 abcd	2.60 a	0.313 cde
	Part6	—	—	—	—	14.5 de	4.22 d	2 a	0.079 de	50.36 abcde	11.22 abcd	11.30 a	1.31 abcd	39.94 abcde	9.96 bcd	2.40 a	0.255 cde
July	Part1	8.00 de	2.14 d	3.30 a	0.06 de	5.71 de	1.27 d	2.40 a	0.03 e	35.00 abcde	10.52 abcd	9.90 a	1.04 abcde	47.00 abcde	8.68 bed	4.10 a	0.36 bcde
	Part2	9.00 de	2.46 d	4.00 a	0.07 de	5.68 de	1.42 d	3.10 a	0.03 e	37.00 abcde	11.95 abcd	2.20 a	0.27 cde	64.67 abcde	16.10 abcd	1.70 a	0.22 cde
	Part3	5.00 de	1.78 d	6.70 a	0.12 cde	5.45 de	1.39 d	4.20 a	0.04 de	55.00 abcde	16.58 abcd	9.10 a	1.51 abcd	96.50 a	30.19 ab	3.60 a	0.76 bcde
	Part4	7.00 de	1.99 d	7.60 a	0.15 cde	13.16 de	3.10 d	3.90 a	0.10 de	70.00 abcde	20.26 abcd	9.60 a	1.94 ab	73.50 abcd	19.26 abcd	2.30 a	0.28 cde
	Part5	10.00 de	2.09 d	7.10 a	0.15 cde	9.57 de	2.37 d	6.40 a	0.09 de	49.00 abcde	14.11 abcd	8.20 a	1.16 abcde	70.50 abcd	19.55 abcd	4.40 a	1.11 abcde
	Part6	9.00 de	1.69 d	13.10 a	0.22 cde	12.00 de	3.12 d	6.30 a	0.09 de	50.00 abcde	15.09 abcd	5.60 a	0.84 abcde	84.00 abc	26.23 ab	7.20 a	1.98 a
August	Part1	7.95 de	1.56 d	0.40 a	0.01 e	13.53 de	4.08 d	2.20 a	0.06 de	—	—	—	—	57.60 abcde	18.18 abcd	1.10 a	0.22 cde
	Part2	3.60 e	0.95 d	0.40 a	0.00 e	8.01 de	2.65 d	1.40 a	0.03 e	29.30 bcde	14.63 abcd	2.40 a	0.35 bcde	51.33 abcde	17.11 abcd	0.80 a	0.17 cde
	Part3	6.40 de	1.87 d	1.90 a	0.04 de	6.54 de	2.11 d	5.20 a	0.08 de	18.70 cde	8.17 bed	1.40 a	0.12 cde	70.63 abcd	24.74 ab	2.90 a	0.86 abcde
	Part4	7.10 de	1.44 d	1.70 a	0.02 e	20.26 cde	6.71 cd	1.20 a	0.09 de	77.30 abcd	33.20 a	0.10 a	0.04 de	91.93 ab	29.73 ab	2.80 a	1.17 abcd
	Part5	7.15 de	2.51 d	2.50 a	0.07 de	16.40 de	5.56 cd	1.20 a	0.07 de	75.80 abcd	32.70 a	0.10 a	0.04 de	72.73 abcd	24.71 ab	3.20 a	0.91 abcde
	Part6	15.00 de	4.35 cd	2.90 a	0.13 cde	11.90 de	4.20 d	1.00 a	0.04 de	69.70 abcde	30.51 ab	0.40 a	0.13 cde	71.05 abcd	24.48 abc	6.10 a	1.52 abc

<sup>Z</sup>: Mean separation within columns treated as single factor analysis at  $P \leq 0.05$ .

<sup>Y</sup>: Could not be detected.

## 參考資料

1. 么春艷、劉文哲. 2005. 虎杖營養器官蒽醌類化合物含量的季節變化. 西北植物學報. 25:179-182.
2. 王孝濤、曹暉、劉玉萍. 2000. 中藥採製與炮製技術. 華夏出版社. 北京.
3. 王忠壯、胡普紅. 2006. 現代中藥學. 第二軍醫大學出版社. 上海市. 344-347.
4. 王慶、王淑慧、張守君. 2007. 虎杖繁殖新方法. 中藥材. 30(10):1209-1210.
5. 朱建鏞. 1995. 園藝種苗生產. 三民書局. P58-59. 台北市.
6. 李燕、劉軍海. 2009. 白藜蘆醇提取及分離純化研究進展. 糧食與油脂. 5:37-41.
7. 吳兆祥、徐同印. 1999. 虎杖栽培管理. 時珍國醫國藥. 10:162.
8. 孫偉. 2005. 虎杖栽培技術. 特種經濟動植物. 8(4):25.
9. 梁陳方、李錦燊. 2006. 不同采收期虎杖中白藜蘆醇苷含量比較. 廣西醫學期刊. 28:1428-1429.
10. 黃資容. 2007. 台灣原生種虎杖組織培養繁殖與反式白藜蘆醇之分析. 私立明道大學材料暨系統工程研究所碩士論文.
11. 張永勳、何玉鈴、黃世勳. 2008. 中藥學概論. 文興出版事業有限公司. 台中市. p17.
12. 張同吳. 2005. 中草藥之栽培與利用. 有機農業生產技術研討會. P451-454
13. 張憲昌. 2007. 台灣藥用植物圖鑑. 晨星出版社, 台中市. p113.
14. 陳玉波、梁萬喜、劉泳紅、黃永勝. 1993. 山茶花不同枝段繁殖研究. 園藝學報. 20:201-216.
15. 陳惠菁. 1999. 九重葛扦插繁殖、栽植方式及落花現象之探討與改進. 國立台灣大學園藝學研究所碩士論文.
16. 曹庸、于華忠、李國章、張敏、廖書橋、蕭浪濤. 2004. 虎杖不同季節、不同組織部位白藜蘆醇含量動態變化研究. 中國藥學雜誌. 39:337-338.
17. 華海丹. 2009. 白藜蘆醇提取及分離純化技術的研究進展. 食品工程.

- 1:15-22.
18. 董學傳,余慧琳,陳莉,張春枝. 2008. 酶轉化虎杖苷製備白藜蘆醇. 食品與發酵工業.
  19. 劉旭、徐江平、楊雪梅. 2005. 不同產地虎杖藥材中白藜蘆醇苷含量的測定. 中藥材. 28:1071-1072.
  20. 潘標志、王邦富. 2008. 虎杖規範化種植操作規程. 江西林業科技6:33-38.
  21. 鄭振偉、于萍、陳玲. 2009. SPSS 軟件在正交試驗設計、結果分析中的應用. 電腦學習. 5:15-16.
  22. 鄭雅今、古國隆. 2007. 質譜在植物防禦素研究上之應用. CHEMISTRY. 65:157-167.
  23. 謝磊、李志光、周軍. 2007. 用不同方法提取虎杖中白藜蘆醇的比較. 生物質化學工程. 3:28-30.
  24. 魏哲彰、湯立嘉. 2005. 常見病茶飲湯方 02. 青文出版社. 台中. 台灣.
  25. Abreu, I.N. and P. Mazzafera. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiol. Biochem. 7:241–248.
  26. Baur, J.A., K.J. Pearson, N.L. Price, H.A. Jamieson, C. Lerin, A. Kalra, V.V. Prabhu, J.S. Allard, G. Lopez-Lluch, K. Lewis, P.J. Pistell, S. Poosala, K.G. Becker, O. Boss, D. Gwinn, M. Wang, S. Ramaswamy, K.W. Fishbein, R.G. Spencer, E.G. Lakatta, D.L. Couteur, R.J. Shaw, P. Navas, P. Puigserver, D.K. Ingram, R.d. Cabo, and D.A. Sinclair. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature. 444:337-342.
  27. Beřnova, B., M. Adam, P. Pavlikova, and J. Fischer. 2010. Supercritical fluid extraction of piceid, resveratrol and emodin from Japanese knotweed. J. of Supercritical Fluids. 51:325–330.
  28. Bishayee, A., T. Politis, and A.S. Darvesh. 2010. Resveratrol in the



- chemoprevention and treatment of hepatocellular carcinoma. *Cancer Treatment Reviews*. 36:43–53.
29. Botella, C., I.d. Ory, C. Webb, D. Cantero, and A. Blandino. 2005. Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamori* on grape pomace. *Biochemical Engineering Journal*. 26:100-106.
  30. Cassidy, A., B. Hanley, and R.M. Lamuela-Raventos. 2000. Isoflavones, lignans and stilbenes – origins, metabolism and potential importance to human health. *J. Sci. Food Agric*. 80:1044-1062.
  31. Cantos, E., J.C. Espian, and A.F.A.T.S.-B. N. 2002. Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *J. Agric. Food Chem*. 50:6322-6329.
  32. Chang, J.S., H.W. Liu, K.C. Wang, M.C. Chen, L.C. Chiang, Y.C. Huab, and C.C. Lin. 2005. Ethanol extract of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. inhibits hepatitis B virus in a stable HBV-producing cell line. *Antiviral Res*. 66:29–34.
  33. Chung, I.M., M.R. Park, J.C. Chun, and S.J. Yun. 2003. Resveratrol accumulation and resveratrol synthase gene expression in response to abiotic stresses and hormones in peanut plants. *Plant Science* 164:103-109.
  34. Chung, I.M., J.J. Kim, J.D. Lim, C.Y. Yu, S.H. Kim, and S.J. Hahn. 2006. Comparison of resveratrol, SOD activity, phenolic compounds and free amino acids in *Rehmannia glutinosa* under temperature and water stress. *Environ. Exp. Bot*. 56:44-53.
  35. Das, M. and D.K. Das. 2010. Resveratrol and cardiovascular health. *Mol. A. Med*. 31:503-512.
  36. Dong, Z. 2003. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. *Mutation Res*. 523–524:145–150.
  37. Goldberg, D.M., A. Karumanchiri, E. Ng, J. Yan, E.P. Diamandis, and G.J.

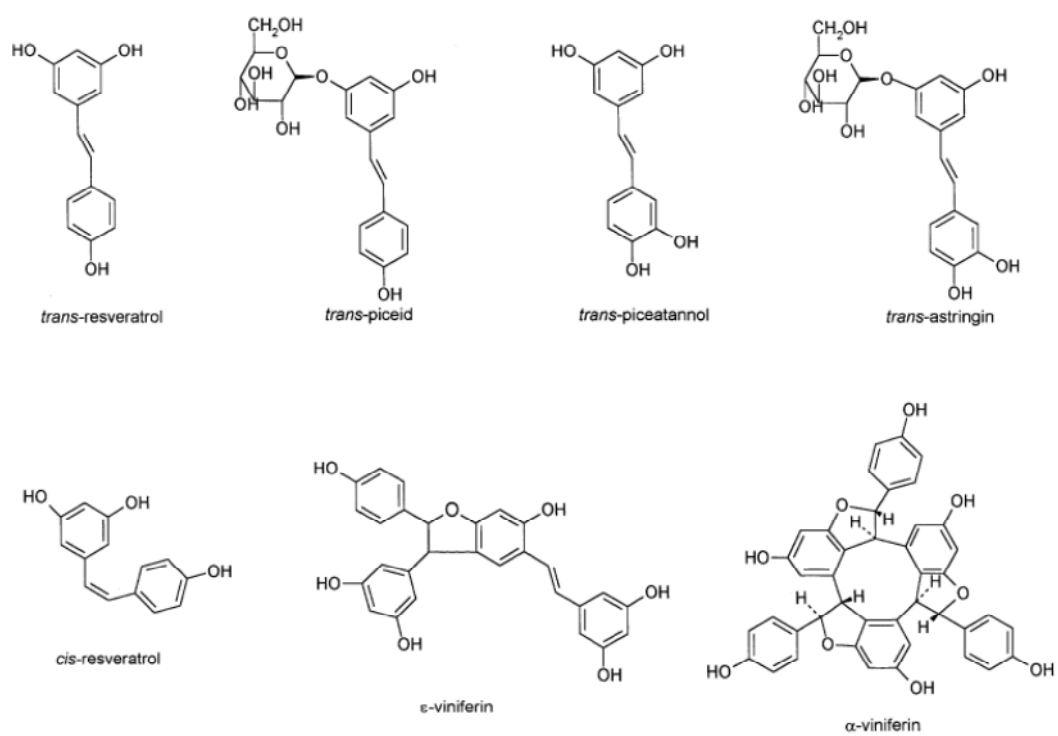
- Soleass. 1995. Direct gas chromatographic-mass spectrometric method to assay *cis*-resveratrol in wines: preliminary survey of its concentration in commercial wines. *J. Agric. Food Chem.* 43:1245-1250.
38. Goswami, S.K. and D.K. Das. 2009. Resveratrol and chemoprevention. *Cancer Letters.* 284:1-6.
39. Hartmann. H. T., D.E. Kester, and. F. T. Davies. 1990. Plant propagation principles and practices. 5th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, USA. p.129-156.
40. Hessayon. D.G. 1997. 養花種草居家栽植樂. 培根文化公司. P241. 台北市.
41. Langcake, P. 1981. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin,  $\alpha$ -viniferin and pterostilbene. *Physiol. Plant Pathol.* 18:213-226.
42. Liswidowati, F. Melchior, F. Hohmann, B. Schwer, and H. Kindl. 1991. Induction of stilbene synthase by *Botrytis Cinerea* in cultured grapevine calls. *Planta* 183:307-314.
43. Loach, K. 1977. Leaf water potential and the rooting of cuttings under mist and polythene. *Physiol. Plant.* 40:191-197.
44. Martínez-Ortega MV, MC Carcía-Parrilla , and AM Troncoso . 2000. Resveratrol content in wines and musts from the south of Spain. *Nahrung* 44:253-256.
45. Renaud, S. and M.d. Lorgeril. 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet.* 339:1523-1526.
46. Renouard, S., C. Hano, C. Corbin, O. Fliniaux, T. Lopez, J. Montguillon, E. Barakzoy, F. Mesnard, F. Lamblin, and E. Laine. 2010. Cellulase-assisted release of secoisolariciresinol from extracts of flax (*Linum usitatissimum*) hulls and whole seeds. *Food Chem.* 122:679-687.
47. Rimando, A.M., W. Kalt, J. B. Magee, J. Dewey, and J.R. Ballington. 2004.

- Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in *Vaccinium* berries. *J. Agric. Food Chem.* 52:4713-4719.
48. Roldaan, A., V. Palacios, I. caro, and L.P. rez. 2003. Resveratrol Content of Palomino fino Grapes: Influence of Vintage and Fungal Infection. *Food Chem.* 51:1464-1468.
49. Romero-Perez, A.I., R.M. Lamuela-Raventos, C. Andres-Lacueva, and M. C. dela Torre-Boronat. 2001. Method for the quantitative extraction of resveratrol and piceid isomers in grape berry skins. Effect of powdery mildew on the stilbene content. *J. Agric. Food Chem.* 49:210-215.
50. Rudolf J.L., A.V.A. Resurreccion, F.K. Saalia, and R.D. Phillips. 2005. Development of a reverse-phase high-performance liquid chromatography method for analyzing *trans*-resveratrol in peanut kernels. *Food Chem.* 89:623-638.
51. Shan, B., Y.Z. Cai, J.D. Brooks, and H. Corke. 2008. Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. roots and their major bioactive constituents. *Food Chem.* 7:530–537.
52. Signorelli, P. and R. Ghidoni. 2005. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J. Nutr. Biochem.* 16: 449-466
53. Song, J.H., T.C. Yang, K.W. Chang, S.K. Han, H.K. Yi, and J.G. Jeon. 2007. In vitro effects of a fraction separated from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. root on the viability, in suspension and biofilms, and biofilm formation of mutans streptococci. *J. Ethnopharmacol.* 112:419–425.
54. Sun, A.Y., A. Simonyi, and G.Y. Sun. 2002. The “French paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biol. Med.* 32:314-318.
55. Tang, K., J.C. Zhan, H.R. Yang, and W.-D. Huang. 2010. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defensere sponse in peanut

- seedlings. *J. Plant Physiol.* 167:95-102.
56. Vazquez, A. and D. V. Gesto. 1982. Juvenility and endogenous rooting substances in *Castanea sativa* Mill. *Biologia Plant.* 24:48-52.
57. Wang, C.Y., C.-T. Chen, and S.Y. Wang. 2009. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chem.* 117:426-431.
58. Zhua, Y., L. A. Courya, H. Long, C. T. Duda, C. B. Kissinger, and P. T. Kissinger. 2000. Liquid chromatography with multi-channel electrochemical detection for the determination of resveratrol in wine, grape juice, and grape seed capsules with automated solid phase extraction. *J. Liq. Chrom. and REL. Technol.* 23:1555-1564.



附錄一

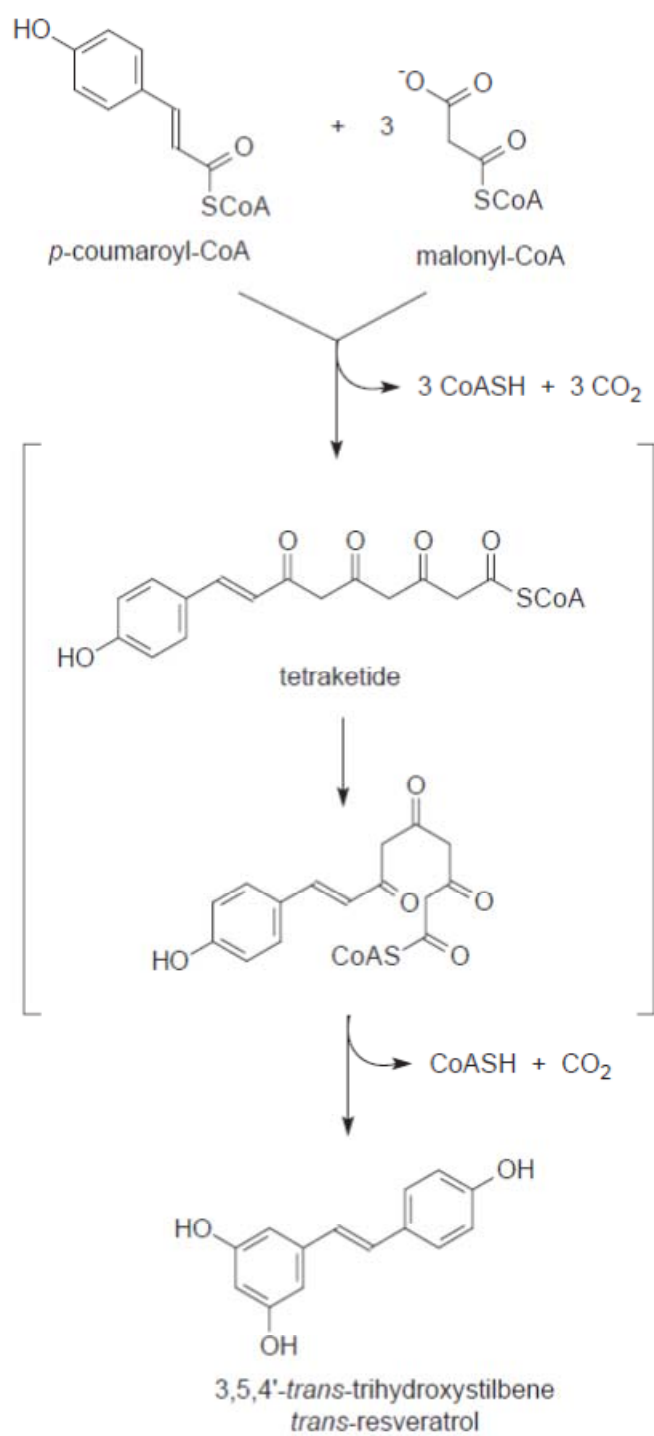


(Cantos al., 2002)

圖一、紫外光偵測下各式 stilbenes 的物質結構

Figure 1. Structures of the UV-C-induced stilbenes.

附錄二

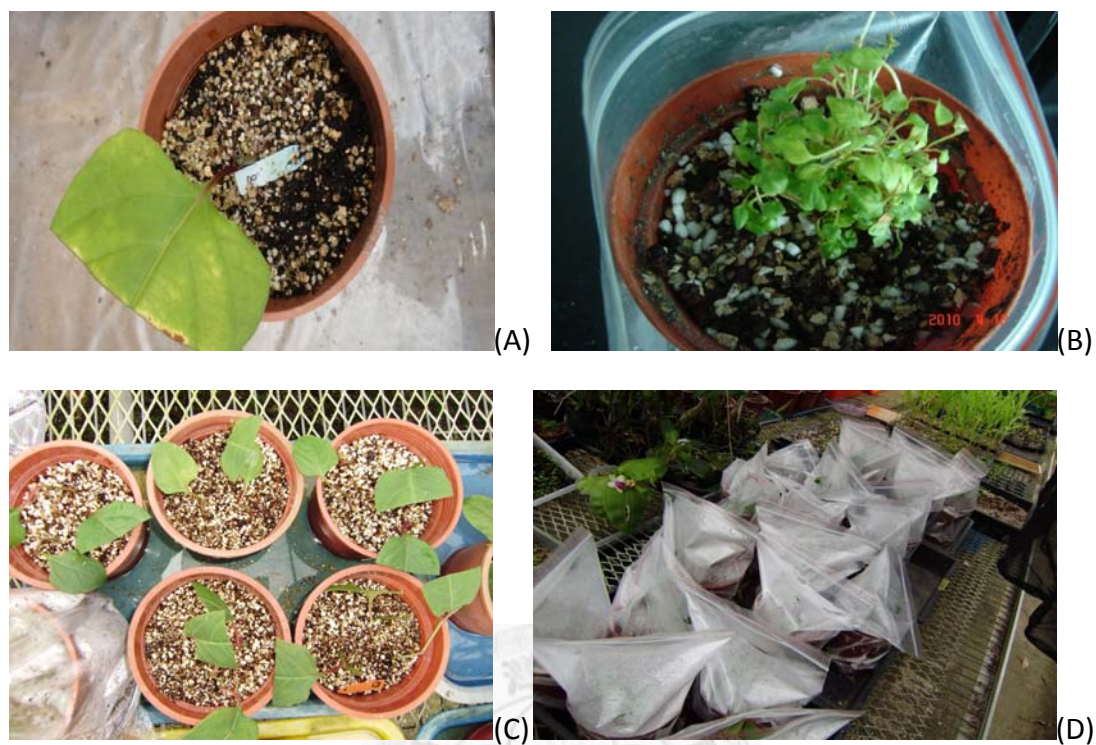


( Signorelli and Ghidoni, 2005 )

圖二、白藜蘆醇合成途徑

Fig 2. Biosynthetic pathway of resveratrol.

附錄三



圖三、虎杖扦插試驗圖示

Fig 3.(A)The cutting of *Polygonum cuspidatum*.(B)The mericloned of *Polygonum cuspidatum*.(C)and(D)The experiment of cutting of *Polygonum cuspidatum*.

附錄四

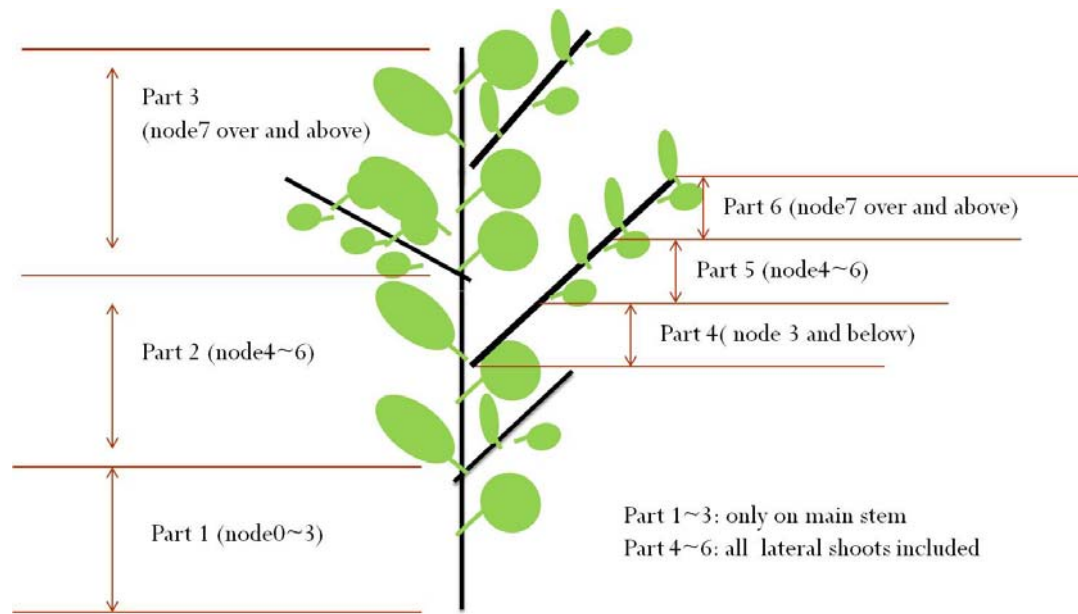


圖四、二年生虎杖地上部生長情形(A)扦插苗 (B)只有長出主枝 (C)主枝上抽出第一根側枝(D)其他側枝抽出

Fig 4. The aboveground growth and changes of two years old *Polygonum cuspidatum*. (A)cutting (B)only main stem (C)the first lateral shoot on main stem(D)other lateral shoot on main stem.



附錄五



圖五、採收二年生虎杖地上部的分級作業

Fig 5. The harvested aboveground parts of graded as indicated two years old *Polygonum cuspidatum*.

